

Impactos das Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde

2

Christiane Trevisan Slivinski
(Organizadora)



 Atena
Editora

Ano 2019

Christiane Trevisan Slivinski
(Organizadora)

Impactos das Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde 2

Athena Editora
2019

2019 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

Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista

Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall'Acqua – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Elio 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 Girelene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice

Profª Drª Juliane Sant'Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

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

Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

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

I34 Impactos das tecnologias nas ciências biológicas e da saúde 2
[recurso eletrônico] / Organizadora Christiane Trevisan Slivinski. –
Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Impactos das
Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-038-4

DOI 10.22533/at.ed.384191601

1. Ciências biológicas. 2. Saúde. 3. Tecnologia. I. Slivinsk,
Christiane Trevisan.

CDD 620.8

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

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

2019

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

APRESENTAÇÃO

A tecnologia está ganhando cada dia mais espaço na vida das pessoas e em tudo que as cerca. Compreende-se por tecnologia todo o conhecimento técnico e científico e sua aplicação utilizando ferramentas, processos e materiais que foram criados e podem ser utilizados a partir deste conhecimento. Quando, para o desenvolvimento da tecnologia estão envolvidos sistemas biológicos, seres vivos ou seus metabólitos, passa-se a trabalhar em uma área fundamental da ciência, a Biotecnologia.

Toda produção de conhecimento em Biotecnologia envolve áreas como Biologia, Química, Engenharia, Bioquímica, Biologia Molecular, Engenharia Bioquímica, Química Industrial, entre outras, impactando diretamente no desenvolvimento das Ciências Biológicas e da Saúde. A aplicação dos resultados obtidos nos estudos em Biotecnologia está permitindo um aumento gradativo nos avanços relacionados a qualidade de vida da população, preservação da saúde e bem estar.

Neste ebook é possível identificar vários destes aspectos, onde a produção científica realizada por pesquisadores das grandes academias possuem a proposta de aplicações que podem contribuir para um melhor aproveitamento dos recursos que a natureza nos oferece, bem como encontrar novas soluções para problemas relacionados à manutenção da vida em equilíbrio.

No volume 2 são apresentados artigos relacionados a Bioquímica, Tecnologia em Saúde e as Engenharias. Inicialmente é discutida a produção e ação de biocompostos tais como ácido hialurônico, enzimas fúngicas, asparaginase, lipase, biossurfactantes, xilanase e eritritol. Em seguida são apresentados aspectos relacionados a análise do mobiliário hospitalar, uso de oxigenoterapia hospitalar, engenharia clínica, e novos equipamentos utilizados para diagnóstico. Também são apresentados artigos que trabalham com a tecnologia da informação no desenvolvimento de sistemas e equipamentos para o tratamento dos pacientes.

No volume 3 estão apresentados estudos relacionados a Biologia Molecular envolvendo a leptospirose e diabetes melitus. Também foram investigados alguns impactos da tecnologia no estudo da microcefalia, agregação plaquetária, bem como melhorias no atendimento nas clínicas e farmácias da atenção básica em saúde.

Em seguida discute-se a respeito da utilização de extratos vegetais e fúngicos na farmacologia e preservação do meio ambiente. Finalmente são questionados conceitos envolvendo Educação em Saúde, onde são propostos novos materiais didáticos para o ensino de Bioquímica, Biologia, polinização de plantas, prevenção em saúde e educação continuada.

Christiane Trevisan Slivinski

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ÁCIDO HIALURÔNICO MICROBIANO: PRODUÇÃO E APLICAÇÕES	
Hanny Cristina Braga Pereira Duffeck	
Nicole Caldas Pan	
Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi	
DOI 10.22533/at.ed.3841916011	
CAPÍTULO 2	15
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS DE FUNGOS ISOLADOS DE <i>EUTERPE PRECATORIA</i> MART.	
Bárbara Nunes Batista	
Rosiane Rodrigues Matias	
Ana Milena Gómez Sepúlveda	
Rafael Lopes e Oliveira	
Patrícia Melchionna Albuquerque	
DOI 10.22533/at.ed.3841916012	
CAPÍTULO 3	26
DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS IDEAIS DE CULTIVO DE <i>STREPTOMYCES PARVULUS</i> UFPEDA 3408 PARA PRODUÇÃO DA ENZIMA L- ASPARAGINASE	
Glêzia Renata da Silva Lacerda	
Isllan D'Eric Gonçalves da Silva	
Luiz Eduardo Felix de Albuquerque	
Wanda Juliana Lopes e Silva	
Suellen Emilliany Feitosa Machado	
Silene Carneiro do Nascimento	
Gláucia Manoella de Souza Lima	
DOI 10.22533/at.ed.3841916013	
CAPÍTULO 4	36
IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE DE <i>Botryosphaeria ribis</i> EC-01 EM RESÍDUO TÊXTIL	
Jéssica Borges de Oliveira	
Rafael Block Samulewski	
Josana Maria Messias	
Aline Thaís Bruni	
Aneli M. Barbosa-Dekker	
Robert F. H. Dekker	
Milena Martins Andrade	
DOI 10.22533/at.ed.3841916014	
CAPÍTULO 5	42
IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES EM ZEÓLITA A OBTIDAS A PARTIR DA CINZA DE BIOMASSA DA BANANEIRA	
Orlando Baron	
Eduardo Radovanovic	
Silvia Luciana Favaro	
Murilo Pereira Moisés	
Nadia Krieger	
Alessandra Machado Baron	
DOI 10.22533/at.ed.3841916015	

CAPÍTULO 6 48

PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTES A PARTIR DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA ESPÉCIE AMAZÔNICA *MYRCIA GUIANENSIS* E SUA TOLERÂNCIA AO ENDOSULFAN

Ana Milena Gómez Sepúlveda
Sergio Duvoisin Junior
Patrícia Melchionna Albuquerque
DOI 10.22533/at.ed.3841916016

CAPÍTULO 7 60

PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE LIPASES DE *Penicillium corylophilum*

Lucas Marcondes Camargo
Ricardo de Sousa Rodrigues
Michael da Conceição de Castro
Josiane Geraldelo da Silva
Patrícia Salomão Garcia
Milena Martins Andrade
Alessandra Machado Baron

DOI 10.22533/at.ed.3841916017

CAPÍTULO 8 66

SELEÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE *MYRCIA GUIANENSIS* PRODUTORES DE XILANASE

Rosiane Rodrigues Matias
Ana Milena Gómez Sepúlveda
Bárbara Nunes Batista
Juliana Mesquita Vidal Martínez de Lucena
Patrícia Melchionna Albuquerque

DOI 10.22533/at.ed.3841916018

CAPÍTULO 9 75

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO MILHOCINA COMO FONTE DE VITAMINAS E NITROGÊNIO ORGÂNICO NA PRODUÇÃO DE ERITRITOL POR *Yarrowia lipolytica*

Luana Vieira da Silva
Maria Alice Zarur Coelho
Priscilla Filomena Fonseca Amaral
Patrick Fickers

DOI 10.22533/at.ed.3841916019

CAPÍTULO 10 84

ANÁLISE DE MOBILIÁRIO HOSPITALAR COM INCIDÊNCIA EM EVENTOS ADVERSOS

Lígia Reis Nóbrega
Selma Terezinha Milagre

DOI 10.22533/at.ed.38419160110

CAPÍTULO 11 88

ANÁLISE DO PROCESSO TECNOLÓGICO EM SAÚDE NO SERVIÇO DE OXIGENOTERAPIA DOMICILIAR

Bruno Pires Bastos
Renato Garcia Ojeda
DOI 10.22533/at.ed.38419160111

CAPÍTULO 12 **98**

CARACTERIZAÇÃO DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA RECENTE SOBRE A ODONTOLOGIA HOSPITALAR NO BRASIL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Wagner Couto Assis
Adriano Santos Sousa Oliveira
Danilo Lyrio de Oliveira
Ismar Eduardo Martins Filho
Alba Benemérita Alves Vilela

DOI 10.22533/at.ed.38419160112

CAPÍTULO 13 **111**

CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES COM ÚLCERA DE PÉ DIABÉTICO ATENDIDOS EM HOSPITAIS DA REDE PÚBLICA DE SÃO LUÍS MARANHÃO

Kezia Cristina Batista dos Santos
Tamires Barradas Cavalcante
Patrícia Amorim Danda
Gabriela Sellen Campos Ribeiro
Adrielly Haiany Coimbra Feitosa

DOI 10.22533/at.ed.38419160113

CAPÍTULO 14 **123**

APLICAÇÃO DE RTOS NA CRIAÇÃO DE DISPOSITIVO ELETROMÉDICO PARA AVALIAÇÃO DO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR INTRAOPERATÓRIO

Matheus Leitzke Pinto
Gustavo Ott
Mauricio Campelo Tavares

DOI 10.22533/at.ed.38419160114

CAPÍTULO 15 **138**

ATUAÇÃO DO SETOR DE ENGENHARIA CLÍNICA: UM ESTUDO DE CASO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ONOFRE LOPES

Camila Beatriz Souza de Medeiros
Taline dos Santos Nóbrega
Beatriz Stransky

DOI 10.22533/at.ed.38419160115

CAPÍTULO 16 **147**

AUTOMAÇÃO DE BAIXO CUSTO PARA UMA CADEIRA DE RODAS

Samuel Roberto Marcondes
Aline Camile Stelf

DOI 10.22533/at.ed.38419160116

CAPÍTULO 17 **154**

CLASSIFICAÇÃO DE EEG COM REDES NEURAIS ARTIFICIAIS UTILIZANDO ALGORITMOS DE TREINAMENTO DO TIPO *EXTREME LEARNING MACHINE E BACK- PROPAGATION*

Tatiana Saldanha Tavares
Francisco Assis de Oliveira Nascimento
Cristiano Jacques Miosso

DOI 10.22533/at.ed.38419160117

CAPÍTULO 18	163
DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA WEB PARA GESTÃO DE EQUIPAMENTOS MÉDICO-HOSPITALARES	
Antonio Domingues Neto	
José Felício da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.38419160118	
CAPÍTULO 19	172
DETECÇÃO DE ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO AGUDO/SUBAGUDO BASEADA NA POSIÇÃO VENTRICULAR	
Cecília Burle de Aguiar	
Walisson da Silva Soares	
Severino Aires Araújo Neto	
Carlos Danilo Miranda Regis	
DOI 10.22533/at.ed.38419160119	
CAPÍTULO 20	185
DETECÇÃO DE MELANOMA UTILIZANDO DESCRIPTORES DE HARALICK	
Marília Gabriela Alves Rodrigues Santos	
Marina de Oliveira Alencar	
Walisson da Silva Soares	
Cecília Burle Aguiar	
Carlos Danilo Miranda Regis	
DOI 10.22533/at.ed.38419160120	
CAPÍTULO 21	194
HUMAN KNEE SIMULATION USING MULTILAYER PERCEPTRON ARTIFICIAL NEURAL NETWORK	
Ithallo Junior Alves Guimarães	
Roberto Aguiar Lima	
Vera Regina Fernandes da Silva Marães	
Lourdes Mattos Brasil	
DOI 10.22533/at.ed.38419160121	
CAPÍTULO 22	201
INFLUÊNCIA DO FILTRO DE WIENER NO REALCE DE CONTRASTE DE IMAGENS MAMOGRÁFICAS USANDO FUNÇÃO SIGMOID	
Michele Fúlia Angelo	
Thalita Villaron Lima	
Talita Conte Granado	
Ana Claudia Patrocínio	
DOI 10.22533/at.ed.38419160122	
CAPÍTULO 23	212
MODELAGEM E IMPLEMENTAÇÃO DE BANCO DE DADOS PARA O GERENCIAMENTO DE PROPOSTAS EM INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM SAÚDE	
Lígia Reis Nóbrega	
Adriano de Oliveira Andrade	
Selma Terezinha Milagre	
DOI 10.22533/at.ed.38419160123	

CAPÍTULO 24 219

DETECÇÃO DE RESPOSTAS AUDITIVAS EM REGIME PERMANENTE USANDO COERÊNCIA MÚLTIPLA: OBTENÇÃO DE CONJUNTO ÓTIMO DE ELETRODOS PARA APLICAÇÃO ONLINE

Felipe Antunes

Glaucia de Moraes Silva

Brenda Ferreira da Silva Eloi

Leonardo Bonato Felix

DOI 10.22533/at.ed.38419160124

CAPÍTULO 25 227

PRÓTESE DE MEMBRO INFERIOR EM FIBRA DE CARBONO PARA USO COTIDIANO E LEVES EXERCÍCIOS

César Nunes Giracca

Tiago Moreno Volkmer

DOI 10.22533/at.ed.38419160125

CAPÍTULO 26 238

RECONSTRUÇÃO DE IMAGEM DE TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA POR FEIXE DE PRÓTONS, UTILIZANDO A TRANSFORMADA INVERSA DE RADON, BASEADA EM IMAGENS GERADAS POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL

Fabrício Loreni da Silva Cerutti

Gabriela Hoff

Marcelo Victor Wüst Zibetti

Hugo Reuters Schelin

Valeriy Viktorovich Denyak

Sergei Anatolyevich Paschuk

Ivan Evseev

Leonardo Zanin

Ediney Milhoretto

DOI 10.22533/at.ed.38419160126

CAPÍTULO 27 246

REVITALIZAÇÃO DE PROCESSADORAS AUTOMÁTICAS KODAK M35 X-OMAT PROX PROCESSOR

Fabricio Loreni da Silva Cerutti

Jesiel Ricardo dos Reis

Oseas Santos Junior

Juliana do Carmo Badelli

Andressa Caron Brey

Jorge Luis Correia da Silva

Marcelo Zibetti

DOI 10.22533/at.ed.38419160127

CAPÍTULO 28 253

SIMULADOR MATERNO FETAL

Rodrigo Lopes Rezer

Marcelo Antunes Marciano

Anderson Alves dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.38419160128

CAPÍTULO 29 262

UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS (CAE) NA OTIMIZAÇÃO DE PRÓTESES DE MÃO.

Francisco Gilfran Alves Milfont

Luiz Arturo Gómez Malagón

DOI 10.22533/at.ed.38419160129

SOBRE A ORGANIZADORA..... 271

ÁCIDO HIALURÔNICO MICROBIANO: PRODUÇÃO E APLICAÇÕES

Hanny Cristina Braga Pereira Duffeck

Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR

Nicole Caldas Pan

Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR

Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi

Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR

apresentar relevante atividade antimicrobiana quando acoplado a outros componentes. As funções que o polímero exerce são determinadas pelo tamanho da molécula. O controle da massa molecular, assim como o aumento do rendimento do AH microbiano é possível através da otimização das condições de cultivo, ressaltando a importância do estudo da produção por microrganismos. Portanto, o objetivo desta revisão é descrever a produção microbiana do AH e apresentar suas potenciais aplicações.

PALAVRAS-CHAVE: polímero, fermentação, microrganismo.

ABSTRACT: Hyaluronic acid (HA) is a polysaccharide naturally present in vertebrate tissues. Some *Streptococcus* species can produce HA identical to eukaryotic, which boosted the microbial production by the requirement for safe products. Hydrophilic and viscoelastic properties of microbial HA, besides the biocompatibility, biodegradability and less of immunogenicity allow its use on a wide range of applications on medical, pharmaceutical and cosmetic industries. Traditionally, HA have been used on arthritis treatment, anti-aging cosmetics formulation and ophthalmic procedures. More recently, have been studied its efficiency on healing, burn treatment, drug delivery, beyond show relevant antimicrobial activity if attached

RESUMO: O ácido hialurônico (AH) é um polissacarídeo naturalmente presente em tecidos de vertebrados. Algumas espécies de *Streptococcus* são capazes de produzir AH idêntico ao eucariótico e, portanto, a produção microbiana foi impulsionada pela indústria devido à exigência de produtos seguros. As propriedades hidrofílicas e viscoelásticas do polímero microbiano, bem como sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e não imunogenicidade, permitem uma variedade de aplicações nas indústrias médica, farmacêutica e cosmética. Tradicionalmente tem sido utilizado no tratamento de artrite, na formulação de cosméticos anti-idade e em cirurgias e procedimentos oftálmicos. Mais recentemente, foi estudada sua eficácia na cicatrização de ferimentos, no tratamento de queimaduras, liberação de fármacos, além de

with other compounds. The polymer functions are determined by the size of the molecule. Optimizing the cultivation conditions allow to control the weight molecular and yield of the HA, highlighting how important is the study of microbial production. Therefore, the aim of this review is to describe the production by microorganisms and to present its potential applications.

KEY-WORDS: polymer, fermentation, microorganism.

1 | INTRODUÇÃO

O ácido hialurônico (AH) é um polissacarídeo de elevada hidrofilicidade e viscoelasticidade, biocompatível, biodegradável e não antigênico que apresenta inúmeras aplicações na área da saúde e cosmética.

Por estar presente em uma grande variedade de tecidos de vertebrados, sua extração a partir de resíduos animais foi extensivamente realizada, mais frequentemente de cristas de galo. Porém, nos últimos anos, o desenvolvimento da produção de AH por microrganismos foi impulsionado pela indústria, que não permite ingredientes de origem animal em seus produtos devido ao risco de contaminação viral e de agentes infecciosos provinda dos tecidos animais. *Streptococcus* dos tipos A e C de Lancefield são reconhecidos pela capacidade de produção de AH como um componente capsular idêntico ao de origem animal, porém não imunogênico, o que permite a sua utilização nas mais diversas aplicações.

O aumento da produção microbiana do ácido hialurônico pela otimização de parâmetros físicos e composição do meio de cultivo tornou-se uma vantagem sobre a extração animal, no entanto, o preço do meio de produção diminui sua competitividade e, portanto, a busca por substratos menos onerosos, como o melaço de cana-de-açúcar (subproduto da indústria sucroalcooleira) para produção do polímero pode ser uma alternativa viável.

Considerando as amplas aplicações e propriedades do AH como um biomaterial, o objetivo principal desta revisão é descrever a produção microbiana desse polímero, bem como sua potencial aplicação.

2 | ÁCIDO HIALURÔNICO

É um polissacarídeo linear de estrutura em espiral, que apresenta regiões flexíveis (KOGAN et al., 2007). Sua estrutura é determinada pela conformação estável entre os resíduos de carboidratos que o compõe, ácido glicurônico (GlcUA) e N-acetilglicosamina (GlcNAc) (BOERIU et al., 2013). A união destes açúcares se dá por ligações alternadas β -1,3 e β -1,4, formando a unidade dissacarídica repetida $[\beta$ -1,4-ácido glicurônico- β -1,3-N-acetilglicosamina]_n (CHONG et al., 2005) (Figura 1).

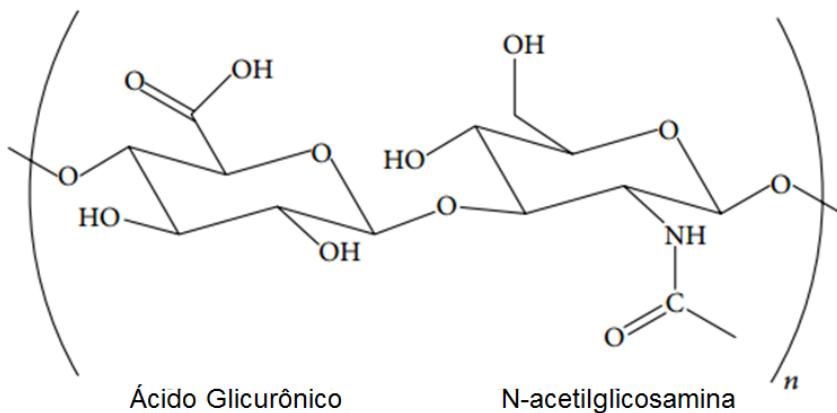


Figura 1. Estrutura dissacarídica $[\beta\text{-}1,4\text{-ácido glicurônico}\text{-}\beta\text{-}1,3\text{-N-acetilglicosamina}]_n$ do ácido hialurônico.

Fonte: BOERIU et al., 2013.

Em fluidos biológicos, o AH apresenta elevada viscoelasticidade, sendo tal propriedade observada *in vitro* de forma extrema em soluções diluídas (menores que 0,1 % m/v) de polímero de elevada massa molecular (maiores que 10^6 Da) (BALAZS, 2004). A viscoelasticidade e pseudoplasticidade das soluções do polímero estão relacionadas a sua massa molecular e concentração, o que determina sua função biológica e distribuição celular (MARCELLIN et al., 2014).

As propriedades viscoelásticas e hidrofílicas garantem ao polímero uma variedade de aplicações na indústria farmacêutica, que refletem funções que o ácido hialurônico naturalmente desempenha nos tecidos animais que o contêm.

3 | OBTENÇÃO DE ÁCIDO HIALURÔNICO

O ácido hialurônico pode ser obtido por extração de tecidos animais, principalmente do cordão umbilical e da crista de gallo (KOGAN et al., 2007); por produção microbiana, impulsionada pelas indústrias, que exigem um produto mais seguro; e, como consequência da produção microbiana, nos últimos anos também tem sido realizada a produção por enzimas isoladas (BOERIU et al., 2013).

Os microrganismos *Streptococcus* dos grupos A e C de Lancefield e *Pasteurella multocida* sintetizam o ácido hialurônico como um exopolissacarídeo capsular. As cápsulas são conhecidas como fatores de virulência que protegem a bactéria de ser atacada pelo sistema complemento e/ou fagocitada por macrófagos (MARCELLIN et al., 2014). O polímero procariótico é idêntico ao eucariótico, provavelmente sua maquinaria de síntese foi assimilada de seus hospedeiros, podendo ter evoluído como meio de escapar do sistema imunológico destes (BOERIU et al., 2013).

Devido à estrutura dos resíduos de carboidratos do AH de origem microbiana ser semelhante ao do polímero animal, existe a possibilidade a tendência de sua obtenção ser totalmente através do cultivo de microrganismos. Na produção microbiana, é possível controlar as características e o rendimento do polímero pela otimização das

composições do meio de cultivo e pela seleção de cepas empregadas. Na produção comercial do biopolímero as cepas mais utilizadas são *S. equi* subsp. *equi* e *S. equi* subsp. *zooepidemicus*.

Em *Streptococcus zooepidemicus*, a síntese de ácido hialurônico é responsável pelo consumo de 5 a 10 % do carbono metabolizado (CHONG; NIELSEN, 2003). No balanço energético geral são consumidos 4 moles de ATP por mol de dissacarídeo de polímero produzido, sendo 2 moles de ATP utilizados nas reações para fornecer as duas hexoses fosforiladas precursoras (glicose-6-fosfato e frutose-6-fosfato) e os outros 2 moles para regenerar o doador UTP. Embora sejam produzidos 2 moles de NADH por mol de dissacarídeo de ácido hialurônico, estes equivalentes redutores não podem ser utilizados para gerar energia (YAMADA; KAWASAKI, 2005).

Além de fornecer os precursores para a síntese de ácido hialurônico, estas vias também fornecem os componentes estruturais da parede celular bacteriana do peptideoglicano, como foi comprovado pelos experimentos de Zhang et al. (2016) nos quais mutantes com deleção de genes codificadores das enzimas responsáveis pela síntese de ácido hialurônico tiveram a produção do polímero e o crescimento celular diminuídos. Desta maneira, existe uma competição pelos precursores entre o crescimento celular e produção de ácido hialurônico (BOERIU et al., 2013).

3.1 Otimização da produção microbiana do AH

Na produção microbiana tanto fatores físicos como pH, temperatura, aeração e agitação, quanto a composição do meio podem influenciar na concentração e massa molar do AH produzido, assim a otimização desses parâmetros é importante para obter altos rendimentos e diminuir a polidispersidade.

Armstrong e Johns (1997) avaliaram pH ótimo para produção de AH de 6,7, como previamente relatado por Johns, Goh e Oeggerli (1994), e que as temperaturas no intervalo de 32 a 35 °C foram favoráveis para a produção de polímero com massa molar mais elevada. Kim et al. (1996), no entanto, observaram que em temperaturas inferiores a 37 °C a massa molar do polímero produzido por *S. equi* KFCC 10830 diminuiu, o que indica haver divergência na influência dos fatores físicos sobre o tamanho do polímero produzido por espécies diferentes de *Streptococcus*.

Segundo Aroskar, Kamat e Kamat (2012a) o pH ótimo para a produção de AH foi 7,0, correlacionando com a enzima hialuronan-sintase que possui atividade ótima em pH 7,1. Para os autores, o pH neutro também é o ótimo para o crescimento do microrganismo e, uma vez que a produção do polímero é inibida em pH ácido (JAGANNATH; RAMACHANDRAN, 2010), a adição de um agente tamponante pode ser benéfica. Para Pan et al. (2015), no entanto, as melhores condições para a produção de AH por *S. zooepidemicus* ATCC 39920 são em pH 8,0 e temperatura de 37 °C, uma vez que o polímero, componente da cápsula, pode ser produzido sob condições de estresse, protegendo a célula do meio alcálico ou ácido (LIU et al., 2008; PIRES; SANTANA, 2010).

Espécies de *Streptococcus* exigem concentração crítica mínima de oxigênio dissolvido no meio para crescer satisfatoriamente e produzir AH (AROSKAR; KAMAT; KAMAT, 2012a; HUANG; CHEN; CHEN, 2006; SWANN et al., 1990). Sob condições anaeróbias, o AH produzido apresenta massa molar menor ($\leq 7 \times 10^5$ Da) que em aeróbias ($\geq 2 \times 10^6$ Da), considerando rendimento equivalente (PIRES, 2009). Em concentrações de oxigênio dissolvido maiores que 5 vvm, no entanto, o rendimento do polímero é constante (HUANG et al., 2006). Além disso, considerando o fato de que níveis elevados de aeração podem induzir vias indesejáveis, acarretando na produção de metabólitos tóxicos, e suprimir as vias metabólicas secundárias em geral (AROSKAR; KAMAT; KAMAT, 2012a), fermentações com aeração em níveis ≤ 5 vvm são mais favoráveis.

Armstrong e Johns (1997) mostraram que a agitação no intervalo de 300 a 1000 rpm não apresentou efeito sobre a massa molar do AH nem sobre sua polidispersidade, sugerindo que as moléculas do polímero são resistentes às forças de cisalhamento induzida pelo impulsor e, como neste trabalho taxas de agitação elevadas melhoraram a produção de AH, os autores concluíram que estas podem ser utilizadas sem causar provocar despolimerização.

A composição do meio também pode apresentar influência importante nas propriedades do AH produzido. Im et al. (2009) testaram o efeito de diferentes fontes de carbono (glicose, frutose, galactose, manose, lactose, maltose, sacarose e xilose) na produção de AH. Para os pesquisadores, a glicose em 40 g.L^{-1} foi a melhor fonte testada para *Streptococcus* sp. ID9102. Por sua vez, Pan et al. (2015a) observaram maior produção de ácido hialurônico em sacarose, comparado à glicose.

As fontes de nitrogênio mais comumente utilizadas são extrato de levedura, caseína hidrolisada ou peptonas. No entanto, alguns trabalhos têm buscado a substituição destas fontes por alternativas que diminuam a quantidade de proteínas e peptídeos totais, facilitando a purificação, como peptonas vegetais (BENEDINI, 2013).

Cofatores de enzimas envolvidas na rota metabólica de produção do polímero também são estudados. Im et al. (2009) avaliaram o efeito da adição de diferentes íons e aminoácidos ao meio de cultivo e observaram maiores efeitos sobre a produção de AH pela adição de magnésio e manganês, ambos cofatores das glicosamiltransferases responsáveis pela síntese de AH.

A adição de aminoácidos ao cultivo foi avaliada por Armstrong, Cooney e Johns (1997), que obtiveram altas concentrações do polímero ($5,6\text{ g.L}^{-1}$) pela adição de glutamina ao meio de fermentação, assim como Shah, Badle e Ramachandran (2013) ($5,0\text{ g.L}^{-1}$). Arokar, Kamat e Kamat (2012a) fizeram adição conjunta de glutamina e arginina ao meio de fermentação e obtiveram resultados significativos para ambos aminoácidos. Segundo os autores, como a glutamina está envolvida na formação de glicosamina-6-fosfato, precursor da síntese de AH, e como o fornecimento de arginina pode ter contribuído para diminuir o consumo de ATP pelo microrganismo (a arginina é um aminoácido essencial para a síntese de purinas e pirimidinas), um aumento

significativo da produção de AH foi alcançado nesta condição.

A adição ao meio de cultura de vitamina B₃, precursora das coenzimas NAD⁺ e NADP⁺, também já foi relatada como importante para produção de AH (ARMSTRONG; COONEY; JOHNS, 1997; AROSKAR; KAMAT; KAMAT, 2012b) assim como a adição de antioxidantes para obtenção AH de alto peso molecular (LIU et al., 2011).

Devido à competição entre a biossíntese de AH e o crescimento celular pelo *pool* de precursores (BOERIU et al., 2013), uma técnica utilizada para aumentar a produção do polímero é inibir parcialmente a via glicolítica, garantindo o fluxo de UDP-N-acetilglicosamina para a síntese de AH, , pela adição, por exemplo, de piruvato ou, iodoacetato (SHAH; BADLE; RAMACHANDRAN, 2013).

Uma vez que as diferentes aplicações do AH são dependentes do tamanho da molécula, a possibilidade do controle da massa molecular do polímero pela obtenção microbiana é uma vantagem. Espécies reativas de oxigênio, formadas quando a fermentação é submetida à altos níveis de aeração, despolimerizam as cadeias de AH, reduzindo a massa molar do polímero. Desta maneira, a adição de antioxidantes ao meio de cultivo pode resultar em um polímero com massa molar mais elevada (IM et al., 2009; SHAH; BADLE; RAMACHANDRAN, 2013; ZHANG et al., 2010). Na Tabela 1 estão organizados trabalhos que avaliaram diferentes condições de cultivo para a produção de AH.

De acordo com Vázquez et al. (2010) mais de 80 % dos custos da produção de AH microbiano são devido ao meio de fermentação. Alguns trabalhos recentes têm substituído as fontes tradicionais por subprodutos industriais com a finalidade de baratear a produção, além de agregar valor aos subprodutos, que de outra maneira poderiam ser descartados como resíduos, como soro de queijo (AMADO et al., 2015), soro de leite (MOHAN et al., 2015; PIRES, et al., 2010), milhocina (AMADO et al., 2017; PAN, 2014), melaço de cana-de-açúcar bruto (AMADO et al., 2017) e melaço pré-tratado (PAN et al., 2017).

O melaço de cana-de-açúcar é um subproduto da indústria do processamento do açúcar, rico em nutrientes necessários para fermentação microbiana, como sacarose, glicose, frutose, aminoácidos e íons metálicos. Pan et al. (2017) submeteram o melaço à um tratamento com carvão ativado e alcançaram uma produção de 2,835 g.L⁻¹ de AH.

<i>S. zooepidemicus</i>	Meio (g.L ⁻¹)	Cultivo	AH (g.L ⁻¹)	Bibliografia
ATCC 39920	60 glicose; 60 extrato de levedura (E.L.)	pH 7,5; 37 °C; 2 vvm; 150 rpm	3,29	Ogrodowski (2006)
ATCC 39920	25 glicose; 60 E.L.	pH 7,5; 37 °C; 2 vvm; 250 rpm	1,21	Pires; Santana (2010)
ATCC 39920	Suco de caju; 45 glicose; 54 E.L.	pH 7,5; 37 °C; 150 rpm	0,89	Pires et al. (2010)
ATCC 35246	80 peptona; água do processamento de mexilhões;	pH 6,7; 37 °C; 500 rpm	2,46	Vázquez et al. (2010)
ATCC 39920	45 glicose; 45 peptona de soja;	pH 7,0; 37 °C; 90 rpm;*	0,798	Aroskar; Kamat; Kamat (2012b)
ATCC 39920	30 glicose; 5 glutamina; $5,2 \times 10^{-3}$ de iodoacetato de sódio; $4,6 \times 10^{-3}$ de iodoacetato	pH 7,0; 37 °C; 1 vvm; 400 rpm	5,0	Shah; Badle; Ramachandran (2013)
ATCC 35246	50 glicose ou lactose; 5 E.L.; 8,5 soro de queijo	pH 6,7; 37 °C; 1 vvm; 500 rpm	2,38	Amado et al. (2015)
ATCC 39920	30 glicose; 30E.L.	pH 8,0; 37 °C; 100 rpm	0,787	Pan et al. (2015)
ATCC 39920	85,35 (açúcares totais) de melaço; 50 E.L.	pH 8,0; 37 °C; 100 rpm	2,825	Pan et al. (2017)

Tabela 1. Produção de ácido hialurônico por *Streptococcus zooepidemicus* variando meio e condições de cultivo.

*Baixos níveis de aeração.

4 | APLICAÇÕES DO ÁCIDO HIALURÔNICO

A elevada capacidade de retenção de água e a propriedade de viscoelasticidade, além do fato do polímero não ser imunogênico, permitem que o AH microbiano seja apropriado para várias aplicações médicas, cosméticas e farmacêuticas.

No fluido sinovial, AH de elevada massa molecular está presente em altas concentrações, proporcionando a lubrificação necessária para as articulações, distribuindo a tensão nas juntas, servindo como amortecedor de choque e protegendo contra o desgaste. Embora as causas da artrite reumatoide ainda não estejam totalmente definidas, sabe-se que existe correlação entre o aparecimento da doença e a degradação progressiva de carboidratos poliméricos no fluido sinovial (KOGAN et al., 2007). Injeções do polímero são um meio de tratamento para pacientes com osteoartrite, de forma a aliviar a dor, atrasar a progressão da doença (MARCELLIN et al., 2014) e diminuir a utilização de anti-inflamatórios pelos pacientes (PAN et al., 2013), demonstrando a

seu uso industrial na viscoresplementação como um reflexo de suas próprias funções naturais.

Em mamíferos, cerca de 50 % de todo AH presente é encontrado na pele (ERICKSON; STERN, 2012; STERN, 2003), onde, além de possuir função estrutural na construção da matriz de células, também retém água e preserva o volume e propriedades elásticas e flexíveis (TSEPILOV; BELODED, 2015). Com o passar dos anos, o ácido hialurônico da pele é gradualmente perdido, sendo uma das principais causas do ressecamento e perda da elasticidade associadas ao envelhecimento intrínseco da pele (PAPAKONSTANTINOU; ROTH; KARAKIULAKIS, 2012). Neste sentido, a utilização de ácido hialurônico em formulações combate a desidratação da pele e diminui as marcas de idade (MARCELLIN; CHEN; NIELSEN, 2009).

Sendo o componente natural mais abundante do humor vítreo do olho e devido as suas propriedades viscoelásticas, o AH é amplamente utilizado na oftalmologia. As preparações do polímero protegem tecidos oculares delicados e proporcionam espaço durante manipulações cirúrgicas, além de servir como substituto para o fluido vítreo perdido durante procedimentos de cirurgia de catarata ou implante de lentes (KOGAN et al., 2007) e ser utilizado no transplante de córnea, cirurgia de fixação de retina, entre outras aplicações (GOA; BENFIELD, 1994). Além de manter o espaço operativo, materiais viscoelásticos, como o AH, protegem a camada endotelial da córnea ou outros tecidos dos danos físicos (KRETZ et al., 2014), evitando que se formem feridas e futuro edema (MACEDO, 2006).

Na terapia de distúrbios da audição, filmes de ésteres de AH são utilizados na cirurgia da orelha, de forma a promover a cicatrização de feridas da membrana timpânica, facilitar a renovação do epitélio, além de evitar a aderência entre as camadas de tecidos mucosos (KOGAN et al., 2007).

Ainda destaca-se o uso do AH na cicatrização de ferimentos (SU et al., 2014; TOLG et al., 2014; TOLG; TELMER; TURLEY, 2014; ZHAO et al., 2013), no tratamento de queimaduras (FRIEDRICH et al., 2014), no preenchimento de espaço no reparo tecidual, na prevenção da adesão tecidual pós-cirúrgica (HOARE et al., 2014) no preparo de colírios (LAFFLEUR; DACHS, 2015), na fabricação de hidrogéis (LOEBEL et al., 2015; WILLIAMS; MANN, 2014), no tratamento do pé diabético (CHEN et al., 2014) e na liberação de fármacos (CHEN, et al. 2014; NATH et al., 2015) inclusive para medicamentos vaginais (NOWAK et al., 2014).

Embora se pensasse inicialmente que o principal papel do AH era servir como um enchimento molecular inerte dos tecidos, estudos tem revelado sua mediação em diversas outras atividades específicas. Polímeros de alta massa molecular ($> 10^5$ Da) são antiangiogênicos e imunossupressores; cadeias de AH de tamanho médio (entre 2×10^4 e 2×10^5 Da) estão envolvidas nos processos de ovulação, embriogênese e reparação de feridas; oligossacarídeos (6×10^3 e 2×10^4 Da) são inflamatórios, imunoestimulantes e angiogênicos; e pequenos oligômeros (de 400 a 4000 Da) são antiapoptóticos e indutores de proteínas de choque térmico (BOERIU et al., 2013; STERN; ASARI; SUGAHARA,

2006). O AH também tem sido reconhecido por desempenhar papéis importantes na transdução de sinal, motilidade celular, além de estar relacionado à capacidade de invasão de cancro e metástases (KOGAN et al., 2007).

Mais recentemente, o AH tem sido acoplado a outros materiais, aumentando a gama de suas aplicações. O uso de sistemas baseados em nanotecnologia tem se mostrado como uma maneira eficaz de contornar a resistência a antimicrobianos. O uso de polissacarídeos como nano-carreadores em tais sistemas tem mostrando grandes vantagens, devido às propriedades de biodegradabilidade, biocompatibilidade, permeabilidade, hidrofilicidade, além de ser atóxico, não imunogênico e relativa facilidade de manipulação estrutural (ARORA et al., 2016). O acoplamento do AH com quitosana (ANIRUDHAN; NAIR; NAIR, 2016; HERNANDEZ-MONTELONGO et al., 2016a; HERNÁNDEZ-MONTELONGO et al., 2016b), nisin (LEQUEUX et al., 2014) nanopartículas de prata (ABDEL-MOHSEN et al., 2013; KEMP et al., 2009) tem mostrado relevante atividade antimicrobiana com potencial aplicação na fabricação de biofilmes, lentes de contato, soluções de limpeza para lentes e formulações de cosméticos.

5 | CONCLUSÕES

As vantagens da produção microbiana de ácido hialurônico sobre a extração animal são a possibilidade de controle da sua massa molecular, a otimização da produção, garantindo maior rendimento, e a maior segurança para aplicação industrial. Os custos de produção do AH microbiano, vistos como uma desvantagem do método, podem ser diminuídos com o uso de substratos menos onerosos, como subprodutos agroindustriais, aumentando sua competitividade no mercado.

O AH microbiano tem amplo potencial de aplicação. Além dos usos já estabelecidos do polímero na formulação de cosméticos, procedimentos oftálmicos, cicatrização de ferimentos, tratamento de artrite e queimaduras, novas possibilidades de aplicação têm surgindo com o acoplamento do AH a outros materiais, como seu uso na liberação de fármacos e nanotecnologia, agregando maior valor ao produto.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES - Brasil).

REFERÊNCIAS

ABDEL-MOHSEN, A. M. et al. Antibacterial activity and cell viability of hyaluronan fiber with silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, v. 92, n. 2, p. 1177–1187, fev. 2013.

AMADO, I. R. et al. Cheese whey: A cost-effective alternative for hyaluronic acid production

by *Streptococcus zooepidemicus*. **Food Chemistry**, 2015.

AMADO, I. R. et al. Microbial production of hyaluronic acid from agro-industrial by-products: Molasses and corn steep liquor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 117, p. 181–187, 2017.

ANIRUDHAN, T. S.; NAIR, S. S.; NAIR, A. S. Fabrication of a bioadhesive transdermal device from chitosan and hyaluronic acid for the controlled release of lidocaine. **Carbohydrate Polymers**, jul. 2016.

ARMSTRONG, D. C.; COONEY, M. J.; JOHNS, M. R. Growth and amino acid requirements of hyaluronic-acid-producing *Streptococcus zooepidemicus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 47, n. 3, p. 309–312, 1997.

ARMSTRONG, D. C.; JOHNS, M. R. Culture Conditions Affect the Molecular Weight Properties of Hyaluronic Acid Produced by *Streptococcus zooepidemicus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 7, p. 2759–2764, 1997.

ARORA, D. et al. An update on polysaccharide-based nanomaterials for antimicrobial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 6, p. 2603–2615, 30 mar. 2016.

AROSKAR, V. J.; KAMAT, S. D.; KAMAT, D. V. Effect of Various Physical Parameters and Statistical Medium Optimization on Production of Hyaluronic Acid Using *S. equi* subsp. *zooepidemicus* ATCC 39920. **Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology Letters**, v. 2, n. 1, 2012a.

AROSKAR, V. J.; KAMAT, S. D.; KAMAT, D. V. Effect of Various Nutritional Supplements on Hyaluronic Acid Production. **Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology Letters**, v. 2, n. 1, p. 16–24, 2012b.

BALAZS, E. A. Viscoelastic properties of hyaluronan and its therapeutic use. In: GARG, H. G.; HALES, C. A. **Chemistry and biology of hyaluronan**. 1. Ed. Oxford: Elsevier, p. 415–455, 2004.

BENEDINI, L. J. **Influência de Peptonas Vegetais no Cultivo de Streptococcus zooepidemicus para a Produção de Ácido Hialurônico**. Campinas - São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2013.

BOERIU, C. G. et al. Production Methods for Hyaluronan. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 2013, p. 1–14, 2013.

CHEN, C.-P.; HUNG, W.; LIN, S.-H. Effectiveness of hyaluronic acid for treating diabetic foot: a systematic review and meta-analysis. **Dermatologic therapy**, v. 27, p. 331–336, 2014.

CHEN, M. et al. Topical delivery of hyaluronic acid into skin using SPACE-peptide carriers. **Journal of Controlled Release**, v. 173, p. 67–74, jan. 2014.

CHONG, B. F. et al. Microbial hyaluronic acid production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 4, p. 341–351, 2005.

CHONG, B. F.; NIELSEN, L. K. Aerobic cultivation of *Streptococcus zooepidemicus* and the

role of NADH oxidase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 16, n. 2, p. 153–162, 2003.

ERICKSON, M.; STERN, R. Chain gangs: new aspects of hyaluronan metabolism, **Biochemistry Research International**, v. 2012, 2012.

FRIEDRICH, E. E. et al. Effects of hyaluronic acid conjugation on anti-TNF- α inhibition of inflammation in burns. **Journal of Biomedical Materials Research. Part A**, v. 102A, n. 5, p. 1527–36, 2014.

GOA, K. L.; BENFIELD, P. Hyaluronic Acid. A review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophthalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing. **Drugs**, v. 47, n. 3, p. 536–566, 1994.

HERNANDEZ-MONTELONGO, J. et al. Hyaluronan/chitosan nanofilms assembled layer-by-layer and their antibacterial effect: A study using *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 141, p. 499–506, maio 2016.

HERNÁNDEZ-MONTELONGO, J. et al. Nanofilms of hyaluronan/chitosan assembled layer-by-layer: An antibacterial surface for *Xylella fastidiosa*. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1–11, jan. 2016.

HOARE, T. et al. Prevention of Peritoneal Adhesions Using Polymeric Rheological Blends. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 3, p. 1197–1193, 2014.

HUANG, W.-C.; CHEN, S.-J.; CHEN, T.-L. The role of dissolved oxygen and function of agitation in hyaluronic acid fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 32, n. 3, p. 239–243, 2006.

IM, J. H. et al. Optimization of medium components for high-molecular-weight hyaluronic acid production by *Streptococcus* sp. ID9102 via a statistical approach. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 11, p. 1337–1344, 2009.

JAGANNATH, S.; RAMACHANDRAN, K. B. Influence of competing metabolic processes on the molecular weight of hyaluronic acid synthesized by *Streptococcus zooepidemicus*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 48, n. 2, p. 148–158, 2010.

JOHNS, M. R.; GOH, L.; OEGGERLI, A. Effect of pH, Agitation and Aeration on Hyaluronic Acid Production by *Streptococcus zooepidemicus*. **Biotechnology Letters**, v. 16, n. 5, p. 507–512, 1994.

KEMP, M. M. et al. Hyaluronan- and heparin-reduced silver nanoparticles with antimicrobial properties. **Nanomedicine**, v. 4, n. 4, p. 421–429, jun. 2009.

KIM, J.-H. et al. Selection of a *Streptococcus equi* mutant and optimization of culture conditions for the production of high molecular weight hyaluronic acid. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 6, p. 440–445, 1996.

KOGAN, G. et al. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 1, p. 17–25, 2007.

KRETZ, F. T. A; LIMBERGER, I.-J.; AUFFARTH, G. U. Corneal endothelial cell coating during phacoemulsification using a new dispersive hyaluronic acid ophthalmic viscosurgical device.

LAFFLEUR, F.; DACHS, S. Development of novel mucoadhesive hyaluronic acid derivated as lubricant for the treatment of dry eye syndrome. **Therapeutic Delivery**, v. 6, n. 10, p. 1211–1219, 2015.

LEQUEUX, I. et al. Addition of antimicrobial properties to hyaluronic acid by grafting of antimicrobial peptide. **European Polymer Journal**, v. 51, p. 182–190, 2014.

LIU, L. et al. Influence of hyaluronidase addition on the production of hyaluronic acid by batch culture of *Streptococcus zooepidemicus*. **Food Chemistry**, v. 110, p. 923–926, 2008.

LIU, L. et al. Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. **Microbial cell factories**, v. 10, p. 99, 2011.

LOEBEL, C. et al. Microfabrication of Photo-crosslinked Hyaluronan Hydrogels by Single- and Two-photon Tyramine Oxidation. **Biomacromolecules**, p. 1–25, 2015.

MACEDO, A. C. DE. **Estudo da Produção de Ácido Hialurônico por Fermentação de Streptococcus zooepidemicus em Substrato de Caju (Anacardium occidentale L.)**. Campinas - São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2006.

MARCELLIN, E.; CHEN, W.; NIELSEN, L. K. Microbial hyaluronic acid biosynthesis. In: Microbial Production of Biopolymers. Edited by: Rehm BHA. Caister Academic Press; p. 163–180, 2009.

MARCELLIN, E.; STEEN, J. A.; NIELSEN, L. K. Insight into hyaluronic acid molecular weight control. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 16, p. 6947–6956, 2014.

MOHAN, N.; BALAKRISHNAN, R.; SIVAPRAKASAM, S. Optimization and effect of dairy industrial waste as media components in the production of hyaluronic acid by *Streptococcus thermophilus*. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, 2015.

NATH, S. D. et al. Chitosan-hyaluronic acid polyelectrolyte complex scaffold crosslinked with genipin for immobilization and controlled release of BMP-2. **Carbohydrate polymers**, v. 115, p. 160–9, 2015.

NOWAK, J.; LAFFLEUR, F.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Preactivated hyaluronic acid: A potential mucoadhesive polymer for vaginal delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 478, n. 1, p. 383–389, 2014.

OGRODOWSKI, C. S. **Produção de Ácido Hialurônico por Streptococcus: Estudo da Fermentação e Caracterização do Produto**. Campinas - São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2006.

PAN, N. C. et al. Ácido Hialurônico: Características, Produção Microbiana e Aplicações Industriais. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 4, p. 42–58, 2013.

PAN, N. C. **Produção de ácido hialuronico por Streptococcus zooepidemicus ATCC 39920 em diferentes condições de cultivo utilizando metodologias estatísticas**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2014.

PAN, N. C. et al. Effect of fermentaion conditions on the production of hyaluronic acid by Streptococcus zooepidemicus ATCC 39920. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 37, n. 4, p. 411–417, 2015.

PAN, N. C. et al. Improvement Production of Hyaluronic Acid by Streptococcus zooepidemicus in Sugarcane Molasses. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 182, n. 1, p. 276–293, 30 maio 2017.

PAPAKONSTANTINOU, E.; ROTH, M.; KARAKIULAKIS, G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. **Dermato-Endocrinology**, v. 4, n. 3, p. 253–258, 2012.

PIRES, A. M. B. **Estudos Metabólicos para Otimização de Condições Nutricionais e de Cultivo para Produção Microbiana de Ácido Hialurônico**. Campinas - São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2009.

PIRES, A. M. B.; SANTANA, M. H. A. Metabolic effects of the initial glucose concentration on microbial production of hyaluronic acid. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 162, n. 6, p. 1751–1761, 2010.

PIRES, A. M. et al. Microbial production of hyaluronic acid from agricultural resource derivatives. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 16, p. 6506–6509, 2010.

SHAH, M. V.; BADLE, S. S.; RAMACHANDRAN, K. B. Hyaluronic acid production and molecular weight improvement by redirection of carbon flux towards its biosynthesis pathway. **Biochemical Engineering Journal**, v. 80, n. December, p. 53–60, 2013.

STERN, R. Devising a pathway for hyaluronan catabolism: Are we there yet? **Glycobiology**, v. 13, n. 12, p. 105–115, 2003.

STERN, R.; ASARI, A.; SUGAHARA, K. Hyaluronan fragments: An information-rich system. **European Journal of Cell Biology**, v. 85, n. 8, p. 699–715, 2006. SU, Z. et al. Enhancement of skin wound healing with decellularized scaffolds loaded with hyaluronic acid and epidermal growth factor. **Materials Science and Engineering: C**, v. 44, p. 440–448, 2014.

SWANN, D. A.; SULLIVAN, B.P.; JAMIESON, G.; RICHARDSON, K. S. T.**Biosynthesis of hyaluronic acid**. US Patent No. 4897349, 1990.

TOLG, C. et al. Hyaluronan and RHAMM in wound repair and the “cancerization” of stromal tissues. **BioMed research international**, v. 2014, n. Figure 1, p. 103923, 2014.

TOLG, C.; TELMER, P.; TURLEY, E. Specific Sizes of Hyaluronan Oligosaccharides Stimulate Fibroblast Migration and Excisional Wound Repair. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e88479, 2014.

TSEPILOV, R. N.; BELODED, A. V. Hyaluronic acid — an “old” molecule with “new” functions: biosynthesis and depolymerization of hyaluronic acid in bacteria and vertebrate tissues including during carcinogenesis. **Biochemistry (Moscow)**, v. 80, n. 9, p. 1093–1108, 12 set. 2015.

VÁZQUEZ, J. A et al. Hyaluronic acid production by Streptococcus zooepidemicus in marine by-products media from mussel processing wastewaters and tuna peptone viscera. **Microbial cell factories**, v. 9, p. 46, 2010.

WILLIAMS, D. L.; MANN, B. K. Efficacy of a crosslinked hyaluronic acid-based hydrogel as a tear film supplement: A masked controlled study. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, p. 1–6, 2014.

YAMADA, T.; KAWASAKI, T. Microbial synthesis of hyaluronan and chitin: New approaches. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 99, n. 6, p. 521–528, 2005.

ZHANG, X.; DUAN, X. J.; TAN, W. S. Mechanism for the effect of agitation on the molecular weight of hyaluronic acid produced by *Streptococcus zooepidemicus*. **Food Chemistry**, v. 119, n. 4, p. 1643–1646, 2010.

ZHANG, Y. et al. Genetic and biochemical characterization of genes involved in hyaluronic acid synthesis in *Streptococcus zooepidemicus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 13 jan. 2016.

ZHAO, J.-Y. et al. Influence of hyaluronic acid on wound healing using composite porcine acellular dermal matrix grafts and autologous skin in rabbits. **International Wound Journal**, v. 10, n. 5, p. 562–572, 2013.

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS DE FUNGOS ISOLADOS DE *EUTERPE PRECATORIA MART.*

Bárbara Nunes Batista

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus - Amazonas

Rosiane Rodrigues Matias

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus - Amazonas

Ana Milena Gómez Sepúlveda

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus – Amazonas

Rafael Lopes e Oliveira

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Tecnologia
Manaus - Amazonas

Patrícia Melchionna Albuquerque

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia

RESUMO: A *Euterpe precatoria* (açaizeiro) é uma das palmeiras mais abundantes na região amazônica, e apresenta alto valor econômico pela sua variedade de usos, além de sintetizar substâncias de importância medicinal. Sendo assim, torna-se interessante o estudo de seus

extratos e os micro-organismos que hospeda, chamados endófitos. Estes micro-organismos apresentam vasto potencial na produção de substâncias bioativas, como as enzimas hidrolíticas, entretanto, os fungos endofíticos associados às espécies tropicais vêm sendo pouco explorados. Portanto, este estudo teve por objetivo avaliar a produção de diferentes hidrolases em fungos endofíticos isolados do açaizeiro. Os fungos isolados de folhas, caules e raízes de mudas de *E. precatoria* foram reativados em ágar batata dextrose, incubados à 28°C por 7 dias e então avaliados quanto à síntese de amilases, celulases, pectinases e lipases em meio sólido. Do total de 41 isolados testados, 31,7% foram capazes de produzir amilase, 58,5% produziram celulase, 12,2% lipase e 82,9% pectinase. A partir da determinação do índice enzimático, foram selecionados os melhores produtores para cada enzima. Os fungos selecionados foram identificados como pertencentes aos gêneros *Guignardia* e *Penicillium*. Sendo assim, os resultados confirmaram o potencial de produção de hidrolases por fungos endofíticos obtidos do açaizeiro.

PALAVRAS-CHAVE: Açaizeiro, endófitos, hidrolases, atividade enzimática.

ABSTRACT: *Euterpe precatoria* (açai palm) is one of the most abundant palms in the Amazon

region, and presents a high economic value due to its variety of uses, besides synthetizing compounds of medicinal importance. Therefore, it is interesting to carry out studies regarding its extracts and the microorganisms that it hosts, called endophytes. These microorganisms present a wide potential for the production of bioactive substances, such as hydrolytic enzymes, however, the endophytic fungi associated with tropical species have been little explored. Therefore, the objective of this study was to evaluate the production of different hydrolases by endophytic fungi which were isolated from the açaí palm. The fungi isolated from leaf, stem and root of *E. precatoria* were reactivated on potato agar dextrose, incubated at 28°C for 7 days, and then evaluated for the synthesis of amylase, cellulase, protease and lipase on solid media. Of the 41 fungi that were tested in solid media, 31.7% produced amylase, 58.5% produced cellulase, 12.2% lipase, and 82.9% pectinase. In accordance with the enzymatic index, the best producers were selected for each of the enzymes. The selected fungi were identified as belonging to the *Guignardia* and *Penicillium* genus. Thus, our results have confirmed the potential of hydrolases production by endophytic fungi when isolated from the açaí palm.

KEYWORDS: Açaí palm; endophytes; hydrolases; enzymatic activity.

1 | INTRODUÇÃO

Enzimas são biocatalisadores específicos, capazes de atuar diante de macromoléculas como proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos para obtenção de energia e “blocos de construção” químicos, que em conjunto constituem proteínas, membranas, células e tecidos (MENDES *et al.*, 2015; ORLANDELLI *et al.*, 2015). As enzimas apresentam um grande leque de aplicações em áreas como agricultura, indústrias de medicamentos, alimentícia, de ração, papel, têxtil, entre outras (ROBINSON, 2015).

A especificidade que a enzima apresenta é determinada através de sua característica estrutural, resultando na catálise de diferentes tipos de reações, que as classificam seis grupos principais, de acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUMB): oxidoredutases, que catalisam reações óxido-redutivas; transferases, que realizam a catálise de transferência de grupos de um composto para outro; ligases, que sintetizam compostos a partir da energia obtida da degradação de ATP; liases, que modificam o substrato reduzindo-o a compostos ou removendo grupos para romper duplas ligações; isomerases, enzimas catalisadoras de reações de isomerização por transferência de grupos, gerando assim isômeros; e as hidrolases, que realizam a catálise de quebra de ligações com o auxílio de moléculas de água e são a classe de interesse do presente estudo (GULHANE *et al.*, 2016).

A classe das hidrolases compõe o grupo de maior aplicação na indústria devido a fatores como a capacidade de catalisar reações de biotransformação com alta quimio-, régio- e enantiosseletividade, além de não dependerem da regeneração de cofatores (RODWELL *et al.*, 2016). Dentre as hidrolases, existem as amilases, que ocupam o

ranking das enzimas mais utilizadas industrialmente (25%) e aplicadas nas indústrias alimentícia e têxtil, seguidas das celulases (20%) conhecidas principalmente pela aplicabilidade na indústria de biocombustíveis. Lipases e pectinases são aplicadas na indústria alimentícia, na obtenção de aromas e sabores e na produção de bebidas, respectivamente (RODWELL *et al.*, 2016; CUNHA *et al.*, 2016; GOPINATH *et al.*, 2017).

A obtenção de tais enzimas tem sido possível através da síntese microbiana, que permite a produção em larga escala e a otimização desta produção. Além disso, os micro-organismos apresentam rápido crescimento e permitem a alteração de genes de interesse através da engenharia genética, permitindo a obtenção de micro-organismos com determinadas características de interesse, desempenhando papel fundamental na produção de novos produtos naturais de aplicação biotecnológica (CHAPLA *et al.*, 2013; FONSECA, 2017).

Dentre os micro-organismos com potencial para a produção de enzimas estão os fungos endofíticos, que colonizam o interior de plantas sem provocar dano aparente. Estes micro-organismos apresentam características que vão do auxílio na defesa contra patógenos, por ocuparem nicho ecológico semelhante, contra herbivoria na síntese de compostos de considerável toxicidade, e na produção de compostos biologicamente ativos, podendo estes compostos serem semelhantes aos sintetizados pela planta hospedeira. A substância Taxol, por exemplo, utilizada no tratamento do câncer, vem sendo sintetizada pelo fungo *Taxomyces andreanae*, endófito da planta hospedeira *Taxus brevifolia* (STIERLE *et al.*, 1993; AZEVEDO, 1998; CHAPLA *et al.*, 2013; CORREA *et al.*, 2014).

O açaizeiro (*Euterpe Precatoria* Mart.), é um exemplo de espécie hospedeira cujos endófitos apresentam potencial de produção de compostos de interesse biotecnológico. De estipe único característico, a *E. precatoria* é conhecida pelo vinho obtido de seus frutos e de seu palmito. Seu vinho é rico em α-tocoferol, fibras, lipídeos, polifenóis (incluindo antocianinas) e íons minerais como cálcio, magnésio e potássio (PEIXOTO *et al.*, 2016; GUIMARÃES *et al.*, 2017). Das raízes são feitos chás e xaropes atribuídos às culturas indígenas, que preparam chá das raízes para tratar malária, acelerar coagulação de ferimentos, tratamento para tosse e dor de garganta, tratamento de dores renais e hepáticas (SMITH, 2015; YAMAGUCHI *et al.*, 2015). Além disso, extratos de talos das folhas e raízes apresentam substâncias detentoras de atividade antioxidante, anti-inflamatória, vasodilatadora e antimalária (JENSEN *et al.*, 2002; GALOTTA *et al.*, 2008; YAMAGUCHI *et al.*, 2015).

Apesar de sua importância econômica e presença de compostos bioativos em seus extratos, poucos trabalhos sobre a composição química desta espécie vêm sendo descritos na literatura (AGUIAR & MENDONÇA, 2003), e quando se trata de estudos sobre os fungos endofíticos associados ao açaizeiro, praticamente nada foi publicado.

Estudos realizados previamente indicaram o potencial de fungos isolados do açaizeiro no que diz respeito à atividade antimicrobiana (BATISTA, SILVA e RAPÔSO, 2018). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de enzimas hidrolíticas

em fungos isolados de açaizeiro, a fim de verificar o potencial destes endófitos na produção de moléculas com ampla aplicação industrial.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismos

A partir de folhas, caules e raízes de mudas de *E. precatoria* foram isolados os fungos endofíticos, os quais foram identificados em nível de gênero por meio de análise micromorfológica em estudo realizado previamente (BATISTA, SILVA e RAPÓSO, 2018). Os fungos foram conservados pelo método de Castellani (1939), sendo reativados em ágar batata dextrose (BDA), após incubação em BOD a 28°C durante 7 dias. Após o crescimento dos fungos, 41 isolados foram submetidos aos testes em meio sólido para a determinação da atividade hidrolítica.

2.2 Ensaio da Atividade Enzimática

Discos de 5 mm de diâmetro do material micelial reativado foram transferidos para o centro de uma placa de Petri para a detecção da atividade hidrolítica com meio específico para produção das hidrolases de interesse. Para detecção da produção de amilase, foi utilizado meio composto por ágar (1,8%), amido (1%) e tampão citrato fosfato 0,1 M, pH 5,0; Para detecção de atividade celulolítica, foi utilizado ágar (1,8%), carboximetilcelulose (CMC) (1%) e tampão acetato de sódio 0,1 M, pH 5,0; Para a detecção da atividade pectinolítica foi utilizado ágar (1,8%), pectina cítrica (1%) e tampão acetato de sódio 0,1 M, pH 5,0; Para detecção de atividade lipolítica, foi utilizado peptona (6,0 g/L), NaCl (3,0 g/L), CaCl₂.2H₂O (0,06 g/L), ágar (10,8 g/L) e Tween 80 a 1% (v/v) (SOUZA *et al.*, 2008; ALVES *et al.*, 2016). Os ensaios foram realizados em triplicata.

Após o período de incubação, as placas foram coradas a fim de facilitar a visualização dos halos de degradação. Para detecção do halo indicativo da produção de amilase utilizou-se iodo 0,1 N; para a celulase, lugol; para detecção de protease verificou-se a mudança de cor na área de degradação do leite; e para lipase, a presença de cristais de cálcio.

2.3 Determinação do Índice Enzimático (IE)

Os halos indicativos da produção enzimática e as colônias fúngicas foram medidos com auxílio de paquímetro, para o cálculo do Índice enzimático (IE), que expressa a atividade enzimática extracelular mediante a relação entre o diâmetro do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia (OLIVEIRA; FLOR; OLIVEIRA, 2010). Os fungos que apresentaram IE≥3 foram considerados como os melhores produtores das enzimas hidrolíticas avaliadas.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 41 fungos endofíticos isolados do açaizeiro avaliados neste estudo, 31,7% (18 isolados) apresentaram atividade amilolítica; 58,5% (27 isolados) atividade celulolítica; 12,2% (9 isolados) atividade lipolítica e 82,9% (34 isolados) atividade pectinolítica. Destes, 73,1% apresentaram o potencial de síntese para mais de uma enzima (Tabela 1), o que confirma a viabilidade de uso dos fungos endófitos para a produção de compostos bioativos, como as hidrolases (CHAPLA *et al.*, 2013).

Ordem	Fungos	Amilase	Celulase	Pectinase	Lipase
1	R1	-	+++	+++	++
2	R2	+	-	+++	+
3	R3	++	+++	+++	-
4	R4	-	++	++	+
5	R6	-	-	-	-
6	R8	-	-	+++	-
7	R9	-	++	-	-
8	R10	-	++	++	-
9	R11	-	+	+++	-
10	R12	++	+++	+++	-
11	R13	-	+++	+++	+
12	F1	-	-	+++	+
13	F2	-	+++	+++	-
14	F3	+++	+	+++	+++
15	F4	-	-	-	-
16	F5	-	-	+++	-
17	F6	-	-	-	-
18	F7	-	-	-	-
19	F8	++	++	+++	-
20	F11	++	+++	-	+++
21	F12	++	+++	+++	-
22	F13	++	+++	+++	-
23	F14	-	-	+++	++
24	F15	-	-	+++	-
25	F16	-	-	+++	-
26	C1	+	+++	+++	-
27	C3	+	+++	+++	+
28	C4	-	+++	+++	-
29	C5	-	++	+++	-
30	C6	+	+++	+++	-
31	C11	+	+++	+++	++

32	C14	-	+	+++	-
33	C15	-	-	-	-
34	C16	-	-	+++	-
35	C17	-	++	+++	-
36	C18	++	+++	+++	-
37	C20	++	++	+++	-
38	C22	+++	+++	+++	-
39	C23	++	-	+++	-
40	C24	++	+++	++	-
41	C26	++	++	+++	-

Tabela 1 - Produção de enzimas hidrolíticas de fungos isolados do açaizeiro conforme índice enzimático, calculado a partir da atividade degradadora de substratos presentes nos meios sólidos específicos.

R = isolado de raiz; F = isolado de folha; C = isolado de caule.

Índice enzimático abaixo de 2: +; Índice enzimático de 2 a 2,9: ++; Índice enzimático acima de 3: +++; Sem atividade: -

O isolado de folha F3 (*Penicillium* sp.) apresentou atividade para todas as enzimas de interesse, mostrando-se versátil e promissor para diversas aplicações industriais. Torna-se necessário, ainda, avaliar sua produção em meio líquido, bem como avaliar as enzimas produzidas quanto às suas características, a fim de determinar suas potenciais aplicações na indústria (HUSSAIN *et al.*, 2013).

Observa-se na Tabela 1 que 18 fungos endofíticos do açaizeiro foram capazes de produzir amilase, sendo encontrado um maior número de produtores desta enzima em isolados do caule (10 fungos) e de folhas (5 fungos), com somente 3 isolados de raiz. Foram encontrados 27 produtores de celulose, sendo a maioria isolados do caule (13 fungos), além de 6 de folhas e 8 de raiz. Quanto à produção de pectinase, 34 endófitos apresentaram halo de degradação em meio sólido, sendo novamente a maioria isolada de caule (15 produtores), seguido de isolados de folhas (10 fungos) e de raiz (9 fungos). O elevado número de isolados de caule produtores de hidrolases pode ser explicado devido à influência das alterações fisiológicas e químicas dos diferentes órgãos das plantas, determinando assim a localização de fungos endófitos no hospedeiro (ESPINOSA-GARCIA & LONGENHEIM, 1990).

Para a lipase foram poucos os endófitos do açaizeiro que apresentaram halo de degradação em meio sólido, sendo 4 de raiz, 4 de folhas e 2 de caule, o que pode indicar a não patogenicidade de grande parte dos isolados do açaizeiro, pois a síntese de lipase, apesar de não possuir função totalmente conhecida, está relacionada com a localização e possível expansão de fungos patogênicos, como também uma estratégia de obtenção de nutrientes durante o crescimento saprofítico (ROLLOF *et al.*, 1987; ANNIS & GOODWIN, 1997).

Quando se consideram somente os isolados que apresentaram IE ≤ 3, verifica-

se uma redução no número de produtores de hidrolases dentre os fungos isolados do açaizeiro, sendo apenas 2 fungos produtores de amilase; 2 de lipase, 16 de celulase e 31 de pectinase (Figura 1).

Na Figura 1, observa-se que para a amilase, o fungo C22, isolado do caule (*Guignardia* sp.) apresentou o maior índice enzimático ($IE = 3,5 \pm 0,14$), seguido do isolado F3, pertencente ao gênero *Penicillium* ($IE = 3,36 \pm 0,2$). Em relação ao índice celulolítico, o fungo F11 (*Guignardia* sp.) isolado de folha, apresentou índice de $7,0 \pm 0,2$, seguido do isolado C1 (gênero *Colletotrichum*) ($IE = 6,7 \pm 0,05$). O isolado de maior atividade lipolítica foi o F3 ($3,89 \pm 0,2$), seguido do F11 ($3,6 \pm 0,0$), enquanto o de maior índice pectinolítico foi o R3, de gênero desconhecido ($9,4 \pm 0,1$), seguido do R13, pertencente ao gênero *Aspergillus* ($7,6 \pm 0,2$).

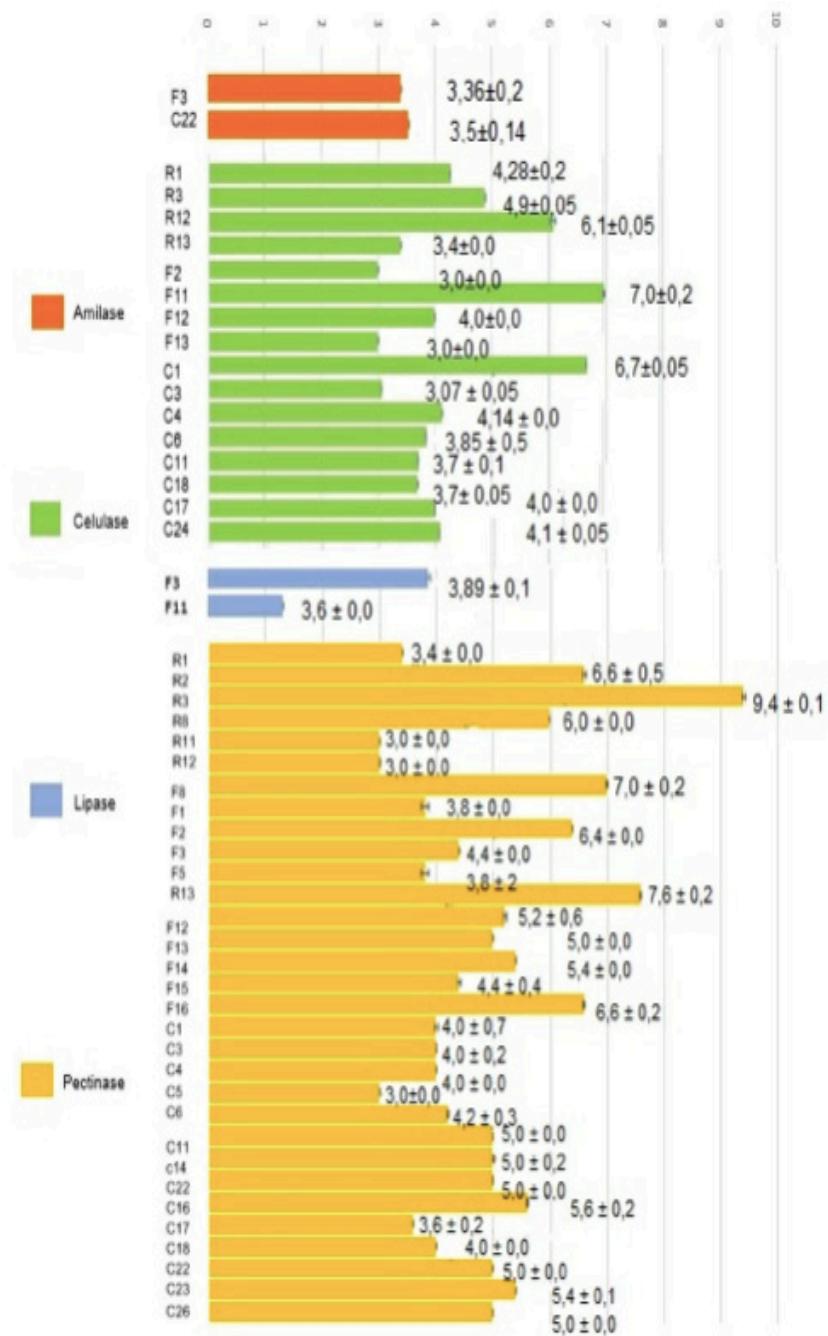


Figura 1 - Índices Enzimáticos (IE) dos fungos endofíticos do açaizeiro considerados os mais promissores para a produção de amilase, celulase, lipase e pectinase.

Os isolados do gênero *Guignardia* apresentaram resultados semelhantes ao descrito por Romão *et al.* (2011), que avaliaram a produção de diferentes enzimas entre as espécies *G. mangiferae* (endófito) e *G. citricarpa* (patógeno). Os autores observaram que a produção de amilase, celulase e pectinase foi elevada na espécie patógena, indicando influência da síntese destas enzimas no desenvolvimento da mancha preta do citros, atuando na forma de complexos enzimáticos. A presença dos substratos amido e carboximetilcelulose no meio de cultura pode ter induzido esta elevada produção das hidrolases em *Guignardia* sp., que apresentaram índices enzimáticos superiores aos dos isolados dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* sp., conhecidos como excelentes produtores de enzimas hidrolíticas.

O número de endófitos com potencial pectinolítico observado no presente estudo foi elevado, quando comparado ao descrito por Bezerra *et al.*, (2012), que isolaram 44 fungos de *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae), e destes, apenas dois apresentaram potencial pectinolítico, sendo os fungos *Aspergillus japonicas* e *Penicillium gandicola* os únicos produtores, com índices enzimáticos abaixo de 1,0. No presente estudo, a maior porcentagem de atividade observada foi a pectinolítica (82,9%). A pectinase é uma das enzimas responsáveis pela degradação da pectina, presente em folhas e frutos, podendo assim, ser relacionada ao processo de colonização nas hospedeiras ao ser capaz de degradar a parede celular vegetal (HERBERT *et al.*, 2004).

Quanto à atividade lipolítica, o maior índice enzimático foi obtido pelo isolado F3, pertencente ao gênero *Penicillium* sp. O gênero *Penicillium*, dentre os fungos filamentosos, possui espécies capazes de sintetizar grandes quantidades de lipases, como *P. cyclopium*, *P. citrinum*, *P. roqueforti*, *P. fumiculosum*, entre outros (CORTEZ *et al.*, 2017). Alguns trabalhos descrevem a produção de lipase por *Penicillium* sp., cuja atividade é elevada de acordo com a quantidade de peptona presente no meio, como também de óleo de oliva, considerado um bom substrato para indução lipolítica (ORLANDELLI *et al.*, 2015). Diante disso, estudos de otimização das condições de cultivo devem ser realizados com o fungo F3, a fim de se obter maior produção de lipase, enzima de ampla aplicação industrial.

Desta forma, a continuidade do presente trabalho torna-se necessária, com a intenção de aplicar as enzimas produzidas pelos endófitos do açaizeiro, uma vez que estes micro-organismos apresentaram potencial de produção para grande parte das enzimas de interesse, podendo assim ser aplicados em processos biotecnológicos.

4 | CONCLUSÕES

Os fungos endofíticos do açaizeiro apresentaram significativo potencial para produção de hidrolases, sendo 7,3% dos isolados capaz de sintetizar os 4 tipos de enzimas avaliados, indicando a versatilidade destes fungos, que podem ser utilizados como novas fontes de enzimas hidrolíticas. Dentre os isolados que apresentaram

atividades amilolítica, celulolítica e pectinolítica, observou-se predominância de endófitos isolados de caule, enquanto que para a atividade lipolítica, houve predominância de endófitos isolados de folhas. A atividade pectinolítica foi a mais abundante nos fungos, seguida pelas atividades celulolítica, amilolítica e lipolítica.

Torna-se necessário um estudo das condições de cultivo em meio líquido, com o propósito de aumentar a produção destas enzimas, e a continuidade desta investigação, com o intuito de se obter fungos produtores de hidrolases que possam fornecer estas enzimas para as diversas aplicações industriais.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (Programa Pró-Amazônia Projeto nº. 052) e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. O.; MENDONÇA, M. S. Morfo-anatomia da semente de *Euterpe precatoria* Mart. **Revista brasileira de sementes**, v. 25, n. 1, p. 37-42, 2003.
- ALVES, D. R. et al. Avaliação de atividade lipolítica de fungos endofíticos de *Jatropha curcas* L. em Tween 20 e Tween 80. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, XXI, 2016, Fortaleza, CE. **Anais**. Fortaleza, p. 1-7. 2016.
- ANNIS, S.L. & GOODWIN, P.H. Recent advances in the molecular genetics of plant cell wall degrading enzymes produced by plant pathogenic fungi. **European Journal of Plant Pathology** 103: 1-14, 1997.
- AZEVEDO, J. L. Microrganismos Endofíticos. In: MELOI, S. **Ecologia Microbiana**, Jaguariúna-SP: EMBRAPA, 1998. p.117-137.
- BATISTA, B. N.; SILVA, I. R.; RAPÔSO, N. V. M. Isolamento e avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de açaizeiro. **Revista Fitos**, v. 12, n. 2, p. 161-174, 2018.
- BEZERRA, J.D.P. et al. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 1989-1995, 1989.
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 42, p. 225-226, 1939.
- CHAPLA. V. M.; BIASETTO, C. R.; ARAUJO, A. R. Fungos endofíticos: Uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 421-437, 2013.
- CORREA, R. C. G. et al. Endophytic fungi: expanding the arsenal of industrial enzyme producers. **Industrial Microbiology and Biotechnology**, 41(10): 1467-78, 2014.
- CORTEZ, D. V.; CASTRO, H. F.; ANDRADE, G. S. S. Potencial catalítico de lipases ligadas ao micélio de fungos filamentosos e processos de biotransformação. **Química nova**, v. 40, n. 1, p. 85-96. 2017.
- CUNHA, J. R. B. et al. Cultivo de *Penicillium* spp. em resíduos de colheita de soja para produção de

celulase, protease e amilase. **Revista Ceres**, v. 63, n. 5, p. 597-504, 2016.

ESPINOSA-GARCIA, F. J.; LONGENHEIN, J. H. The leaf endophytic community of a coastal redwood population – diversity and spatial patterns. **New Phytologist**, Oxford, v. 116, p. 89-98, 1990.

FONSECA, L. 4 aplicações de microrganismos na industria do petróleo que você não conhecia. Portal Tratamento de água. Disponível em: <<https://www.tratamentodeagua.com.br/microrganismos-industria-petroleo/>> Acesso em 24 Ago. 2018.

GALOTTA, A. L. Q. de A.; BOAVENTURA, M. A. D.; LIMA, L. A. R. S. Antioxidant and ctotoxic activities of 'Açaí' (*Euterpe precatoria* Mart.). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1427-1430, 2008.

GOPINATH, S. C. B. et al. Biotechnological process in microbial amylase production, **BioMed Research international**, v. 2017, 9 p.

GUIMARÃES, L. C. et al. Estudo prospectivo de produtos e processos tecnologicos com o açaí (*Euterpe oleracea*). **Revista Cadernos de Prospecção**, v. 10, n. 2, p. 215-225, 2017.

GULHANE, P. A.; GOMASHE, A. V.; PATNE, M. Endophytic fungi: A souce of novel enzymatic antioxidants and biologically active secondary metabolites. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 7, n. 1, p. 8226-8231, 2016.

HERBERT, C. et al. Production of a cell wall-associated endopolygalacturonase by *Colletotrichum lindemuthianum* and pectin degradation during bean infection. **Fungal Genetics and Biology**, v. 41, n. 2, p. 140-147, 2004.

HUSSAIN, I. et al. A review of the Microbiological aspect of a α-amylase production. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 15, p. 1029-1034, 2013.

JENSEN, J. F.; KVIST, L. P.; CHRISTENSEN, S. B.; An antiplasmodial lignin from *Euterpe precatoria*. **Journal of Natural Products**, 65, 3p., n. 12 p 1915 - 1917, 2002.

MENDES, M. M. G. S. et al. Screening of Amazon fungi for the production of hydrolytic enzymes. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 10, p. 741-748, 2015.

OLIVEIRA, A. N.; FLOR, N. S.; OLIVEIRA, L. A. Influência do pH e temperatura sobre a atividade amilolítica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta amazônica**, v. 40, n. 2, p. 401-404, 2010.

ORLANDELLI, R. C. et al. Antifungal and proteolytic activities of endophytic fungi isolated from *Piper hispidum* Sw. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 359-366, 2015.

PEIXOTO, H. S. et al. An anthocyanin-rich extract of açaí (*Euterpe precatoria* Mart.) increases stress resistance and retards aging elated markets in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 6, p. 1283-1290, 2016.

ROBINSON, P. K. Enzymes: principles and biotechnological applications. **Essays Biochemistry**, v. 59, p. 1-41, 2015.

RODWELL, V. W. et al. **Bioquímica Ilustrada de Harper**, 30. Porto Alegre: AMGH Editora, 832 p. 2016.

ROLLOF, S.; HEDSTROM, S.A. & NILSON-EHLE, P. Purification and characterization of a lipase from *Staphylococcus aureus*. **Bioquimica et Biophysica Acta** 921: 363-369, 1987.

ROMÃO, A. S. et al. Enzymatic differences between the endophyte *Guignardia mangiferae* (botryosphaeriaceae) and the citrus pathogen *Guignardia citricarpa*. **Genetics and Molecular**

Research evolution and tecnology 10: 243-252, 2011.

SMITH, N. **Palms and people in the Amazon**.1. Florida: Springer International Publishing, 500 p. 2015. ISBN 978-3-319-05509-1. DOI 10.1007/978-3-319-05509-1.

SOUZA, H. Q.; OLIVEIRA, L. A.; ANDRADE, J. S. Seleção de Basidiomycetes da Amazônia para produção de enzimas de interesse biotecnológico. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 28, p. 116-124, 2008.

STIERLE, A., STROBEL, G., & STIERLE, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, and endophytic fungus of Pacific yew. **Science**, v. 260 p. 214-216, 1993.

YAMAGUCHI, K. K. *et al.* Amazon Açaí: chemistry and biological activities: a review. **Food chemistry**, v. 179, p. 137-151, 2015.

CAPÍTULO 3

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS IDEAIS DE CULTIVO DE *STREPTOMYCES PARVULUS* UFPEDA 3408 PARA PRODUÇÃO DA ENZIMA L- ASPARAGINASE

Glêzia Renata da Silva Lacerda

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur
de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901,
Recife-PE, Brasil.
-Faculdade UNINASSAU, unidade Caruaru. BR
104, KM 68, n 1215 -Agamenon Magalhães,
Caruaru - PE, 55000-000

Isllan D'Eric Gonçalves da Silva

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur
de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901,
Recife-PE, Brasil.

Luiz Eduardo Felix de Albuquerque

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur
de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901,
Recife-PE, Brasil.

Wanda Juliana Lopes e Silva

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur
de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901,
Recife-PE, Brasil.

Suellen Emilliany Feitosa Machado

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur
de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901,
Recife-PE, Brasil.

-Centro Universitário Maurício de Nassau, Graças,
Recife – PE.

Silene Carneiro do Nascimento

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur

de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901,
Recife-PE, Brasil.

Gláucia Manoella de Souza Lima

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur
de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901,
Recife-PE, Brasil.

RESUMO: L- asparaginase é uma enzima usada no tratamento da leucemia linfoblástica aguda. Ela é capaz de hidrolisar a L- asparagina em ácido aspártico e amônia. Alguns microrganismos são capazes de sintetizar essa substância, dentre eles, as actinobactérias. Este estudo avaliou as condições ideais para a produção de L- asparaginase a partir do microrganismo *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408, pertencente à Coleção de Cultura de Microrganismos da Universidade Federal de Pernambuco. Foi realizado um ensaio qualitativo pela adição do inóculo padronizado em meio ágar M9 e CZ adicionando vermelho de fenol e L-asparagina. As condições ideais de crescimento foram avaliadas pela produção da enzima em diferentes fontes de carbono (caldo M9 e TGY), tempo de fermentação (24 a 120 horas), o pH (5-9) e temperatura (25 °C a 50 °C). A determinação foi feita pela quantidade de amônia formada pela nesslerização. A análise qualitativa mostrou a produção da enzima por

meio de um halo cor de rosa em torno das colônias. O ensaio quantitativo evidenciou que o meio M9 foi o mais adequado para a produção da L-asparaginase, em um período de 96 horas, na temperatura de 35 °C e no pH 6. A definição das condições ideais de produção da enzima são fatores de grande importância para a produção de L-asparaginase. As actinobactérias isoladas de solo e a raízes das plantas da Caatinga, tem demonstrado uma grande capacidade de produzir diversas enzimas. O estudo destes micro-organismos oriundos do bioma Caatinga é importante devido ao seu alto potencial biotecnológico e possível aplicação dos seus compostos na indústria farmacêutica.

PALAVRAS- CHAVE: Actinobacteria; L-asparaginase; Produção.

ABSTRACT: L-asparaginase is an enzyme used in the treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. It is capable of hydrolyzing L-asparagine into aspartic acid and ammonia. Some microorganisms are able to synthesize this substance, among them the actinobacteria. This study evaluated the ideal conditions for the production of L-asparaginase from the microorganism *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408, belonging to the Collection of Culture of Microorganisms of the Federal University of Pernambuco. A qualitative assay was performed by addition of the standardized inoculum in M9 and CZ agar medium adding phenol red and L-asparagine. The ideal growth conditions were evaluated by the production of the enzyme in different carbon sources (M9 and TGY broth), fermentation time (24 to 120 hours), pH (5-9) and temperature (25 °C to 50 °C). The determination was made by the amount of ammonia formed by nesslerization. The qualitative analysis showed the production of the enzyme by means of a pink halo around the colonies. The quantitative assay showed that the M9 medium was the most suitable for the production of L-asparaginase over a period of 96 hours at a temperature of 35 °C and pH 6. The definition of the optimal conditions of enzyme production are factors of importance for the production of L-asparaginase. Actinobacteria isolated from soil and roots of Caatinga plants have demonstrated a great capacity to produce several enzymes. The study of these microorganisms from the Caatinga biome is important due to its high biotechnological potential and possible application of its compounds in the pharmaceutical industry.

KEYWORDS: Actinobacteria; L-asparaginase; Production.

INTRODUÇÃO

A L-asparaginase (E.C.3.5.1.1) é uma enzima responsável pela catálise da reação de hidrólise do aminoácido L-asparagina resultando em ácido aspártico e amônia, bastante utilizada no tratamento de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) (NARTA et al, 2007). *Escherichia coli* e *Erwinia* (*E. chrysanthemi* e *E. carotovora*) são considerados os principais produtores de L-asparaginase disponível comercialmente, porém outras asparaginases bacterianas do gênero *Erwinia* já foram caracterizadas pela expressão heteróloga da enzima em células de *E. coli*. Os mecanismos de ação e toxicidade são

idênticos nas duas drogas, no entanto, as propriedades farmacocinéticas diferem uma da outra (KRASOTKINA et al, 2004; KOTZIA e LABROU, 2005).

Além das bactérias, a L-asparaginase pode ser isolada de outras diversas fontes como fungos filamentosos e leveduriformes, actinobactérias, vegetais, entre outros. Diversas pesquisas citam que alguns gêneros de fungos como *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, podem ser excelentes produtores de L-asparaginase (DUTTA et al, 2015; TIPPANI e SIVADEVUNI, 2012; SHAFEI et al, 2015). Durante os últimos anos, o estudo de actinobactérias produtoras de L-asparaginase aumentou bastante, principalmente devido a grande busca de micro-organismos que produzam uma enzima com menos efeitos adversos. As actinobactérias representam uma potencial fonte para a produção de L-asparaginase. A produção desta enzima tem sido relatada em *Streptomyces acrimycini*, *Streptomyces ginsengisoli*, *S. olivaceus*, *S. griseus* (SELVAM e VISHNUPRIYA, 2013; DESHPANDE et al, 2014; EL-NAGGAR et al, 2015; MEENA et a 2015a), e *Nocardiopisis alba* (MEENA et al., 2015b).

As actinobactérias pertencem a um grupo de bactérias Gram-positivas que está amplamente distribuído na natureza e representam um elemento de grande importância para a população de micro-organismos do solo, pois produzem metabólitos secundários de forte interesse para a biotecnologia (SILVA-LACERDA et al., 2016).

Estudos afirmam que as actinobactérias também são responsáveis pela produção de várias enzimas extracelulares tais como: celulases, quitinases, proteases e amilases. Estes micro-organismos apresentam saída atraente, podendo ser cultivados em grandes quantidades e em um período de tempo relativamente curto (SILVA et al., 2012). As enzimas são proteínas biocatalisadoras de um enorme repertório de reações químicas, que são essenciais para a quebra de moléculas relacionadas com o crescimento e, consequentemente, com a vida de todos os organismos (HOLLIDAY; MITCHELL; THORNTON, 2009)

A LLA é uma neoplasia maligna de linfócitos, caracterizada pelo acúmulo de células imaturas na medula óssea, sangue periférico e órgãos linfóides (NEHMY et al., 2011). A Leucemia Linfoblástica Aguda é o tipo mais comum de leucemia encontrada na fase infantil, apresentando um pico de incidência entre o segundo e o quinto anos de vida, regredindo nas faixas etárias maiores (PUI, C. H.; RELLING; DOWNING, 2004).

Assim que a enzima L-Asparaginase é injetada na corrente sanguínea do indivíduo que apresenta a doença, as reservas de L-Asparagina, fonte de energia das células cancerosas, são totalmente convertidas em ácido aspártico e amônia. Sem o aminoácido para metabolizar, ocorre a lise das células tumorais, pois devido à um silenciamento gênico estas células não são capazes de sintetizar o aminoácido por si mesmas. Por outro lado, células normais não são afetadas pela ação da enzima, pois, ao contrário das células cancerosas, são capazes de sintetizar o aminoácido para seu desenvolvimento e sobrevivência (NARTA; KANWAR; AZMI, 2007).

Existem diversos micro-organismos produtores de L-Asparaginase e isso gera

uma grande vantagem para a aquisição de enzimas que possam ser de utilidade clínica. Porém, nem todas as L-asparaginases podem ser utilizadas no tratamento da LLA devido à sua elevada citotoxicidade. A padronização das condições de cultivo e produção desta enzima por *S. parvulus* UFPEDA 3408, representa o primeiro passo para um estudo mais aprofundado sobre aplicação deste composto na medicina. Este micro-organismo já tem sido relatado como potencial produtor de compostos antimicrobianos (SILVA-LACERDA et al, 2016). O grande potencial biotecnológico do gênero *Streptomyces*, a importante aplicabilidade dos compostos por ele produzidos, o pouco conhecimento sobre a bioprospecção dos micro-organismos do bioma Caatinga, são fatores que motivaram este estudo. Além disso, é de extrema importância considerar que as condições ambientais extremas desta região representam um ambiente favorável à produção de novas moléculas bioativas, como a enzima L-asparaginase.

OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo determinar os principais parâmetros de produção da enzima L-asparaginase produzido pelo microrganismo *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408, visando a grande importância biotecnológica e econômica da enzima que possui um amplo uso clínico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagem *Streptomyces* e condições de cultivo

Streptomyces parvulus UFPEDA 3408 pertence à Coleção de Cultura de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA - 3408). A linhagem se encontrava preservada em óleo mineral e foi reativada em caldo ISP-2 (International *Streptomyces* Project) (SHIRLING E GOTTLIEB 1966) a 37°C durante 48 horas. Em seguida, a cultura de *Streptomyces* foi transferida para placas com meio ISP-4 ágar e incubadas a 37 °C por 48 a 120 h, para obtenção de culturas frescas para realização dos experimentos.

Ensaio Qualitativo da L-asparaginase

S. parvulus UFPEDA 3408 foi inoculado em placas de Petri contendo 20 mL dos meios de cultura M9 e TGY (GULATI et al., 1997) e, em seguida, foi incubado por 120 horas. Após o período de cultivo foi observada a presença de uma zona rosa ao redor da colônia, que implica na presença da produção da L-asparaginase, configurando dessa forma o ensaio qualitativo.

Produção da L-asparaginase

S. parvulus UFPEDA 3408 foi cultivado em meio M9 líquido [$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 6 g/L;

KH_2PO_4 , 3 g/L; NaCl, 0,5 g/L; L-asparagina, 5 g/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/L; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,014 g/L; Glicose, 2 g/L; H_2O Destilada, 1 L] e no meio TGY [Glicose, 100 g/L; Tiptona, 5 g/L; Extrato de Levedura, 5 g/L; L-asparagina, 4 g/L; H_2O Destilada, 1 L] e a atividade enzimática foi medida após 120 horas de fermentação. Após a determinação do meio de cultivo que permitiu melhor produção da L-asparaginase, iniciou-se os estudos da influência do tempo (24 a 120 horas), temperatura (25 °C a 50 °C) e pH (5 a 9) (figura 1,a). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os valores médios com desvio padrão (SD) foram calculados.

Quantificação da L-asparaginase

Durante cada etapa de fermentação, alíquotas do fermentado foram retiradas e centrifugadas por 20 minutos a 6.160 g, para separação da biomassa do sobrenadante. Em seguida, a atividade da L-asparaginase foi determinada pela quantidade de amônia formada por Nesslerização (IMADA et al, 1973). Uma mistura de 0,5 mL de extrato de enzima (sobrenadante livre de célula), 0,5 mL de Tampão Tris-HCl 0,05 M (pH 8,0) contendo L-asparagina a 16 mM foi incubada por 30 min a 37 °C. A reação foi paralisada pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético 1,5 M, centrifugada a 6.160 g por 3 min e 0,5 mL do sobrenadante foi diluído em 2,25 mL de água destilada e adicionado 0,25 mL do Reagente de Nessler. A leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm. Uma solução de sulfato de amônio foi utilizada para a preparação da reta padrão. Uma unidade internacional (UI) de L-asparaginase foi definida como a quantidade de enzima requerida para liberar 1 μM de amônia por minuto a 37 °C (figura 1, b).

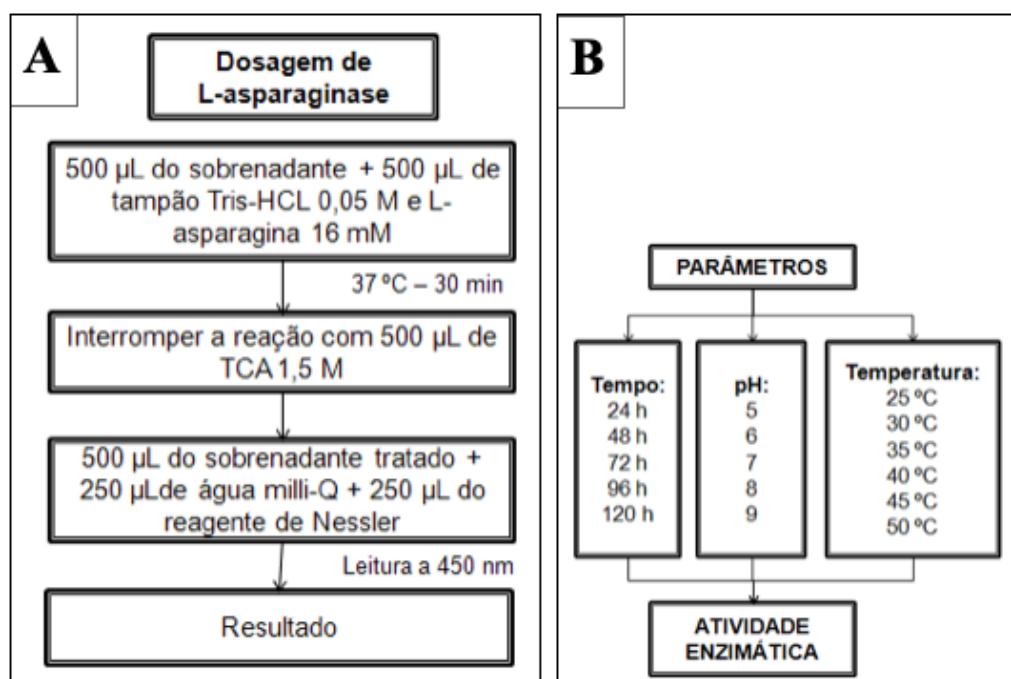


Figura 1: a) Determinação da atividade da L-asparaginase por Nesslerização (Imada et al, 1973) e b) Determinação dos parâmetros de otimização da produção de L-asparaginase por *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408

Análises Estatísticas

As análises estatísticas do experimento foram realizadas utilizando o programa Excel®2010 (Microsoft®).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação das condições ideais para produção da enzima

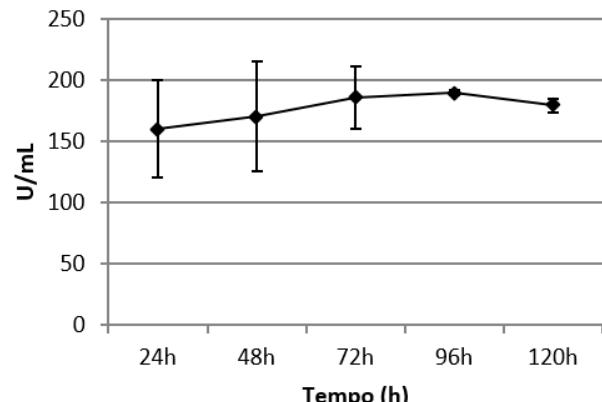
No ensaio qualitativo foi possível observar que *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408 é produtor da enzima L-asparaginase, devido à presença de uma zona rosa ao redor da colônia. De acordo com Gulati et al. (1997), a produção de L asparaginase é seguida de um aumento no pH das culturas evidenciando mudança de coloração confirmado positividade para produção desta enzima através da degradação da L-asparagina e liberação de amônia. Por esse motivo, o Vermelho de Fenol presente no meio de cultura é utilizado como indicador de pH, e permite uma melhor visualização da produção da enzima L-asparaginase em meios suplementado com L-asparagina. Esse indicador em meio ácido apresenta uma coloração amarelada, já em meio alcalino apresenta uma coloração rosa, justificando a mudança da coloração do meio de cultura a partir do cultivo de linhagens que apresentem a produção desta enzima.

Estudos realizados por Narayana et al (2008), constataram que inúmeras linhagens de *Streptomyces* spp. são bons produtores de L-asparaginase com obtenção de uma produção significativa desta enzima. Após a realização deste ensaio, foram feitos os testes para definir as melhores condições de produção da enzima.

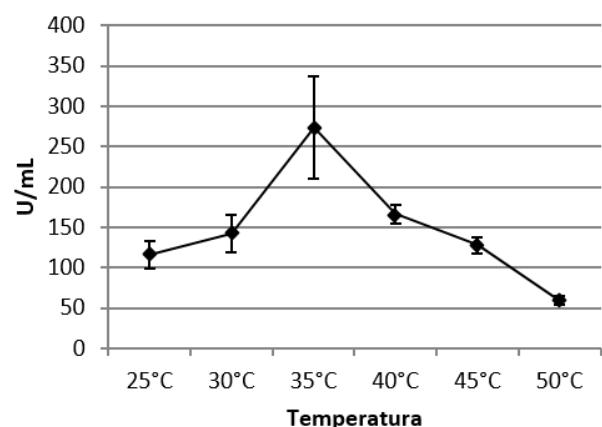
Com a finalidade de determinar as melhores condições para produção da enzima L-asparaginase, alguns parâmetros como meio de cultura, tempo, temperatura e pH foram testados. Foi possível determinar que *S. parvulus* UFPEDA 3408 apresentou melhor atividade enzimática de 101,90 U/mL quando cultivado no meio M-9 e comparado com a atividade enzimática da L-asparaginase no meio TGY (27,11 U/mL). O meio M9 apresentou melhor atividade, provavelmente porque ele possui fontes de carbono em número reduzido, dessa forma confere produção do metabólito bioativo. É comprovado que a pouca disponibilidade de nutrientes em um meio favorece uma maior produção de metabólitos secundários, entretanto causa uma condição de estresse para o micro-organismo. O meio TGY disponibiliza o dobro da concentração de glicose, propiciando apenas o crescimento do micro-organismo, em contrapartida, exibe uma menor produção do metabólito. (SILVA-LACERDA et al., 2016).

O tempo ideal foi de 96 h de fermentação, apresentando um pico de 189,91 U/mL. Dentre as temperaturas que foram testadas (25 °C a 50°C), a temperatura de 35°C apresentou melhor atividade com resultados que chegaram a 273,82 U/mL. O último parâmetro a ser testado foi o pH que variou entre 5 e 9, sendo o pH 6 o que

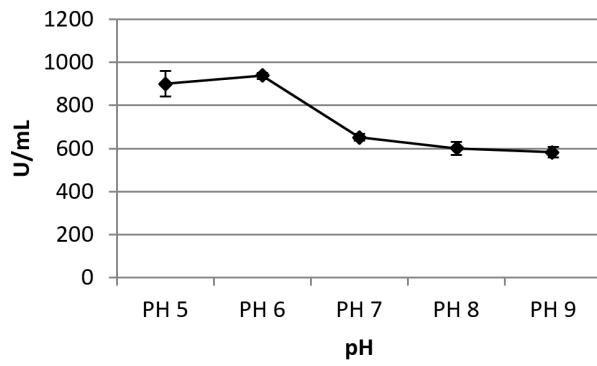
mais se destacou como a melhor condição para a produção da enzima, com atividade enzimática de 937,18 U/mL.



(a)



(b)



(c)

Figura 2: Parâmetros avaliados para determinação das melhores condições de produção da enzima L-asparaginase por *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408. (a) tempo de fermentação, (b) temperatura de incubação e (c) pH.

De acordo com os resultados demonstrados no gráfico em relação às temperaturas testadas (25 °C a 50 °C), é possível observar uma melhor atividade na temperatura de 35 °C mostrando um pico de atividade que chegou a 273,82 U/mL (figura 2, b). A enzima se mostrou efetiva nesta temperatura (35 °C), pois se aproximou da temperatura corporal. Foi observado que com o aumento da temperatura a produção enzimática decaiu, entretanto, ainda sim foi possível perceber produção enzimática. Narayana

et al. (2008) e Meena et al. (2015) apresentaram resultados semelhantes utilizando linhagens de *Streptomyces* evidenciando produção máxima de asparaginase entre 30-35 °C.

No presente estudo foi também verificado que a atividade máxima da L-asparaginase produzida pelo *S. parvulus* UFPEDA 3408 foi de 937,18 U/mL nas condições ideais ajustadas (figura 2, c). Este valor foi consideravelmente superior do que o relatado por Dias et al. (2016) no estudo usando *A. oryzae* como produtor da enzima, onde foi obtido um valor de 67.49 U/mL. Em comparação, a actinobactéria *S. parvulus* se sobressaiu para produção da enzima quanto ao fungo. A condições ideais de produção da enzima pelo *A. oryzae* foi melhor com 72h de fermentação e pH (8,0). No entanto, neste mesmo tempo de fermentação, *S. parvulus* já apresentava-se capaz de produzir 186,05 U/mL de L-asparaginase.

O microrganismo *S. parvulus* também apresentou destaque na produção de L-asparaginase quando comparada com bactérias produtoras, como a *Pseudomonas aeruginosa* relatada por Badoei-Dalfard (2015), que também obteve ótimos resultados, chegando a um pico de 785 U/ml. É importante ressaltar que ambos os estudos foram realizados utilizando condições semelhantes, inclusive o mesmo meio de cultura. Estudos realizados por Narayana et al (2008), constataram que inúmeras linhagens de *Streptomyces* spp. são bons produtores de L-asparaginase com obtenção de uma produção significativa desta enzima.

A otimização dos parâmetros nutricionais e metabólicos para cultivo de micro-organismos é uma importante estratégia para a produção não apenas de enzimas, mas de uma gama de metabólitos secundários (KHALILZADEH et al, 2004). Os fatores ambientais, tais como o pH, e fontes de carbono e de hidrogênio, tempo e temperatura, podem ter efeitos profundos sobre o início de desenvolvimento dos micro-organismos, e assim, a composição do meio deve ser considerada com muito cuidado no que diz respeito à produção de metabólitos (BARKA et al., 2016).

CONCLUSÃO

No presente estudo, o micro-organismo foi avaliado em condições diferentes onde foi possível determinar os principais parâmetros da produção da enzima L-asparaginase. Após ser cultivado em diferentes meios de cultura, temperatura, pH e tempo, foi visto que o micro-organismo apresenta um grande potencial biotecnológico, pois apresenta uma eleva da produção da enzima. A adequação dos parâmetros de produção da enzima representa um processo viável e de grande importância para obtenção de compostos altamente bioativos e com aplicabilidade clínica. Para que esta aplicabilidade seja possível, estudos complementares com L-asparaginase produzida por *S. parvulus* UFPEDA 3408 serão iniciados após a purificação da enzima.

REFERÊNCIAS

- ANZAI, K.; NAKASHIMA, T.; KUWAHARA, N.; SUZUKI, R., OHFUKU, Y., TAKESHITA, S., ANDO, K. Actinomycete bactéria isolated from the sediments at coastal and offshore area of Nagasaki prefecture, Japan: diversity and biological activity. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 106, p. 215-217, 2008.
- BADDEI-DALFARD, A. Purification and characterization of L-asparaginase from *Pseudomonas aeruginosa* strain SN004: Production optimization by statistical methods. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 4(3), p 388–397, 2015.
- BARKA, E.A.; VATSA, P.; SANCHEZ, L.; GAVEAU-VAILLANT, A.N.; JACQUARD, C.; KLENK, H.P.; CLÉMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; WEZEL, G.P.V. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. V. 80 (1), p. 1-43, 2016.
- DESHPANDE, N.; CHOUBEY, P.; AGASHE, M. Studies on Optimization of Growth Parameters for L-Asparaginase Production by *Streptomyces ginsengisoli*. **ScientificWorldJournal**. 895167, 2014;
- DIAS, F.F.G.; SATO, H.H. Sequential optimization strategy for maximum L-asparaginase production from *Aspergillus oryzae* CCT 3940 **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v.6, p. 33–39, 2016.
- DUTTA, S.; GHOSH, S.; PRAMANIK, S. L-Asparaginase and L-glutaminase from *Aspergillus fumigatus* WL002: Production and Some Physicochemical Properties. **Appl Biochem Micro+**. 51(4): 425–431, 2015.
- EL-NAGGAR, N.E.; MOAWAD, H.; EL-SHWEIHY, N.M.; EL-EWASY, S.M. Optimization of Culture Conditions for Production of the Anti-Leukemic Glutaminase Free L-Asparaginase by Newly Isolated *Streptomyces olivaceus* NEAE-119 Using Response Surface Methodology. **Biomed Res Int**. 627031, 2015.
- GULATI, R.; SAXENA, R.K.; GUPTA, R. A rapid plate assay for screening L-asparaginase producing micro-organisms. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 24, p. 23-26, 1997.
- HOLLIDAY, G. L.; MITCHELL, J. B. O.; THORNTON, J. M. Understanding the functional roles of amino acid residues in enzyme catalysis. **Journal of Molecular Biology**, v. 390, p. 560-577, 2009.
- IMADA, A.; IGARASI, S.; NAKAHAMA, K.; ISONO, M. Asparaginase and Glutaminase Activities of Micro-organisms. **Journal of general microbiology**. 1973; 76:85-99.
- KHALILZADEH, R.; SHOJAOSADATI, S.A.; MAGHSOUDI, N.; MOHAMMADIAN-MOSAABADI, J.; MOHAMMADI, M.R.; BAHRAMI, A.; MALEKSABET, N.; NASSIRI-KHALILLI, M.A.; EBRAHIMI, M.; NADERIMANESH, H. Process development for production of recombinant human interferon-gamma expressed in *Escherichia coli*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. v.31(2), p. 63-69, 2004.
- KOTZIA, G.A.; LABROU, N.E. Cloning, expression and characterisation of *Erwinia carotovora* L-asparaginase. **J Biotechnol**. 119(4): 309-323, 2005.
- KRASOTKINA, J.; BORISOVA, A.A.; GERVAZIEV, Y.V.; SOKOLOV, N.N. One-step purification and kinetic properties of the recombinant L-asparaginase from *Erwinia carotovora*. **Biotechnol. Appl. Biochem.** 39(2): 215-221, 2004.
- MEENA, B.; ANBURAJAN, L.; DHEENAN, P.S.; BEGUM, M.; VINITHKUMAR N.V.; DHARANI, G.; KIRUBAGARAN, R. Novel glutaminase free L-asparaginase from *Nocardiopsis alba* NIOT-VKMA08: production, optimization, functional and molecular characterization. **Bioprocess Biosyst Eng**. 38:373–388, 2015b.

MEENA, B.; ANBURAJAN, L.; SATHISH, T.; RAGHAVAN, R.V.; DHARANI, G.; VINITHKUMAR, N. V.; KIRUBAGARAN, R. L-Asparaginase from *Streptomyces griseus* NIOT-VKMA29: optimization of process variables using factorial designs and molecular characterization of l-asparaginase gene. **Sci Rep.** 24(5): 12404, 2015a.

NARAYANA, K.J.P.; KUMAR, K.G.; VIJAYALAKSHMI, M.; L-asparaginase production by *Streptomyces albidoflavus*. **Indian. J. Microbiol.** v.48, p.331–336, 2008.

NARTA, K.; KANWAR, S. S.; AZMI, W. Pharmacological and clinical evaluation of l-asparaginase in the treatment of leukemia. **MeSH Critical Reviews in Oncology/Hematology**. v.61, p. 208–221, 2007.

NEHMY, R., et al. A perspectiva dos pais sobre a obtenção do diagnóstico de leucemia linfóide aguda em crianças e adolescentes: uma experiência no Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materna Infantil**, 11(3), p. 293-299, 2011.

PUI, C. H.; RELLING, M. V.; DOWNING, J. R. Acute Lymphoblastic Leukemia. **The new england journal of medicine**, v. 350 (15), p. 1535-1548, 2004.

SELVAM, K.; VISHNUPRIYA, B. Partial purification and cytotoxic activity of L-asparaginase from *Streptomyces acrimycini* NGP. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**. 4(3): 859-869, 2013.

SHAFEI, M.N.; EL-REFAI, H.A.; MOSTAFA, H.; EL-REFAI, A.H.; EL-BEIH, F.M.; EASA, S.M.; GOMAA, S.K. Purification, Characterization and Kinetic Properties of *Penicillium cyclopium* L-Asparaginase: Impact of L-asparaginase on Acrylamide Content in Potato Products and its Cytotoxic Activity. **Curr Trends Biotechnol Pharm.** 9(2): 132-140, 2015.

SHIRLING, E.B.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. **International journal of systematic bacteriology**. V. 16, p. 313-340, 1966.

SILVA, K., CASSETARI, A. S, LIMA, A. S, BRANDT, E., PINNOCK, E., VANDAMME, P., MOREIRA, F. M. S. Diazotrophic Burkholderia species isolated from the Amazon region exhibit phenotypical, functional and genetic diversity. **Systematic and Applied Microbiology**, v.35, p.253-262, 2012.

SILVA-LACERDA, G.R. ; SANTANA, R.C.F. ; VICALVI-COSTA, M.C.V. ; SOLIDÔNIO, E.G.; SENA, K.X.F.R.; LIMA, G.M.S.; ARAÚJO, J.M. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Genetics and Molecular Research**. v.15 (1), p 1-12, 2016.

TIPPANI, R.; SIVADEVUNI, G. Nutritional factors effecting the production of L-asparaginase by the *Fusarium* sp. **Afr J Biotechnol.** 11(15): 3692-3696 2012.

IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE DE *Botryosphaeria ribis* EC-01 EM RESÍDUO TÊXTIL

Jéssica Borges de Oliveira

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Rafael Block Samulewski

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Josana Maria Messias

Universidade de São Paulo, FFCLRP,
Departamento de Química
Ribeirão Preto – São Paulo

Aline Thaís Bruni

Universidade de São Paulo, FFCLRP,
Departamento de Química
Ribeirão Preto – São Paulo

Aneli M. Barbosa-Dekker

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Química
Londrina – Paraná

Robert F. H. Dekker

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Programa de Pós Graduação em Engenharia
Ambiental
Londrina – Paraná

Milena Martins Andrade

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

RESUMO: Atualmente as lipases apresentam amplas aplicações em diversos setores industriais. Entretanto, a aplicação destas enzimas ainda tem sido desfavorecida devido ao seu custo elevado. Portanto, pesquisas estão em desenvolvimento objetivando-se viabilizar economicamente o emprego de lipases em diferentes processos. Este trabalho objetivou desenvolver um biocatalisador de baixo custo immobilizado em resíduo têxtil. A lipase foi produzida pelo fungo *Botryosphaeria ribis* EC-01, sob fermentação submersa, utilizando-se torta de soja em condição previamente otimizada. Em seguida, a lipase foi parcialmente purificada por precipitação com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (20 %, m/v), immobilizada em resíduo têxtil utilizando-se um planejamento fatorial 2^2 . A pré-purificação demonstrou ter sido eficiente visto que a atividade específica passou de 154 para 383 U/mg. A máxima atividade de lipase immobilizada obtida foi 46,8 U/g_{TE} quando as variáveis tempo e temperatura foram 90 min e 18 °C, respectivamente. O modelo utilizado, embora não tenha sido conclusivo, foi útil para direcionar futuros experimentos.

PALAVRAS-CHAVE: torta de soja; fermentação submersa; adsorção.

ABSTRACT: Currently lipases have wide applications in several industrial sectors. The application of these enzymes, however, has still

been disadvantaged due to their high costs. Therefore, research is under development aiming to make economically feasible the use of lipases in different processes. The objective of this work was to develop a low cost biocatalyst immobilized on textile waste. Lipase was produced by the fungus, *Botryosphaeria ribis* EC-01, by submerged fermentation using soybean cake under conditions previously optimized. Lipase was partially purified by precipitation with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (20%, w/v), and immobilized on textile waste using a statistical factorial design². Partial purification was efficient as the specific activity increased from 154 to 383 U/mg, and this significantly increased the enzyme loaded onto the support. Maximum lipase activity obtained on immobilization was 46.8 U/g_{TE} with time (90 min) and temperature (18 °C), as the most important variables. The model used, although not conclusive, was useful to direct future experiments.

KEYWORDS: soybean cake; submerged fermentation; adsorption

1 | INTRODUÇÃO

As lipases (EC 3.1.1.3; triacilglicerol acilhidrolases) têm se destacado entre as enzimas mais utilizadas industrialmente. Possuem alta capacidade catalítica em reações de hidrólise, interesterificação, transesterificação, aminólises, entre outras. Estas hidrolases são sintetizadas por plantas, animais e micro-organismos e a principal aplicação comercial tem sido em detergentes. As lipases também têm sido aplicadas na produção de biodiesel, cosméticos, ingredientes alimentares e fármacos enantioméricos, entre outras (SHARMA et al., 2001; JAEGER; EGGERT, 2004).

A utilização das lipases como biocatalisadores em alguns processos ainda é desfavorecida pelo seu custo elevado. Portanto, estratégias para contornar este inconveniente, como o uso de resíduos agroindustriais como substratos indutores para a produção de lipases têm sido empregadas. A torta de soja, por exemplo, é uma excelente fonte de nutrientes para o cultivo de micro-organismos e produção de lipases, pois pode conter até 50% de proteína, juntamente com carboidratos e lipídeos residuais (BARBOSA et al., 2011; RAMACHANDRAN et al., 2007).

A otimização da produção de lipase pelo fungo ascomiceto *B. ribis* EC-01 foi descrita utilizando-se planejamento fatorial e análise por metodologia de superfície de resposta. Altos títulos de lipase foram obtidos na condição otimizada ($76,57 \pm 7,97$ U/mL) utilizando-se torta de soja como substrato e glicerol, em água destilada. O custo de produção baseando-se nos nutrientes utilizados foi de apenas US \$ 0,42 por litro de meio de cultivo (ANDRADE et al., 2013). Outra alternativa para diminuir o custo da aplicação de lipase é imobilizá-la em suportes baratos como resíduo têxtil. No Brasil, a geração destes resíduos é estimada em 175 mil toneladas/ano e somente 36 mil toneladas são reaproveitados na produção de barbantes, novas peças de roupas e fios (ALENCAR et al., 2015).

O método de imobilização mais usado é a adsorção, pela facilidade e baixo custo. A imobilização de enzimas possibilita a fácil separação dos produtos, muitas

vezes a manutenção da atividade e aumento da estabilidade, além de proporcionar a reutilização da enzima (DALLA-VECCHIA et al., 2004; CHANG et al., 2007; JEGANNATHAN et al., 2008). Portanto, este trabalho objetivou produzir lipase por *B. ribis* EC-01, sob fermentação submersa utilizando-se torta de soja como substrato e imobilizá-la em resíduo têxtil utilizando um planejamento fatorial 2² para futuro uso como um biocatalisador.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

A torta de soja foi doada pela IMCOPA Importação, Exportação e Indústria de Óleos S.A (Cambé-PR). Palmitato de *p*-nitrofenila (*p*-NPP) foi adquirido de Sigma-Aldrich (EUA). Os resíduos têxteis foram provenientes dos Laboratórios de Pesquisa e Desenvolvimento e de Produção do Vestuário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Apucarana.

2.2 Produção do inóculo e obtenção das lipases

O micro-organismo utilizado foi o *Botryosphaeria ribis* EC-01 (GenBank Accession Number DQ852308) que foi mantido em BDA inclinado a 4 °C e repicado trimestralmente. *B. ribis* EC-01 foi transferido do meio de manutenção para placas de Petri contendo meio mínimo de Vogel (1956), glucose 1% (m/v) e ágar 2 % (m/v) que foram incubadas à 28 ± 2 °C por 5 dias. Esferas de 0,7 cm de diâmetro foram cortadas e inoculadas em frascos de Erlenmeyer de 125 mL com 25 mL de meio otimizado por Andrade et al. (2013) composto por 2,4 % (m/v) de torta de soja e 4,5 % (v/v) de glicerol PA. Os cultivos foram mantidos sob agitação, em agitador orbital do tipo “shaker” a 180 rpm por 5 dias a 28 °C. Os cultivos foram interrompidos por centrifugação a 5000 rpm durante 15 min. E os sobrenadantes foram filtrados e coletados em frascos em banho de gelo. Os extratos brutos, livres de células, foram parcialmente purificados por precipitação com (NH₄)₂SO₄ (20 %, m/v), dialisados e armazenados a 4 °C.

2.3 Imobilização de lipases

A imobilização da lipase produzida foi realizada em resíduos têxteis (TE) pelo método de adsorção. O suporte (50 mg) foi deixado em contato com 5 mL de solução enzimática em tampão fosfato (37 U/mL) a 150 rpm de acordo com planejamento fatorial 2² (7 experimentos), avaliando-se temperaturas, de 18 a 32 °C, e tempo de contato, de 90 a 300 min. Após este procedimento, o imobilizado foi lavado duas vezes com tampão fosfato pH 8,0 (0,2 M), e água destilada. A atividade enzimática foi determinada no derivado e no sobrenadante.

2.4 Determinação da atividade de lipase e determinação da concentração de proteínas

As atividades das lipases livres e imobilizadas foram determinadas espectrofotometricamente, utilizando-se *p*-NPP como substrato, em pH 8,0, 55 °C, 2 min e 410 nm (MESSIAS et al., 2009). A unidade de atividade de lipase foi definida como a quantidade de enzima em mL que libera de 1 µmol de *p*-NPP por minuto nas condições de ensaio acima descritas. A concentração de proteínas extracelulares foi determinada pelo método de Bradford (1976).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de lipases por *Botryosphaeria ribis* EC-01

A produção de lipases foi desenvolvida nas condições previamente otimizadas e descritas por Andrade et al. (2013), ou seja, 2,4 % (m/v) de torta de soja e 4,5 % (v/v) de glicerol PA. A Tabela 1 mostra os resultados da atividade de lipase obtidas antes e após a purificação parcial com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e também após a diálise contra água deionizada.

Amostra	U/mL	U/mg
Lipase antes da purificação parcial	47,6 ± 1,63	154 ± 5,29
Lipase após a purificação parcial (20%, m/v $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	85,0 ± 4,66	231 ± 12,7
Lipase após a purificação parcial e diálise contra água deionizada	133 ± 0,05	383 ± 4,31

Tabela 1 - Atividade enzimática antes e após a purificação parcial

Após a adição de 20 % (m/v) de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a atividade enzimática passou de 47,6 para 85,0 U/mL, revelando que a lipase foi precipitada. Após a diálise, a atividade enzimática aumentou (133 U/mL), indicando a eliminação de compostos químicos que promoviam diminuição parcial da atividade enzimática. A eficiência do processo foi confirmada com a dosagem das proteínas extracelulares: a atividade específica passou de 154 U/mg no extrato bruto inicial para 383 U/mg ao final do processo, ou seja, seu valor quase triplicou pela eliminação de outras proteínas pela precipitação com o $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, bem como outros interferentes presentes antes da diálise. Uma solução desta enzima (37,5 U/mL) foi utilizada para posterior imobilização nos suportes produzidos.

3.2 Imobilização de lipases

A imobilização da lipase de *B. ribis* EC-01 em TE foi estudada utilizando-se um planejamento estatístico. A Tabela 2 apresenta os níveis e os ensaios experimentais

do delineamento factorial (2^2) e a variável dependente avaliada, a atividade da enzima imobilizada ($\text{U/g}_{\text{suporte}}$).

Experimentos	Variáveis codificadas		Respostas
	X_1	X_2	U/g_{TE}
1	-1	-1	46,8
2	-1	1	40,3
3	1	-1	31,8
4	1	1	38,3
5	0	0	38,5
6	0	0	33,7
7	0	0	39,1

Fatores	Níveis reais		
-1	-1	0	1
X_1 (tempo, min)	90	195	300
X_2 (temperatura, °C)	18	25	32

Tabela 2 - Imobilização de lipases de *Botryosphaeria ribis* EC-01 em resíduo têxtil

Houve variação de 31,8 a 46,8 U/g_{TE} dependendo do tempo e da temperatura empregados. A atividade máxima (46,8 U/g_{TE}) foi alcançada quando os fatores tempo (X_1) e temperatura (X_2) foram de 90 minutos e 18 °C, respectivamente.

De acordo com o modelo linear ou de 1^a ordem, menores tempos de reação melhoraram a atividade de lipase imobilizada em TE ($p \leq 0,1$). O valor de $R^2 = 0,82$ e $F_{\text{cal}} > F_{\text{tab}}$ ($22,44 > 4,06$) obtidos mostraram que o modelo é confiável e estatisticamente significativo ($p \leq 0,1$). A equação preditiva (1) é mostrada abaixo, onde os termos significativos estão em negrito:

$$\text{U/g de suporte} = \mathbf{38,36} - \mathbf{4,26} x_1 + 0,01 x_2 + 3,24 x_1 \cdot x_2 \quad (1)$$

4 | CONCLUSÕES

A purificação parcial da lipase de *B. ribis* EC-01 com 20% (m/v) de sulfato de amônio foi eficiente visto que sua atividade específica passou de 154 para 383 U/mg. A imobilização de lipases em resíduo têxtil alcançou máximo de atividade em 46,8 U/g_{TE} quando o tempo e a temperatura foram de 90 min e 18 °C; porém, este modelo não é conclusivo, apenas indicativo para novos experimentos.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, J. L. S.; SIMONI, J. H.; FIORELLI, M. N.; LINK, P. P.; DE ANGELIS NETO, G. Os efeitos socioambientais causados pelos resíduos sólidos das indústrias de confecções do polo moda de Maringá – PR. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, p. 478-504, 2015.

ANDRADE, M. M.; BARBOSA A. M.; BOFINGER, M. R.; DEKKER R. F. H.; MESSIAS, J. M.; GUEDES, C. L. B. et al.; Lipase production by *Botryosphaeria ribis* EC-01 on soybean and castorbean meals: optimization. Immobilization and application for biodiesel production. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 170, p. 1792-1806, 2013.

BARBOSA, A.M.; MESSIAS, J.M.; ANDRADE, M. M.; DEKKER, R.F.H.; VENKATESAGOWDA, B. Soybean oil and meal as substrates for lipase production by *Botryosphaeria ribis*, and soybean oil to enhance the production of Botryosphaeran by *Botryosphaeria rhodina*. In: **Soybean, Biochemistry, Chemistry and Physiology**. p. 101-118, Tzi Bun Ng, Intech, Rijeka, Croatia, 2011.

CHANG, S.-F.; CHANG, S.-W.; YEN, Y.-H.; SHIEH, C.-J. Optimum immobilization of *Candida rugosa* lipase on Celite by RSM. **Applied Clay Science**, v. 37, p. 67-73, 2007.

DALLA-VECCHIA, R.; NASCIMENTO, M. G.; SOLDI, V. Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 623-630, 2004.

JAEGER, K.; EGGERT, T. Enantioselective biocatalysis optimized by directed evolution. **Current Opinion in Biotechnology**, v.15, p.305–313, 2014.

JEGANNATHAN, K. R.; ABANG, S.; PONCELET, D.; CHAN, E. S.; RAVINDRA, P. Production of Biodiesel Using Immobilized Lipase-A Critical Review. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 28, p. 253-264, 2008.

MESSIAS, J. M.; COSTA, B. Z.; LIMA, V. M. G; DEKKER, R .F. H.; REZENDE, M. I.; KRIEGER, N.; BARBOSA, A. M. Screening *Botryosphaeria* species for lipases: Production of lipase by *Botryosphaeria ribis* EC-01 grown on soybean oil and other carbon sources. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, p. 426-431, 2009.

RAMACHANDRAN, S.; SINGH, S.; LARROCHE, C.; SOCCOL, C.R.; PANDEY, A. Oil cakes and their biotechnological applications – A review. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2000-2009, 2007.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U.C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v.19, p.627-662, 2001.

IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES EM ZEÓLITA A OBTIDAS A PARTIR DA CINZA DE BIOMASSA DA BANANEIRA

Orlando Baron

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Universidade Estadual de Maringá, Departamento
de Química
Maringá – Paraná

Eduardo Radovanovic

Universidade Estadual de Maringá, Departamento
de Química
Maringá – Paraná

Silvia Luciana Favaro

Universidade Estadual de Maringá, Departamento
de Engenharia Mecânica
Maringá – Paraná

Murilo Pereira Moisés

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Nadia Krieger

Universidade Federal do Paraná, Departamento
de Química
Curitiba – Paraná

Alessandra Machado Baron

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

RESUMO: Lipases de *Burkholderia cepacia* LTEB11 foram imobilizadas em zeólita A

(Zeo) obtidas a partir de cinzas de folha de bananeira e aplicadas em reações de hidrólise e esterificação. Os resultados mostraram que a eficiência de imobilização (E) foi maior para a imobilização a pH 7 (79,6%). A enzima apresentou ativação após a imobilização (reações de hidrólise do pNPP) sendo maior para o pH 8 (R 317%) em relação ao pH 7 (R 184%). O rendimento em éster para a síntese do oleato de etila (em n-heptanol) em 6 horas foi de 95%; 54,5% e 25% para a enzima livre, enzima imobilizada em solução tampão fosfato pH 8 e pH 7, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: lipases, imobilização, zeólita A, biocatálise.

ABSTRACT: *Burkholderia cepacia* LTEB11 lipases were immobilized on zeolite A (Zeo) obtained from banana leaves ash and applied in hydrolysis and esterification reactions. The results showed that the immobilization efficiency (E) was higher for immobilization at pH 7 (79.6%). The enzyme showed activation after immobilization (hydrolysis reactions of pNPP) being higher for pH 8 (R 317%) than pH 7 (R 184%). The ester yield for the synthesis of ethyl oleate (in n-heptanol) in 6 hours was 95%; 54.5% and 25% for the free enzyme, immobilized enzyme in phosphate buffer pH 8 and pH 7, respectively.

KEYWORDS: lipases, immobilization, zeolite A,

biocatalysis.

1 | INTRODUÇÃO

Lipases (EC 3.1.1.3) têm grande aplicação porque são enzimas que catalisam inúmeras reações, entre as quais a hidrólise e síntese (*in vitro* e em um ambiente aquo-restrito) de ésteres, interesterificação e aminólise (DUARTE et al., 2016). O custo de produção e a manutenção da estabilidade estrutural do catalisador, durante uma reação química, limitam a utilização destes biocatalisadores. Dessa forma, a imobilização é uma alternativa para minimizar estes inconvenientes (DATTA; CHRISTENA; RAJARAM, 2013).

Diferentes suportes podem ser empregados para imobilização de enzimas, dentre eles as zeólicas (VASCONCELLOS et. al, 2012). Algumas vantagens na utilização de zeólicas como suporte para imobilização de enzimas são: grande área específica, interações eletrostáticas e troca de íons, alta resistência química e mecânica, facilidade de dispersão e recuperação (SCHERER, 2010).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi imobilizar lipases de *B. cepacia* LTEB11 em zeólica A obtidas a partir das cinzas de biomassa (folhas) de bananeira e utilizar a enzima imobilizada em reações de esterificação.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

A lipase de *Burkholderia cepacia* LTEB11 (32 kDa, cedida pelo Laboratório de Tecnologia Enzimática e Biocatálise da UFPR) foi imobilizada por adsorção em zeólica A (obtida e caracterizada no LMSEN, UEM), conforme o método proposto por Al-Duri e Yong (1999) adaptado.

A atividade enzimática foi medida através da hidrólise do palmitato de p-nitrofenila (*p*NPP) (WINKLER; STUCKMANN, 1979). A partir das Equações 1 e 2, foram calculados os parâmetros E (Eficiência da imobilização) e R (Retenção da atividade) (YADAV; JADHAV, 2005; BON et al., 1986):

$$E = \frac{(At_i - At_f) \cdot 100}{At_i} \quad (1)$$

$$R = \frac{A_o \cdot 100}{A_T} \quad (2)$$

Sendo: At_i : atividade inicial total de hidrólise do *p*NPP, antes da imobilização (U); At_f : atividade final total de hidrólise do *p*NPP no sobrenadante após a imobilização (U); A_o : atividade observada (real) da enzima imobilizada (U g⁻¹ do suporte); A_T : atividade

teórica da enzima imobilizada (U g^{-1} do suporte). U: unidades totais de atividade (mmols do produto min^{-1}).

Estudou-se a esterificação do oleato de etila em dois sistemas reacionais: (1) n-heptano e (2) livre de solvente. Em (1) utilizou-se erlenmeyers de 25 mL com 5 mL de n-heptano, 116 μL de ácido oleico (70 mmol.L^{-1}), 62 μL de etanol (210 mmol.L^{-1}), 6 h em ultrassom (Cristófoli, 42 kHz, 50°C; ciclo com taxa de 80%). Para a síntese em sistema livre de solvente, utilizou-se 5 mL de etanol e as mesmas condições citadas anteriormente. Três preparações enzimáticas foram testadas: enzima livre (lioofilizada), imobilizada a pH 7 e pH 8.

Para comparar a reação onde se empregou a enzima livre e imobilizada, adicionou-se certa quantidade da enzima, de forma que, a atividade enzimática para os dois tipos de amostras fosse equivalente (30 U.mL^{-1} do meio reacional). As reações foram acompanhadas retirando-se alíquotas de 200 mL em diferentes intervalos de tempo por 6 h. A determinação do rendimento em éster (%) foi feita pelo método de Lowry-Tinsley (1976). As reações foram feitas em duplicita.

Alguns controles foram realizados (reação de hidrólise e esterificação): (1) meio reacional sem enzima e (2) meio reacional com suporte sem a enzima. Os controles foram negativos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficiência da imobilização (E) foi maior quando a enzima foi imobilizada em pH 7 (79,6%). Entretanto, houve maior retenção de atividade (R) quando a enzima foi imobilizada em pH 8, e para as duas condições estudadas, R foi maior que 100% (pH 7 e 8), indicando ativação da enzima (Tabela 1).

O processo de imobilização por adsorção física depende do pH da solução enzimática, uma vez que a alteração do pH modifica as cargas da proteína: em geral, quando a carga líquida da proteína é pequena, a repulsão eletrostática entre as moléculas é minimizada e a eficiência da imobilização aumenta (CAI et al., 2016; ABDALLAH et al., 2014). Além disso, há a possibilidade de mudança conformacional da enzima em função do pH, que pode alterar a adsorção da enzima no suporte e sua atividade após a imobilização.

A maior retenção de atividade para a enzima imobilizada a pH 8 pode estar associada a menor quantidade de enzima depositada no suporte, ou seja, a adsorção ocorreria de forma mais ordenada, evitando a formação de agregados enzimáticos e minimizando os efeitos difusionais (KARIMPIL; MELO; SOUZA, 2012).

Zeórita	E (%) ^a	$A_t(\text{U.mg}^{-1})$	$A_o(\text{U.mg}^{-1})$	R (%) ^b
pH 7	79,6	0,56	1,03 \pm 0,05	184
pH 8	48,3	0,22	0,70 \pm 0,02	318

Tabela 1. Eficiência da imobilização e retenção da atividade em meio aquoso da lipase de

Burkholderia cepacia LTEB11 imobilizada em zeólita A.

A) Eficiência (E) (%) – Equação 1. Ensaios realizados em duplicita. b) Retenção (R) – Equação 2. c) Atividade determinada pelo método da hidrólise do pNPP em meio aquoso. Ensaios realizados em triplicata.

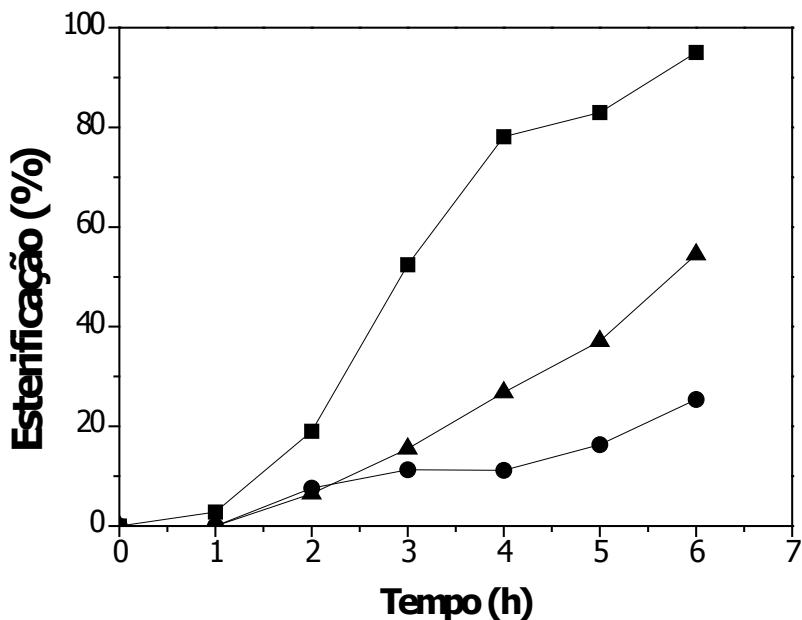


Figura 1. Síntese do oleato de etila (0,35 mmol ácido oleico) catalisada pela lipase de *Burkholderia cepacia* LTEB11 em reação assistida por ultrassom (40 kHz) a 50 °C. Condições: *n*-heptano (5 mL), 1,05 mmol de etanol, (RM 1:3); (■) enzima livre (125 mg); ZeoE em pH 8 (▲) (215 mg); em pH 7 (●) (145 mg). Reações em duplicata.

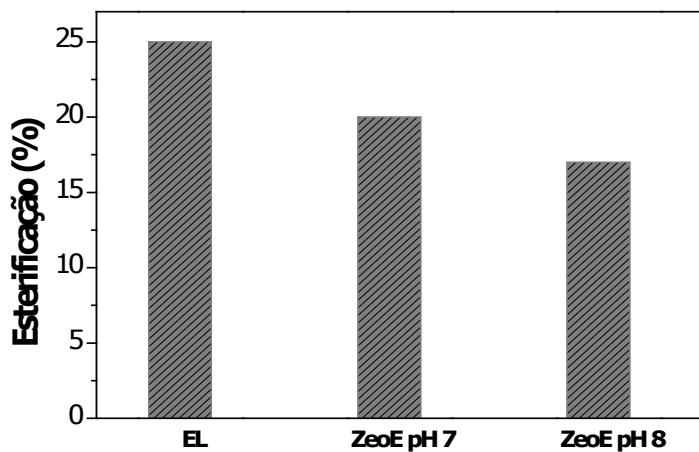


Figura 2. Síntese do oleato de etila (0,35 mmol ácido oleico) catalisada pela lipase de *Burkholderia cepacia* LTEB11 em reação assistida por ultrassom (40 kHz) a 50 °C. Condições: 5 mL de etanol (EL) enzima livre; (ZeoE) enzima imobilizada na zeólita em pH 7 e 8; 150 U em cada reação (atividade de hidrólise em pNPP aquoso). Reações em duplicata.

A eficiência catalítica da lipase de *B. cepacia* LTEB11 imobilizada na zeólita A para as reações de esterificação do oleato de etila contendo o *n*-heptano e etanol como meio reacional mostraram que, para o primeiro caso, (Figura 1), foi obtida uma conversão de 95% em éster (6 h) para a enzima livre, seguido da ZeoE a pH 8 (54,5%, 6h). Este resultado pode ser explicado por ocorrência de mudanças conformacionais

da enzima pela presença do solvente hidrofóbico (LIU et al., 2010).

Quando o co-solvente foi eliminado do meio reacional as conversões em éster foram de 25%, 20,2% e 17% (5 h de reação), para a EL, ZeoE pH 7 e ZeoE pH 8, respectivamente (Figura 2). A cinética foi acompanhada durante 6 h, porém, a produção de éster foi observada somente a partir de 5 h e manteve-se constante. A interação direta do solvente com a água essencial em torno da molécula da enzima é capaz de retirar a camada de hidratação da enzima, provocando a perda ou a diminuição das propriedades catalíticas por inativação ou desnaturação (VERDASCO-MARTÍN et al., 2016; SAMUKAWA et al., 2000).

4 | CONCLUSÕES

Este trabalho procurou contribuir com o gerenciamento eco-amigável de resíduos sólidos (cinzas das folhas da bananeira) agregando valor ao imobilizar lipases de *B.cepacia* em zeólita A. Os resultados mostraram que a retenção da atividade foi superior a 100% e apesar da enzima imobilizada ter apresentado eficiência catalítica em meio orgânico inferior à enzima livre, estudos de reutilização e estabilidade da enzima imobilizada podem justificar a utilização da Zeo A como um suporte para imobilização de lipases.

AGRADECIMENTOS

CNPq, UEM e UTFPR.

REFERÊNCIAS

ABDALLAH, N. H.; SCHLUMBERGER, M.; GAFFNEY, D. A.; HANRAHAN, J. P.; TOBIN, J. M.; MAGNER, E. Comparison of mesoporous silicate supports for the immobilization and activity of cytochrome and lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 108, p. 82-88, 2014.

AL-DURI, B.; YONG, Y. P. Lipase immobilisation: an equilibrium study on lipases immobilised on hydrophobic and hidrophilic/ hydrophobic supports. *Biochem. Eng. J.*, v. 4, p. 207-215, 1999.

CAI, C.; GAO, Y.; LIU, Y.; ZHONG, N.; LIU, N. Immobilization of *Candida antarctica* lipase B onto SBA-15 and their application in glycerolysis for diacylglycerols synthesis. *Food Chemistry*, v. 212, p. 205-212, 2016.

DATTA, S.; CHRISTENA, L. R.; RAJARAM, Y. R. S. Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. *Biotech*, v. 3, p. 1–9, 2013.

DUARTE, J. G.; LEONE-IGNACIO, K.; DA SILVA, J. A. C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. FREIRE, D. M. G. Rapid determination of the synthetic activity of lipases/esterases via transesterification and esterification zymography. *Fuel*, v. 177, p. 123–129, 2016.

KARIMPIL, J. J.; MELO, J. S.; SOUZA, S. F. Immobilization of lipase on cotton cloth using the layer-

by-layer self-assembly technique. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 300-302, 2012.

LIU, Y.; ZHANG, X.; TAN, H.; YAN, Y.; HAMEED, B. H. Effect of pretreatment by different organic solvents on esterification activity and conformation of immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase. **Process Biochemistry**, v. 45 p. 1176–1180, 2010.

LOWRY, R. R.; TINSLEY, J. I. Rapid colorimetric determination of free fatty acids. **J. Am. Oil Chem. Society**, v. 53, p. 470-472, 1976.

SAMUKAWA, T.; KAIEDA, M.; MATSUMOTO, T.; BAN, K.; KONDO, A.; SHIMADA, Y.; NODA, H.; FUKUDA, H. Pretreatment of immobilized *Candida antarctica* lipase for biodiesel fuel production from plant oil. **J. Biosci. Bioeng.**, v. 90, p. 180-183, 2000.

SCHERER, R.P. **Estudo da imobilização de lipase comercial de pâncreas suíno em diferentes suportes inorgânicos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Regional do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Brasil, 2010.

VASCONCELLOS, A.; PAULA, A. S.; FILHO, R. A. L.; FARIA, L. A.; GOMES, E.; ARANDA, D. A. G.; NERY, J. G. Synergistic effect in the catalytic activity of lipase *Rhizomucor miehei* immobilized on zeolites for the production of biodiesel. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 163, p. 343-355, 2012.

VERDASCO-MARTÍNA, C.M.; VILLALBA, M.; SANTOS, J.C.S.; TOBAJAS, M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; OTEROA, C. Effect of chemical modification of Novozym 435 on its performance in the alcoholysis of camelina oil. **Biochemical Engineering Journal**, v. 111, p. 75-86, 2016.

WINKLER, U.K.; STUCKMANN, M. Glycogen, Hyaluronate, and some other polysaccharides greatly enhance the formation of exolipase by *Serratia marcescens*. **J. Bacteriol.**, v. 138, n. 3, p. 663-670, 1979.

YADAV G. D.; JADHAV, S. R. Synthesis of reusable lipases by immobilization on hexagonal mesoporous silica and encapsulation in calcium alginate: Transesterification in non-aqueous medium. **Microporous Mesoporous Mat.** v. 86, n. 1-3, p. 215-222, 2005.

PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTES A PARTIR DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA ESPÉCIE AMAZÔNICA *MYRCIA GUIANENSIS* E SUA TOLERÂNCIA AO ENDOSULFAN

Ana Milena Gómez Sepúlveda

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus – Amazonas

Sergio Duvoisin Junior

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Tecnologia
Manaus - Amazonas

Patrícia Melchionna Albuquerque

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus - Amazonas

Endosulfan produtores de biossurfactantes. Foram reativados 12 fungos endofíticos isolados de caule, folha e raiz da espécie amazônica *Myrcia guianensis*. Os fungos foram inoculados em ágar Czapek, suplementado com Endosulfan a 50 e 100 µg/mL. Os fungos tolerantes foram estimulados para a produção de biossurfactantes em cultivo em meio líquido contendo óleo de soja como fonte de carbono. Oito fungos se mostraram tolerantes ao agrotóxico e destes, dois foram capazes de reduzir a tensão superficial do meio de cultura em 39%, e 42%, com índices de emulsificação de 12% e 25%, respectivamente, o que confirma a produção de biossurfactantes. Estes dois fungos mostraram potencial para degradar ou transformar contaminantes orgânicos acumulados no ambiente como o Endosulfan, e podem ser avaliados em processos de biorremediação.

PALAVRAS-CHAVE: Endófitos, Endosulfan, Moléculas tensoativas, Biorremediação.

ABSTRACT: Endosulfan is a non-selective, broad-spectrum organochlorine insecticide and acaricide popularly used worldwide for pest control in agricultural crops. Despite the fact that its use has been prohibited, it is still possible to find small amounts of this pesticide in soils and water resources. This presents a risk to human health and to the environment. Endophytic fungi

RESUMO: O Endosulfan é um inseticida e acaricida organoclorado, de amplo espectro não seletivo, que foi amplamente utilizado em todo o mundo para o controle de pragas em culturas agrícolas. Embora atualmente seu uso esteja proibido, ainda se encontram pequenas quantidades deste agrotóxico nos solos e nos recursos hídricos, o que apresenta um risco à saúde humana e ao meio ambiente. Os fungos endofíticos são aqueles que colonizam os tecidos internos das plantas, e por meio da produção de moléculas tensoativas, podem ser uma alternativa na biodegradação do Endosulfan. Portanto, o objetivo deste trabalho foi selecionar fungos endófitos tolerantes ao

colonize the internal tissues of plants, and via the production of tensoactive molecules, they may be an alternative for the biodegradation of Endosulfan. Therefore, the objective of this work was to select Endosulfan tolerant fungi that produce biosurfactants. Twelve endophytic fungi isolated from the stem, leaf and root of the Amazon species *Myrcia guianensis* were reactivated. The fungi were inoculated in Czapek agar, supplemented with 50 or 100 µg/mL Endosulfan. Tolerant fungi were stimulated to produce biosurfactants in a liquid medium culture, containing soy oil as a carbon source. Eight fungi were tolerant to the pesticide and, of these, two fungi were able to reduce the surface tension of the culture medium in 39% and 42%, presenting 12% and 25% of emulsification index, respectively. These two fungi showed a potential to degrade or transform organic contaminants such as Endosulfan which had accumulated on the environment and may be evaluated into bioremediation processes.

KEYWORDS: Endophytic fungi, Endosulfan, Tensoactive molecules, Bioremediation.

1 | INTRODUÇÃO

Os bioativos são moléculas tensoativas produzidas por bactérias, fungos, plantas, animais e pelo ser humano (BOGNOLO, 1999; BRUICE, 2006). A produção de bioativos pode ser induzida por diversos substratos, tais como açúcares, óleos, alcanos e resíduos (LIN, 1996). Podem ser agrupados segundo a sua origem, peso molecular, propriedades físico-químicas, modo de ação, composição química e origem microbiana (PACWA-PŁOCINICZAK *et al.*, 2011). As principais classes englobam os glicolípideos, lipopeptídeos, lipoproteínas, fosfolipídeos, ácidos graxos, surfactantes poliméricos e surfactantes particulados (BIERMANN *et al.*, 1987; DESAI, BANAT, 1997; NITSCHKE, PASTORE, 2002). Seu uso tem diversas vantagens e aplicações nas indústrias, devido a sua tolerância à temperatura, pH, força iônica, potencial de degradação, baixa toxicidade, disponibilidade, especificidade e biocompatibilidade (SARUBBO *et al.*, 2012; SARUBBO *et al.*, 2015).

Diversos fungos vêm sendo relatados como produtores de bioativos, que podem apresentar propriedades emulsificantes (SENA, 2013; SILVA, 2015; SANCHES, 2016). Já os fungos endofíticos, possuem potencial de síntese de moléculas com atividade biológica, que são de interesse na relação endofítico-hospedeiro, gerada a partir da coabitAÇÃO e co-evolução (MORICCA e RAGAZZI, 2008). Esse relacionamento, influencia na capacidade dos fungos endofíticos de produzir os mesmos metabólitos bioativos das plantas hospedeiras (STROBEL *et al.*, 2004; CHAPLA *et al.*, 2013). Portanto, a procura por fungos endófitos isolados de plantas tropicais, com a capacidade de produzir bioativos, que por sua vez, possam ser utilizados na biorremediação de ambientes contaminados com agrotóxicos é de grande relevância.

A Região Amazônica Brasileira se caracteriza por possuir uma ampla biodiversidade e multiplicidade de sistemas, onde as plantas tropicais são de amplo interesse devido à variedade dos metabólitos bioativos que elas apresentam. A espécie

Myrcia guianensis, conhecida popularmente como pedra-hume-caá, se encontra distribuída nas regiões tropicais e subtropicais, envolvendo entre 3.100 e 4.600 espécies, que estão distribuídas em 144 gêneros (RIBEIRO *et al.*, 1999), esta espécie, tem despertado interesse pela variedade de compostos bioativos que possui nos óleos essenciais, nas flores, galhos e folhas (ZOGHBI *et al.*, 2003; LIMBERGER, SOBRAL, HENRIQUES, 2004), além de apresentar propriedades anti-hemorrágicas (SOUSA *et al.*, 2013) e alguns dos seus fungos endofíticos apresentarem atividade antimicrobiana (BANHOS *et al.*, 2014), bem como a produção de moléculas tensoativas (SILVA, 2015).

Dentre os agrotóxicos mais utilizados no mundo, se encontra o Endosulfan (6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,3,4-benzodioxatiepin-3-óxido), inseticida organoclorado de amplo espectro não-seletivo (ARSHAD, HUSSAIN, SALEEM, 2007). Possui fórmula molecular $C_9H_6Cl_6O_3S$ e massa molecular de 406,95 g/mol. Sua preparação consiste em dois isômeros, α-endosulfan e β-endosulfan na proporção de 7:3, com uma solubilidade em água de 0,63 mg/L para a mistura dos isômeros (JEN-NI *et al.*, 2005; ARSHAD, HUSSAIN, SALEEM, 2007; RAUF *et al.*, 2012). O Endosulfan foi amplamente utilizado na agricultura para o controle de milho, algodão, vegetais, frutas, grãos, sementes oleaginosas, café e tabaco, entre outras culturas (WEBER *et al.*, 2010) até 2012, quando na Convenção de Estocolmo (STOCKHOLM CONVENTION), este agrotóxico foi incluído na lista de poluentes orgânicos persistentes (POPs), devido a sua alta persistência nos ambientes e à ausência de controle por parte dos órgãos competentes. Embora o Endosulfan esteja proibido, ainda tem se encontrado resíduos no ambiente e nos animais (WANG *et al.*, 2017; HUNT *et al.*, 2016; ROMA *et al.*, 2017). Assim, o objetivo do presente estudo foi selecionar fungos endofíticos isolados da espécie amazônica *M. guianensis* tolerantes ao Endosulfan e produtores de biossurfactantes.

2 | MATERIALES E MÉTODOS

2.1 Micro-organismos

Os fungos endofíticos de *M. guianensis* utilizados neste trabalho foram isolados do material vegetal coletado por Banhos (2011) na Comunidade de São Pedro, localizada no município de Santarém/Pará, em fevereiro de 2009. Foram reativados doze (12) fungos endofíticos isolados de caule, folha e raiz, em ágar batata dextrose (BDA), que se encontravam conservados conforme a metodologia de Castellani (1939). Estes isolados foram previamente selecionados por Silva (2015) como produtores de moléculas tensoativas.

Os fungos endofíticos que se mostraram tolerantes ao Endosulfan foram identificados em nível de gênero por meio de análises micromorfológicas.

2.2 Ensaio de Tolerância ao Endosulfan

Os fungos foram inoculados no meio de cultura ágar Czapek (CzP) suplementado com duas concentrações de Endosulfan: 50 µg/mL e 100 µg/mL. Em seguida, foram incubados em estufa tipo BOD, a 28°C por 5 a 7 dias, até observar-se crescimento. Os fungos que apresentaram maior tolerância ao composto foram utilizados para a produção de biossurfactantes. Os testes foram feitos em triplicata.

2.3 Produção de Biossurfactantes

A produção de moléculas tensoativas foi realizada em meio líquido (JACOBUCCI, 2000), suplementado com 0,5 g/L de óleo de soja previamente filtrado em membrana tipo Whatman (0,45 µm PVDF). Os fungos foram inoculados na forma de uma suspensão de esporos ($2,0 \times 10^6$ esporos/mL) e cultivados por 8 dias em incubadora tipo shaker a 28°C e 170 rpm.

2.4 Métodos Analíticos

Para avaliar a produção de biossurfactantes fúngicos, foi determinada a tensão superficial (TS) do meio, pelo método de anel de Du Nouy (1925), utilizando 30 mL do sobrenadante livre de células para cada fungo previamente cultivado na presença de óleo de soja. As amostras foram analisadas no tensiômetro (Krüss-K20) para então ser calculada a redução da tensão superficial ao longo do tempo de cultivo.

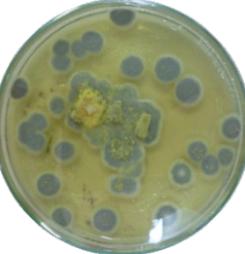
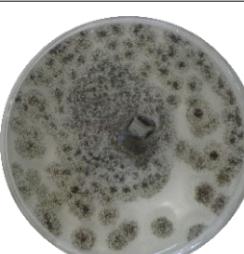
O índice de emulsificação (E_{24}) foi calculado seguindo a metodologia descrita por Cameron Cooper e Neufeld (1988), com modificações. Foram utilizados 6 mL de solvente (querosene) e 4 mL de cada fração filtrada do meio de cultura livre de células, os quais foram misturados em agitador tipo vórtex por 2 minutos, sendo posteriormente deixadas em repouso por 24 horas à temperatura ambiente. Por fim, o E_{24} foi calculado pela seguinte formula:

$$E_{24} = \frac{\text{Altura da camada de emulsão}}{\text{Altura total}} * 100$$

Quanto maior o índice de emulsificação, maior a atividade emulsificante do surfactante estudado (PORNSUNTHORNTAWEE *et al.*, 2008). Foram realizadas duas medições da TS e do E_{24} , após 3 e 8 dias de cultivo em meio líquido. Todos os testes foram feitos em triplicata. Determinou-se também o índice de emulsificação do dodecilsulfato de sódio (SDS), surfactante sintético, a 1% para fins de comparação.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 12 fungos endofíticos testados na presença de Endosulfan, 8 se mostraram tolerantes ao agrotóxico na concentração de 100 mg/mL (Figura 1).

Identificação dos fungos	Ágar Czaapeck	Ágar Czaapeck + Endosulfan (50 µg/mL)	Ágar Czaapeck + Endosulfan (100 µg/mL)
MgC 3.1.2			NT
MgC 3.2.2			NT
MgCe 1.1.2			NT
MgCe 2.2.1			NT
MgC 3.1.1			
MgCe 2.3.1			

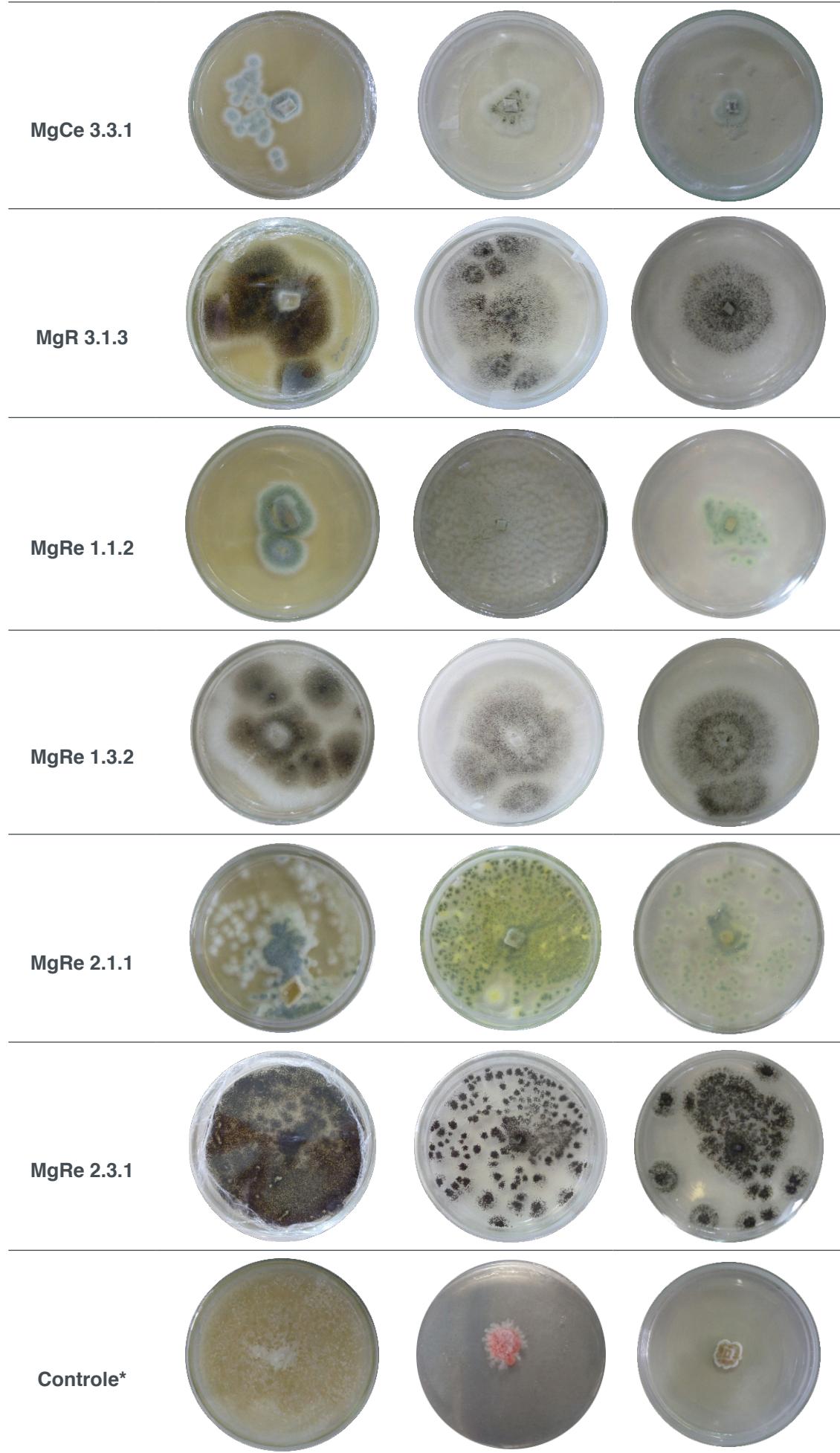


Figura 1. Crescimento dos fungos endofíticos de *Myrcia guianensis* em ágar Czapek suplementado com 50 e 100 µg/mL de Endosulfan.

MgC: isolado do caule; MgCe: isolado do caule exposto; MgR: isolado de raiz; MgRe: isolado de raiz exposta. NT: Não Testado. *Fungo *Phanerochaete chrysosporium* ATCC24725.

Assim como pode ser observado na Figura 1, dentre os 8 fungos endofíticos tolerantes ao Endosulfan a 100 mg/mL, 6 apresentaram maior crescimento do que o fungo controle *P. chrysosporium* ATCC 24725. Este é um resultado interessante, uma vez que o fungo controle já vem sendo utilizado como degradador deste xenobiótico (AUST, 1990; KULLMAN e MATSUMURA, 1996; KIM, KIM, CHOI, 2001; KATAOKA, TAKAGI, 2013).

Uma vez selecionados os fungos com tolerância ao Endosulfan, foi avaliada a produção de bioativos por meio de medidas da tensão superficial e do cálculo do índice de emulsificação (Tabela 1). A média da tensão superficial da água ultrapura Mili-Q foi de 71 mN/m, e a média da tensão superficial do meio de cultura utilizado para a produção de bioativos foi de 58,0 mN/m.

Como pode ser observado na Tabela 1, os valores de E_{24} obtidos para os meios de cultivo após 8 dias foram baixos, sendo os maiores valores de 12% para o meio de cultivo do fungo MgRe 2.1.1 e de 25% para o do MgRe 1.1.2. O índice de emulsificação encontrado para o SDS a 1% foi igual a 72%. Estes resultados sugerem que os bioativos produzidos possuem baixa massa molecular, uma vez que moléculas que apresentam propriedades emulsificantes apresentam elevada massa molecular (RON e ROSENBERG, 2002).

Os fungos produtores de moléculas tensoativas que mantiveram reduzida a tensão superficial durante os 3 e 8 dias de experimento foram considerados como os mais promissores. Observou para o meio de cultivo do fungo MgRe 1.1.2, uma TS de 35,1 e de 37,8 mN/m, aos 3 e 8 dias, respectivamente. Para o meio de cultivo do fungo MgRe 2.1.1, a TS medida foi de 33,2 e 36,4 mN/m aos 3 e 8 dias, respectivamente.

Fungos Endofíticos	Tolerância ao Endosulfan (100 µg/mL)	Produção de Bioativos			
		Dia 3		Dia 8	
		TS (mN/m)	E_{24} (%)	TS (mN/m)	E_{24} (%)
MgC 3.1.2	-		NT	NT	NT
MgC 3.2.2	-		NT	NT	NT
MgCe 1.1.2	-		NT	NT	NT
MgCe 2.2.1	-		NT	NT	NT
MgC 3.1.1	+		35,2	0	41,4
MgCe 2.3.1	+		41,0	0	52,3
MgCe 3.3.1	+		33,6	0	50,9
MgR 3.1.3	+		33,4	0	58,1
MgRe 1.1.2	+		35,1	6	37,8
MgRe 1.3.2	+		40,7	0	40,2
MgRe 2.1.1	+		33,2	0	36,4
MgRe 2.3.1	+		60,0	0	61,9

Tabela 1. Tensão superficial e índice de emulsificação dos meios de cultivo dos fungos

endofíticos isolados de *Myrcia guianensis* tolerantes ao Endosulfan.

MgC: isolado do caule; MgCe: isolado do caule exposto; MgR: isolado de raiz; MgRe: isolado de raiz exposta. TS: Tensão Superficial. E₂₄: índice de emulsificação. NT: Não Testado.

Os fungos MgRe 1.1.2 e MgRe 2.1.1, isolados da raiz exposta da *M. guianensis*, apresentaram uma redução de tensão superficial de 39%, e de 42%, respectivamente, após 3 dias de cultivo em meio líquido. A redução na TS foi significativa, considerando o curto tempo de cultivo, sendo estes fungos, portanto, selecionados como os mais promissores para serem empregados em processos de biorremediação de cursos d'água contaminados com Endosulfan.

Segundo Deleu e Paquot (2004), a redução da tensão superficial ou interfacial é considerada o principal parâmetro para detecção de um composto tensoativo em um determinado meio. Pirôllo (2006) verificou redução na tensão superficial de 36,5% na produção de biossurfactante bacteriano, utilizando 30% de óleo diesel como substrato. Barbosa (2011) avaliou a TS de um fungo degradador de madeira durante 30 dias de cultivo na presença de óleo de soja e verificou redução 35,1%. Estes resultados são comparáveis aos observados no presente estudo.

Desta forma, constatou-se que 8 dos 12 fungos endofíticos avaliados têm tolerância ao Endosulfan nas duas concentrações testadas. Após identificação micromorfológica, verificou-se que os endófitos tolerantes ao agrotóxico pertencem aos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. Destes, dois fungos do gênero *Penicillium* foram capazes de produzir moléculas tensoativas, alcançando tensões superficiais menores a 40 mN/m em poucos dias de cultivo em meio líquido. Assim, verifica-se que fungos endofíticos da planta tropical *M. guianensis* são potenciais produtores de moléculas tensoativas, uma vez que, segundo Haba *et al.* (2000), os micro-organismos ditos bons produtores de biossurfactantes são capazes de reduzir a tensão superficial a 40 mN/m ou menos.

Na continuação deste estudo se espera realizar a caracterização dos biossurfactantes produzidos para serem então testados na biodegradação de poluentes orgânicos persistentes, com a finalidade de contribuir com novas estratégias para processos de biorremediação de solos e recursos hídricos contaminados com xenobióticos.

4 | CONCLUSÕES

Observou-se que os fungos endofíticos de *M. guianensis* apresentaram tolerância ao Endosulfan e capacidade de produzir moléculas tensoativas. Além disso, dois isolados da raiz exposta apresentaram maior redução da tensão superficial e maior índice de emulsificação, sendo considerados os mais promissores para serem aplicados em futuros processos de biorremediação.

A procura por estratégias que auxiliem na biorremediação de ambientes

contaminados por poluentes orgânicos persistentes como o Endosulfan é de grande interesse para a agricultura, uma vez que pode contribuir para a recuperação dos solos e recursos hídricos contaminados através de alternativas sustentáveis, utilizando recursos biológicos, evitando prejudicar ainda mais a integridade da biosfera. Portanto, a utilização dos fungos endofíticos e sua maquinaria metabólica como ferramenta biotecnológica para produzir bioativos, surge como uma alternativa eficaz e sustentável que deve ser investigada.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (Programa Pró-Amazônia Projeto nº. 052) e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ARSHAD, M.; HUSSAIN, S.; SALEEM, M. Optimization of environmental parameters for biodegradation of alpha and beta endosulfan in soil slurry by *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Applied Microbiology. v. 104, p. 364-370, 2007.
- AUST, S. A. Degradation of environmental pollutants by *Phanerochaete chrysosporium*. Microbial Ecology. v. 20, p. 197-209, 1990.
- BANHOS, E. F. Atividade antimicrobiana de *Myrcia guianensis* (Myrtaceae) e de seus fungos endofíticos. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais, Escola Superior de Ciências da Saúde. Universidade do Estado do Amazonas, Manaus. 2011.
- BANHOS, E. F.; SOUZA, A. Q. L.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, A. L.; KOOLEN, H. H.; ALBUQUERQUE, P. M. Endophytic fungi from *Myrcia guianensis* at the Brazilian Amazon: Distribution and bioactivity. Brazilian Journal of Microbiology. v. 45. n. 1, p. 153-161. 2014.
- BARBOSA, S. B. S. Prospecção de linhagens fúngicas produtoras de bioativos. Monografia (Graduação em Engenharia Química) Universidade do Estado do Amazonas. 2011. 64 p.
- BIERMANN, M.; LANGE, F.; PIORR, R.; PLOOG, U. Synthesis of Surfactants. In: FALBE, J. (Ed.) **Surfactants in Consumer Products. Theory, Technology and Application**. Springer Verlag, Heidelberg.1987.
- BOGNOLI, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 152, p. 41-52, 1999.
- BRUICE, P. **Organic Chemistry**, Volume 2. 4a ed. Pearson, São Paulo. 2006.
- CAMERON, D.; COOPER, D.; NEUFELD, R. The mannoprotein of *Saccharomyces cerevisiae* is an effective bioemulsifier. Applied and Environmental Microbiology. v. 54, n. 6, p. 1420- 1452, 1988.
- CASTELLANI, A. Viability of mold culture of fungi in distilled water. Journal of Tropical Medicine & Hygiene. v. 42, p. 225-226, 1939.
- CHAPLA, V. M.; BIASETTO, C. R.; ARAUJO, A. R. Fungos endofíticos: uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. Revista Virtual de Química. v. 5, n. 3, p. 421-437, 2013.

DELEU, M.; PAQUOT, M. **From renewable vegetables resources to microorganisms: new trends in surfactants.** Computers Rendus Chimie. v. 7, p. 641-646, 2004.

DESAI, J. D.; BANAT, I. M. **Microbial prodution of surfactans and their comercial potencial.** Microbiology and Molecular Biology Reviews. v. 61, n.1, p. 47-64, 1997.

DU NOUY, P. **An interfacial tensiometer for universal use.** The Journal of General Physiology. v. 7, n. 5, p. 625-633, 1952.

HABA, E.; ESPUNY, M.J.; BUSQUETS, M.; MANRESA. **A Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils.** Journal of Applied Microbiology. v. 88, p. 379-387, 2000.

HUNT, L.; BONETTO, C.; MARROCHI, N.; SCALISE, A.; FANELLI, S.; LIESS, M.; LYDY, M. J.; CHIU, M. C.; RESH, V. H. **Species at Risk (SPEAR) index indicates effects of insecticides on stream invertebrate communities in soy production regions of the Argentine Pampas.** Science of the Total Environment. v. 580, n. 15, p. 699-709, 2016.

JACOBUCCI, D. F. C. **Estudo da influência de biosurfactantes na biorremediação de efluentes oleosos.** Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas; 2000.

JEN-NI, K.; PASTERNAK, J.; WAN, M.; BUDAY, C.; SCHROEDER, G.; AGGELEN, G. **Toxicity of α -, β -, ($\alpha+\beta$) - endosulfan and their formilated and degradation products to *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus kisutch*, and biological implications in streams.** Environmental Toxicology and Chemistry. v. 24, n. 5, p. 1146-1154, 2005.

KATAOKA, R.; TAKAGI, K. **Biodegradability and biodegradation pathways of endosulfan and endosulfan sulfate.** Applied Microbiology and Biotechnology. v. 97, n. 8, p. 3285-3292, 2013.

KIM, Y.; KIM, S.; CHOI, S. **Kinetics of endosulfan degradation by *Phanerochaete chrysosporium*.** Biotechnology Letters. v. 23, p. 163-166, 2001.

KULLMAN, S. W.; MATSUMURA, F. **Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan.** Applied and Environmental Microbiology. v. 62, n. 2, p. 593–600, 1996.

LIMBERGER, R.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. Química Nova. v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LIN, S. C. **Biosurfactant: recent advances.** Journal of Chemical Technology and Biotechnology. v. 66, p. 109-20. 1996.

MORICCA, S.; RAGAZZI, A. **Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*.** Phytopathology. v. 98, n. 4, p. 380-386, 2008.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. **Biosurfactantes: propriedades e aplicações.** Química Nova. v. 25, n. 5, p. 772-776, 2002.

PACWA-PŁOCINICZAK, M.; PŁAZA, G.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; CAMEOTRA, S. **Environmental applications of biosurfactants: Recent Advances.** International Journal of Molecular Sciences. v. 12, n. 1, p. 633-654, 2011.

PIRÔLLO, M. P. S. **Estudo da produção de biosurfactantes utilizando hidrocarbonetos.** Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, 73p. Rio Claro/SP. 2006.

PORNSUNTHORNTAWEE, O.; WONGPANIT, P.; CHAVADEJ, S.; ABE, M.; RUJIRAVANIT, R. **Structural and physicochemical characterization of crude biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 isolated from petroleum contaminated soil.** Bioresource Technology. v. 99, n. 6, p. 1589-1595, 2008.

RAUF, N.; TAHIR, S; KANG, J.-H.; CHANG, Y.-S. **Equilibrium, thermodynamics and kinetics studies for the removal of alpha and beta endosulfan by adsorption onto bentonite clay.** Chemical Engineering Journal. v. 192, p. 369-376, 2012.

RIBEIRO, J.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G. **Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central.** INPA, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1999.

ROMA, A.; ROSSINI, C.; RIVERSO, C.; GALIERO, G.; ESPOSITO, M. **Endosulfan poisoning in canids and felids in the Calabria region of southern Italy.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. v. 1, p. 122-125, 2017.

RON, E. Z.; ROSENBERG, E. **Biosurfactants and oil bioremediation.** Current Opinion in Biotechnology. v. 13, p. 249-252, 2002.

SANCHES, M. **Utilização de resíduos vegetais para a produção de biossurfactantes por fungos isolados se amostras de solo da Região Amazônica.** 2016, 89p. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

SARUBBO, L. A.; ROCHA- JÚNIOR, R. B.; LUNA, J. M.; RUFINO, R. D.; SANTOS, V. A.; BANAT, I. M. **Some aspects of heavy metals contamination remediation and role of biosurfactants.** Chemistry and Ecology. v. 31, n. 8, p. 707-723, 2015.

SARUBBO, L. A.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; FARIAS, C.; SANTOS, V. A. **Produção de biossurfactantes para aplicação na remoção de contaminantes ambientais gerados na indústria de petróleo.** In: Rio Oil & Gas Expo and Conference, IBP1058_12, 2012, Rio de Janeiro. 2012.

SENA, H. **Produção de biossurfactantes por fungos isolados do solo da Floresta Amazônica.** 2013, 57p. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

SILVA, M. E. T. **Bioprospecção de moléculas tensoativas em fungos endofíticos de *Piper hispidum* e *Myrcia guianensis*.** 2015, 83p. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais, Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2015.

SOUSA, L.; MOURA, V.; RAPOSO, J.; SOUSA, L.; OLIVEIRA, R.; SANTOS, L.; ARAÚJO, R.; SILVA, A. M.; ARANHA E.; SUEMITSU, C.; GUERRA, C.; CHALKIDIS, H.; PACHECO, S.; MOURÃO, R. **The effect of the aqueous extract of *Myrcia guianensis* (AubL) DC and its fractions against the hemorrhagic activity of Bothrops jararaca venom.** Journal of Medicinal Plants Research, Brasil, Pará, v. 7, n. 42, p. 3139-146, 2013.

STOCKHOLM CONVENTION, United Nations targets widely-used pesticide endosulfan for phase out. Geneva, Switzerland, Representatives from 127 Governments meeting in Geneva last week agreed to add endosulfan to the United Nations' list of persistent organic pollutants to be eliminated worldwide. The action puts the widely-used pesticide on course 106 for elimination from the global market by 2012. Disponível em < <http://chm.pops.int/Convention/Media/Pressreleases/Widelyusedpesticideendosulfanphaseout/> tabid/2216/language/en-US/Default.aspx > Acesso em :10 ago.2016.

STROBEL, G.; DAISY, B.; CASTILLO, U.; HARPER J. **Natural products from endophytic microorganisms**. Journal of Natural Products. v. 67, n. 2, p. 257-268, 2004.

WANG, W.; BAI, J.; XI, M.; ZHAO, Q.; ZHANG, G.; WEN, X.; XIAO, R. **Occurrence, sources, and risk assessment of OCPs in surface sediments from urban, rural, and reclamation affected rivers of the Pearl River Delta, China**. Environmental Science and Pollution Research. v. 24, n. 3, p. 2535-2548, 2017.

WEBER, J.; HALSALL, C.; MUIR, D.; TEIXEIRA, C.; SMALL, J.; SOLOMON, K. R.; HERMANSON, M.; HUNG, H.; BIDLEMAN, T. **Endosulfan, a global pesticide: a review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic**. Science of the Total Environment. v. 408, p. 2966-2984, 2010.

ZOGHBI, M.; ANDRADE, E.; SILVA, M.; CARREIRA, L.; MAIA, J. **Essential oils from three *Myrcia* species**. Flavour and Fragrance Journal. v. 18, n. 5, p. 421-424, 2003.

PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE LIPASES DE *Penicillium corylophilum*

Lucas Marcondes Camargo

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Ricardo de Sousa Rodrigues

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Michael da Conceição de Castro

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Josiane Geraldelo da Silva

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Patrícia Salomão Garcia

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Milena Martins Andrade

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

Alessandra Machado Baron

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Coordenação de Licenciatura em Química
Apucarana – Paraná

com os estudos de produção de lipases de *Penicillium corylophilum* por fermentação sólida e extração dessas enzimas após a produção. A produção foi realizada utilizando o farelo da semente de girassol variando a porcentagem de umidade (55 e 65% m/m). Em relação à extração da enzima após a produção, soluções de NaCl 2% (m/v) e água foram estudadas. Os resultados mostraram que a atividade máxima foi obtida em 144 h (55% de umidade), utilizando o NaCl (0,6 U gSS⁻¹) e água (15 U gSS⁻¹) respectivamente na extração. A atividade do sólido fermentado antes da extração foi de 122 U gSS⁻¹ indicando que para o melhor processo de extração (água), a recuperação da enzima foi próxima a 10%. Estes resultados mostram importância da dosagem da atividade da enzima antes e após a extração para que haja a análise de recuperação do catalisador.

PALAVRAS-CHAVE: lipases, fermentação, extração.

ABSTRACT: The objective of this work was to contribute to the production of *Penicillium corylophilum* lipases by solid fermentation and extraction of these enzymes after production. Production was performed using the sunflower seed meal varying the percentage of humidity (55 and 65% m/m). In relation to the extraction of the enzyme after the production, solutions of NaCl 2% (m/v) and water were studied. The

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi contribuir

results showed that the maximum activity was obtained in 144 h (55% moisture), using NaCl (0.6 U gSS⁻¹) and water (15 U gSS⁻¹) respectively in the extraction. The activity of the fermented solid before extraction was 122 U gSS⁻¹ indicating that for the best extraction process (water), the enzyme recovery was near to 10%. These results show the importance of the dosage of the activity of the enzyme before and after the extraction so that there is the catalyst recovery analysis.

KEYWORDS: lipases, fermentation, extraction.

1 | INTRODUÇÃO

Lipases são enzimas pertencentes ao grupo das hidrolases, são associadas ao metabolismo, a hidrolise dos lipídios, reações de esterificação, transesterificação e lactonização, entre outras (SALIHU et al, 2012).

A produção das lipases é feita majoritariamente por fermentação submersa (FS) devido a aspectos de engenharia dominados e desenvolvidos, ela está relacionada ao crescimento dos microrganismos e como consequência, às variações da composição e condições do meio de cultivo. As lipases também podem ser produzidas por métodos de fermentação no estado sólido (FES), em que são utilizados substratos insolúveis e ausência de água livre (PANDEY, 1992; SALIHU et al, 2012).

A fermentação no estado sólido apresenta-se como uma alternativa interessante para a produção microbiana de lipases, devido à possibilidade de utilização de resíduos ou produtos agroindustriais como fonte de nutrientes ou suporte para o desenvolvimento dos microrganismos (MESSIAS et al, 2011, KUMAR, 2012). Esse fato torna a FES uma técnica economicamente interessante para países com grande oferta de biomassa e resíduos agroindustriais (SALUM, 2010). O processo de FES baseia-se no cultivo de microrganismos em suportes sólidos úmidos que podem ser tanto em suportes inertes ou em substratos que podem vir a ser utilizados como fontes de nutrientes e energia (SALIHU et al, 2012).

A fermentação em estado sólido tem uma vantagem particular para o cultivo de fungos, que é simular o habitat natural dos microrganismos, levando a uma maior produção enzimática quando comparada com a fermentação submersa. As enzimas produzidas por FES são menos suscetíveis a problemas de inibição pelo substrato, são mais estáveis em termos de temperatura e pH (SINGHANIA, 2009; FARINAS, 2015).

Após a produção, a extração da enzima do meio sólido pode ser realizada, sendo importante o estudo de condições que permitam a extração da enzima em quantidades elevadas para posterior aplicação do catalisador. O presente estudo investigou a extração de lipases produzidas por FES e analisou a recuperação da atividade após tal procedimento através da dosagem da atividade do sólido fermentado.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo do microrganismo

O fungo *P. corylophilum* foi repicado em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), em erlenmeyers de 250 mL e incubados a 29°C por 7 dias. Para a fermentação, foram utilizados erlenmeyers de 250 mL, com 10 g de farelo de semente de girassol (triturados, tamisados e embalados em sacos plásticos, sendo utilizadas as frações com granulometria entre 0,8 e 2,0 mm de diâmetro) umedecidos com tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹; pH 7,0, para obter a umidade requerida no experimento. Os cultivos foram iniciados pela adição de 1 mL de suspensão de esporos (10^8 esp mL⁻¹) aos frascos de pré-inóculo. Os frascos inoculados foram incubados em estufa a 29 °C e a cada 24 h retirou-se três frascos para extração da enzima e dosagem da atividade enzimática. A composição centesimal do substrato foi realizada na UTFPR, Campus Apucarana (CAMARGO, 2015).

Efeito da umidade

Foram estudadas duas condições, 55 % e 65 % de umidade inicial do substrato, com o farelo de semente de girassol. Para as condições, 55 % e 65 % de umidade inicial adicionou-se respectivamente 14 mL e 17 mL de tampão fosfato pH 7,0 (0,1 mol L⁻¹) a 10 g de farelo. A umidade foi realizada em balança de infravermelho (Gehaka).

Extração da enzima do sólido fermentado

A enzima foi extraída do material fermentado com (a) 50 mL de solução aquosa de NaCl 2 % (m/v) e (b) 50 mL de água destilada. Para (a), o sólido fermentado (10 g) e a solução extratora (50 mL) foram colocadas em agitador orbital durante 1 h, a 200 rpm e 25°C. (b) o sólido fermentado (10 g) e a solução extratora (50 mL) foram colocados em um liquidificador e agitadas por 5 min. Para os dois casos, a mistura foi filtrada em gaze e o sólido prensado manualmente para extração do líquido. O extrato resultante foi centrifugado por 10 minutos a 10.000 xg (Força Centrifuga Relativa). O sobrenadante assim obtido foi utilizado para determinação da atividade enzimática. A atividade enzimática do sobrenadante e do sólido fermentado foi medida através da hidrólise do palmitato de p-nitrofenila (*p*NPP) (WINKLER; STUCKMANN, 1979). Para a dosagem do sólido fermentado utilizou-se 10 mL da solução contendo *p*NPP e 10 mg do sólido fermentado. O meio reacional foi incubado a 37°C, e a cada minuto alíquotas de 1 mL foram retiradas durante cinco minutos. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que a maior atividade ($0,6 \pm 0,1$ U gSS $^{-1}$; Figura 1) foi obtida com 55% de umidade em 144 h, sendo as lipases extraídas com solução NaCl (2% m/v).

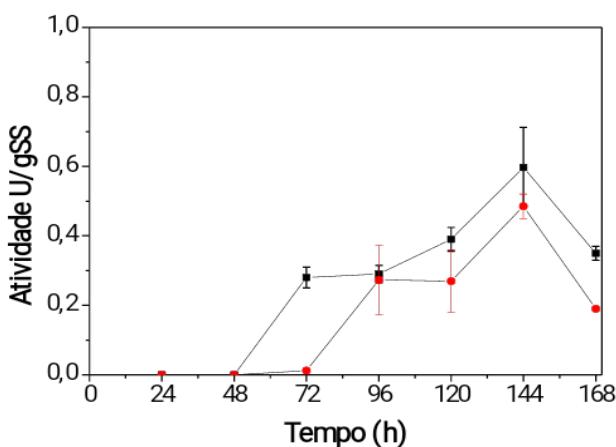


Figura 1. Produção de lipase por *Penicillium corylophilum* em fermentação no estado sólido com farelo de semente de girassol, 29°C. (-■-) 55% e (-●-) 65% de umidade. Solução extratora: NaCl 2% (m/v). Experimentos realizados em triplicata.

Após este estudo inicial, a atividade do sólido fermentado (55% de umidade, 144 h) foi dosada através da adição direta ao meio reacional contendo pNPP (aquoso). A atividade foi de 122 ± 6 U gSS $^{-1}$ indicando que procedimento usado para a extração não foi efetivo. Para o segundo procedimento de extração estudado (água/agitação em liquidificador), a atividade dosada no sobrenadante (144 h de cultivo) foi de $15 \pm 0,8$ U gSS $^{-1}$. Embora a extração com água tenha sido melhor, ainda assim, foi possível extrair somente 10% da atividade total presente no sólido fermentado. Estes resultados são importantes, no que diz respeito à recuperação da enzima e ao se utilizar o procedimento de extração, pois os estudos presentes encontrados na literatura mostram otimizações de extração de enzimas e não relatam a atividade do sólido fermentado antes da extração (RODRIGUEZ et al., 2006; SANTIS-NAVARRO et al., 2011; VEERABHADRAPPA, SHIVAKUMAR, DEVAPPA, 2014) inviabilizando a possibilidade de conhecer a efetividade do método de extração.

Além disso, estudos onde sólido fermentado é utilizado diretamente no meio reacional (AGUIEIRAS et al., 2017) a etapa de extração deixaria de ser necessária, a atividade da enzima poderia ser realizada utilizando diretamente o sólido fermentado como realizado neste trabalho e em Soares et al. (2013).

4 | CONCLUSÕES

Foi possível produzir lipases de *P. corylophilum* por fermentação sólida, obtidas até o presente momento, apenas por fermentação submersa (BARON et al., 2005). A dosagem da atividade do sólido fermentado foi importante para análise da recuperação

da enzima após os procedimentos de extração.

AGRADECIMENTOS

CNPq, Fundação Araucária, UTFPR.

REFERÊNCIAS

- AGUIEIRAS, E. C. G.; BARROS, D. S. N.; SOUSA, H.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; FREIRE, D. M. G. Influence of the raw material on the final properties of biodiesel produced using lipase from *Rhizomucor miehei* grown on babassu cake as biocatalyst of esterification reactions. **Renewable Energy**, v. 113, p. 112-118, 2017.
- BARON, A. M.; SARQUIS, M. I. M.; BAIGORÍ, M.; MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. A comparative study of the synthesis of n-butyl-oleate using a crude lipolytic extract of *Penicillium coryophilum* in water-restricted environments. **J. Mol. Catalysis B: Enzymatic**, v. 34, p. 35-32, 2005.
- CAMARGO, L. M. **Produção de lipases por fermentação no estado sólido**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Brasil, 2015.
- FARINAS, C. S. Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 52, p. 179-188, 2015.
- KUMAR, A.; KANWAR, S. S. Lipase Production in Solid-State Fermentation (SSF): Recent Developments and Biotechnological Applications. **Process Biotechnology and Molecular Biology**. v. 6, p. 13-27, 2012.
- MESSIAS, J. M.; COSTA, B. Z.; LIMA, V. M. G.; GIESE, E. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA, A. M. Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Technologicas**, v. 32, n. 2, 2011.
- PANDEY, A. Recent process developments in solid-state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 27, p.109-117, 1992.
- RODRIGUEZ, J. A.; MATEOS, J. C.; NUNGARAY, J.; GONZÁLEZ, V.; BHAGNAGAR, T.; ROUSSOS, S.; CORDOVA, J.; BARATTI, J. Improving lipase production by nutrient source modification using *Rhizopus homothallicus* cultured in solid state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 2264–2269, 2006.
- SALIHU, A.; ALAM, M. Z.; ABDULKARIM, M. I.; SALLEH, H. M. Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 58, p. 36-44, 2012.
- SALUM, T. F C. **Produção e Imobilização de lipases *Burkholderia cepacia* LTEB11 Para Síntese de ésteres etílicos**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 2010.
- SANTIS- NAVARRO, A.; GEA,T.; BARRENA, R.; SÁNCHEZ, A. Production of lipases by solid state fermentation using vegetable oil-refining wastes. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10080–10084, 2011.
- SINGHANIA, R. R.; PATEL, A. K.; SOCCOL, C. R.; PANDEY, A. Recent Advances in Solid-state Fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, p. 13-18, 2009.

SOARES, D.; PINTO, A. F.; GONCALVES, A. G.; MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. Biodiesel production from soybean soapstock acid oil by hydrolysis in subcritical water followed by lipase-catalyzed esterification using a fermented solid in a packed-bed reactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 15–23, 2013.

VEERABHADRAPPA, M. B.; SHIVAKUMAR, S. B.; DEVAPPA, S. Solid-state fermentation of Jatropha seed cake for optimization of lipase, protease and detoxification of anti-nutrients in Jatropha seed cake using *Aspergillus versicolor* CJS-98. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 117, n. 2, p. 208-214, 2014.

WINKLER, U. K.; STUCKMANN, M. Glycogen, Hyaluronate, and some other polysaccharides greatly enhance the formation of exolipase by *Serratia marcescens*. **J. Bacteriol.**, v. 138, n. 3, p. 663-670, 1979.

SELEÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE *MYRCIA GUIANENSIS* PRODUTORES DE XILANASE

Rosiane Rodrigues Matias

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus – Amazonas

Ana Milena Gómez Sepúlveda

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus – Amazonas

Bárbara Nunes Batista

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus – Amazonas

Juliana Mesquita Vidal Martínez de Lucena

Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Departamento de Educação Básica e Formação de Professores
Manaus – Amazonas

Patrícia Melchionna Albuquerque

Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Escola Superior de Tecnologia
Manaus – Amazonas

produtores de enzimas extracelulares, e os endófitos têm atraído interesse por seu potencial em produzir substâncias sintetizadas por seu hospedeiro. Apesar das inúmeras aplicações, a disponibilidade de cepas xilanolíticas para a indústria ainda é pequena. Assim, este trabalho visou avaliar a capacidade produtora de xilanases de fungos endofíticos isolados da espécie amazônica *Myrcia guianensis*. Os isolados foram reativados e submetidos à triagem enzimática em meio sólido. Os isolados com os maiores índices enzimáticos foram selecionados para produção xilanólica em meio líquido. A dosagem da atividade enzimática foi realizada pelo método de DNS, utilizando curva padrão de xilose. Dos 24 fungos avaliados, quatro (#15 isolado de caule, #18 e #36 isolados de raiz e #38 isolado de folha) foram selecionados como bons produtores de xilanase em meio sólido. Dos quatro fungos cultivados em meio líquido, o #18 e o #36 apresentaram maior potencial xilanolítico (16 e 17 U/mL, respectivamente), produzindo a enzima em 48 h. A partir destes resultados, verifica-se o potencial de fungos endofíticos isolados de *M. guianensis* para a produção de xilanase.

PALAVRAS-CHAVE: atividade xilanólica, endófitos, triagem enzimática.

ABSTRACT: Xylanases are enzymes responsible for the hydrolysis of xylan, which

RESUMO: As xilanases são enzimas responsáveis pela hidrólise da xilana, de versátil aplicabilidade industrial, podendo ser obtidas de diversas fontes, dentre estas de fungos endofíticos. Os fungos são importantes

have versatile industrial uses and can be obtained from several sources, among them endophytic fungi. Fungi are important producers of extracellular enzymes, and endophytes have attracted interest because of their potential to produce substances produced by their host. Despite the numerous applications, the availability of xylanolytic strains to the industry is still small. Thus, this work aimed to evaluate the production capacity of xylanases of endophytic fungi isolated from the Amazonian species *Myrcia guianensis*. The isolates were reactivated and submitted to enzymatic screening in solid medium. The isolates with the highest enzymatic indices were selected for xylanolytic production in liquid medium. The dosage of the enzymatic activity was performed using the DNS method, using standard curve for xylose. Of the 24 evaluated fungi, four (# 15 isolated from stem, # 18 and # 36 isolated from root and # 38 isolated from leaf) were selected as good producers of xylanase in solid medium. Of the four fungi cultured in liquid medium, # 18 and # 36 presented the highest xylanolytic potential (16 and 17 U / mL, respectively), producing the enzyme in 48 h. From these results, the potential of endophytic fungi isolated from *M. guianensis* for the production of xylanase is confirmed.

KEYWORDS: xylanolytic activity, endophytes, enzymatic screening.

1 | INTRODUÇÃO

A Amazônia tem sido descrita como detentora da maior parcela da biodiversidade, com cerca de 30% do patrimônio genético existente no planeta (artrópodes, mamíferos, peixes, etc.). Além disso, sabe-se que mais de 10 mil espécies de plantas são portadoras de moléculas biologicamente ativas, vistas como promessas valiosas para as indústrias farmacêuticas e de cosméticos (aromas, ácidos graxos insaturados, pigmentos, antocianinas, flavonoides, carotenos, etc.) (ARAÚJO FILHO et al., 2015). Dentre as fontes biosustentáveis de moléculas de interesse industrial estão as obtidas a partir micro-organismos, como os fungos.

Os fungos endofíticos são micro-organismos que residem no interior dos tecidos vegetais saudáveis em determinado período de seu ciclo de vida, sem causar danos visíveis à planta. Estes micro-organismos possuem capacidade de secretar compostos de interesse biotecnológico, como substâncias com propriedades antimicrobianas, antitumorais, hormônios, corantes, enzimas, entre outras (BEZERRA et al., 2015; PINHEIRO et al., 2013).

Apesar do tímido interesse em desvendar o potencial biotecnológico dos fungos endofíticos associados a espécies tropicais, já se tem dados contundentes de sua grande contribuição para a biotecnologia, a exemplo da descoberta do Taxol, que inicialmente era extraído da planta *Taxus brevifolia*, e posteriormente foi comprovada a capacidade do fungo endofítico *Taxomyces andreanae* em secretar o composto próprio do espécime vegetal em que ele residia. Desta maneira, os estudos sobre a população endofítica presente em plantas medicinais bem como a sua bioprospecção

tomaram um novo vigor (BEZERRA et al., 2015).

Dentre as plantas medicinais de amplo uso na medicina tradicional está a *Myrcia guianensis*, popularmente conhecida como pedra-hume-caá, araçazinho ou guamirim, e com distribuição nas regiões norte (Acre, Amazonas, Amapá), nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte), centro-oeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e sul brasileiro (Rio Grande do Sul e Santa Catarina) (FLORADO BRASIL, 2018). De grande importância biotecnológica, a *M. guianensis* tem sido descrita como produtora de considerável diversidade de metabólitos secundários com propriedades ativas (esteroides, flavonóides, monoterpenos, sesquiterpenos e triterpenos), metabólitos estes que podem ser isolados de variadas estruturas como folhas, flores e galhos (KUSTER et al., 2003; CRUZ et al., 2004).

Diante da importância medicinal desta espécie, surgiu o interesse em conhecer o potencial biotecnológico de seus endofíticos. Nesse sentido, Banhos e colaboradores (2014) verificaram a presença de cepas promissoras isoladas de *M. guianensis* como fontes de novos compostos antimicrobianos, com capacidade de inibir o crescimento de importantes patógenos tais como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Desta maneira, observa-se a necessidade de mais investigações acerca desses micro-organismos metabolicamente versáteis.

Os fungos são conhecidos por seu potencial em produzir enzimas de interesse industrial. Os endófitos, por sua vez, se caracterizam como importantes fontes de catalisadores biológicos de ampla aplicação industrial, como as hidrolases (BAGCHI e BANERJEE, 2013; PINHEIRO et al.; 2013).

Dentre uma variedade de enzimas hidrolíticas, as xilanases se destacam como importantes bioconversores de compostos lignocelulósicos em açúcares, hidrolisando ligações β -(1,4) da molécula de xilana (PASSARINHO, 2014; DELAYE et al., 2013). Estas enzimas são largamente utilizadas no branqueamento de papel, na produção de pães, sucos, além se ser utilizadas como aditivo em ração animal, na produção de xilitol e etanol (SEYIS e AKSOZ, 2005; SUBRAMANIYAN e PREMA, 2002). A obtenção dessas enzimas por meio de micro-organismos tem sido foco de diversas investigações, sendo os fungos endofíticos uma alternativa interessante como novas fontes de xilanases.

Portanto, diante de sua vasta aplicação industrial, este estudo buscou avaliar a capacidade produtora de xilanase por fungos endofíticos isolados da espécie amazônica *Myrcia guianensis*, com intuito de buscar novas fontes produtoras desta enzima.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismos

Foram utilizados 24 fungos endofíticos isolados de diferentes tecidos (caule, folha e raiz) de *Myrcia guianensis*. O material vegetal foi coletado em abril de 2009, em Santarém, Pará (BANHOS, 2011). Os fungos, armazenados pelo método de Castellani (1939), foram reativados em ágar Sabouraud e submetidos ao ensaio em meio sólido.

2.2 Triagem enzimática em meio sólido

Os fungos foram submetidos à triagem enzimática em meio sólido específico para produção de xilanase, contendo 0,25% de xilana e 1,8% de ágar em 100 mL de água destilada. O meio de cultivo foi acondicionado em frascos Erlenmeyer e autoclavado à 121°C por 15 minutos (NENAWE et al., 2006).

O experimento foi realizado em triplicata, onde os isolados foram inoculados em fragmentos de 5 mm² no centro da placa de Petri e incubados à 28°C por 7 dias em BOD. Observado o crescimento da colônia, a mesma foi corada por uma solução de vermelho Congo em etanol a 0,5% e após 5 minutos, foi realizada a revelação com solução de NaCl 1 M. Foi considerado positivo o isolado que apresentou a formação de um halo amarelado ao redor da colônia, indicando a hidrólise da xilana.

Os diâmetros do halo e da colônia foram medidos com auxílio de paquímetro. O índice enzimático (IE) foi determinado pela razão entre o diâmetro do halo e o diâmetro da colônia. Os fungos com os maiores IE foram selecionados para a produção da enzima em meio líquido.

2.3 Produção de xilanase em meio líquido

Os fungos selecionados para produção em meio líquido foram inicialmente inoculados em ágar V8 em tubo inclinado com intuito de induzir a produção de esporos (GOMES e PENA, 2016). Os fungos foram incubados por 7 dias à 28°C, e em condições estéreis foram adicionados aos tubos 4 mL de água destilada. Os tubos foram agitados vigorosamente com a intenção de liberar os esporos presos ao micélio. Em seguida, seguiu-se com a contagem de esporos em câmara de Neubauer, sendo o inóculo padronizado na concentração de 10⁶ esporos/mL.

Uma alíquota de 100 µL da solução de esporos foi inoculada em 50 mL de meio de cultivo específico estéril conforme descrito por Sousa-Gomes (2014) com modificações, sendo constituído por NaNO₃ (1,0 g/L), KH₂PO₄ (1,5 g/L), MgSO₄ (0,5 g/L), CuSO₄ (0,25 g/L), MnCl₂ (0,0116 g/L), H₃BO₄ (0,00949 g/L), (NH₄)₂SO₄ (0,00235 g/L), FeSO₄.7H₂O (0,136 g/L), CaCl₂.2H₂O (0,0088 g/L), extrato de levedura (2,0 g/L) e 1% de xilana. O experimento foi conduzido em triplicata, em incubadora tipo shaker a 28°C por 10 dias, sob agitação de 150 rpm. A cada 24 h foram retiradas alíquotas de 1,0 mL para dosagem da atividade enzimática.

2.4 Dosagem da atividade enzimática

A medida da atividade enzimática foi realizada conforme descrita por Miller (1959), por meio da determinação de açúcares redutores formados durante a incubação do extrato enzimático com o substrato, fazendo o uso de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). A atividade enzimática de xilanase foi quantificada com base na curva padrão de xilose, utilizando xilana a 2% como substrato, com leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540 nm. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1 µmol de açúcar redutor por minuto, nas condições do ensaio.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 24 fungos, quatro (#15 isolado de caule, #18 e #36 isolados de raiz e #38 isolado de folha) foram capazes de produzir xilanase. O fungo #18 apresentou o menor índice enzimático (IE), ao passo que o fungo #38 apresentou o maior IE (Tabela 1).

Tecido de Isolamento	Fungo	IE Xilanase
Raiz	1	NA
Raiz exposta	2	NA
Raiz exposta	3	NA
Raiz exposta	4	NA
Caule	5	NA
Raiz exposta	6	NA
Caule	7	NA
Caule exposto	8	NA
Caule exposto	9	NA
Caule exposto	10	NA
Caule exposto	11	NA
Raiz exposta	13	NA
Caule exposto	14	NA
Caule	15	2,75±0,63
Folha	16	NA
Folha	17	NA
Raiz exposta	18	2,65±0,97
Caule	19	NA
Raiz exposta	33	NA
Caule	34	NA
Caule	35	NA
Raiz exposta	36	3,30±0,57
Folha	37	NA
Folha	38	3,8±0,38

Tabela 1. Produção de xilanase em meio sólido dos fungos endofíticos de *Myrcia guianensis* e seus respectivos índices enzimáticos (IE).

NA = Não apresentou atividade.

Dentre as diversas fontes de xilanases, as de origem fúngica são as mais comercializadas, destacando-se os gêneros *Aspergillus* e *Trichoderma* como os principais produtores (MICHELIN et al., 2010). Alguns dos principais incentivos referentes à investigação de novas fontes de xilanases fúngicas devem-se às suas características bioquímicas, como maior estabilidade, especificidade catalítica, redução de subprodutos reacionais, além de apresentarem alta atividade, e representarem um produto biossustentável de variadas aplicações (GASPAR JÚNIOR, 2014).

Os isolados #18 e #36 selecionados no presente estudo foram identificados por meio da técnica de microcultivo como pertencentes ao gênero *Aspergillus*, corroborando os dados da literatura que exaltam a capacidade desses organismos em sintetizar a classe de enzimas foco deste estudo (MICHELIN et al., 2010; MEYER et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Nos ensaios em meio líquido, os fungos #15 e #38 não foram capazes de produzir xilanase. No entanto, os fungos #18 e #36 apresentaram bons resultados com apenas 48 horas de cultivo. A atividade enzimática obtida a partir do cultivo do fungo #18 foi de 16 U/mL, enquanto o isolado #36 produziu 17 U/mL (Figura 1).

Os isolados de raiz exposta de *M. guianensis* #18 e #38 pertencentes ao gênero *Aspergillus* mostraram-se promissores, com significativa capacidade de produzir xilanase em meio líquido. Segundo Silva e colaboradores (2006) a excreção de hidrolases para o meio extracelular está relacionada tanto com a degradação de substratos como com o transporte de nutrientes para o interior da célula, favorecendo o crescimento vegetal. Assim, pode-se inferir que o bom desempenho na produção enzimática por isolados de raiz exposta de *M. guianensis* esteja relacionado com as necessidades nutricionais do endófitos e do hospedeiro.

Em um estudo recente, Elegbede e Lateef (2018) avaliaram a produção de xilanase por diferentes linhagens fúngicas, inclusive de *Aspergillus niger* L3, *A. fumigatus* SD5A e *A. flavus* SD4A. Os valores de atividade enzimática encontrados foram superiores (44,81 U/mL) aos obtidos no presente estudo. Ao passo que Silva e colaboradores (2015), utilizando fungos endofíticos para obtenção de xilanases, observaram atividades enzimáticas mais baixas (13,5 U/mL) que as obtidas pelos *Aspergillus* amazônicos isolados de *M. guianensis*. Já Ahmed e colaboradores (2016) obtiveram uma atividade xilanolítica de apenas 1,86 U/mL, quando utilizaram resíduos para induzir a produção de xilanase por *A. terreus* KP900973.

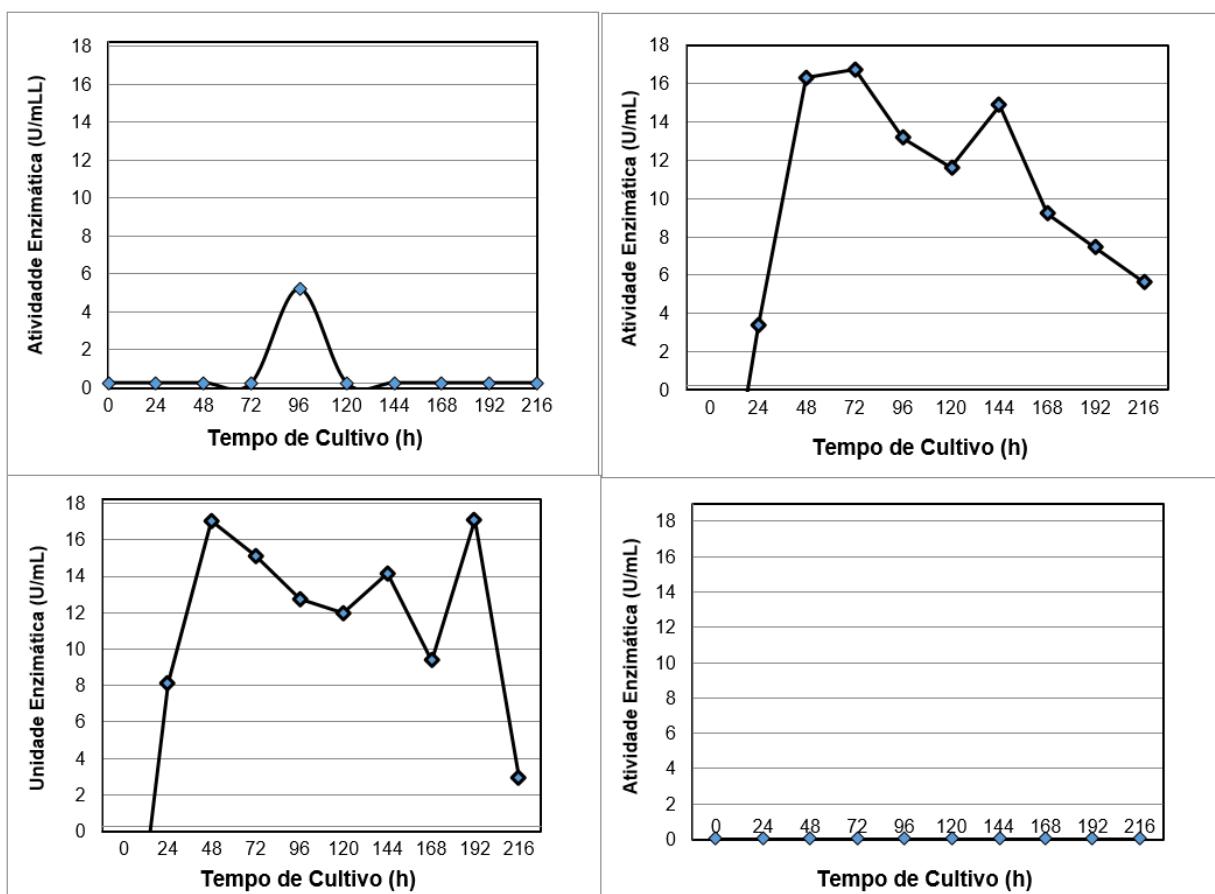


Figura 1. Produção de xilanase em meio líquido ao longo do tempo de cultivo dos fungos endofíticos isolados de *Myrcia guianensis*: (A) fungo #15; (B) fungo #18; (C) fungo #36; e (D) fungo #38.

Apesar dos resultados aqui encontrados serem promissores quanto à possibilidade de uso de endófitos de *M. guianensis* para a produção de xilanases, existe a necessidade de mais estudos com intuito de aumentar a produção das enzimas, utilizando os conhecimentos acerca da biologia do micro-organismo como estratégia para otimizar as condições de cultivo e alcançar melhores resultados de produção.

4 | CONCLUSÕES

Dos isolados de *M. guianensis* avaliados neste estudo, dois se mostraram promissores na produção de xilanase, sendo ambos isolados a partir da raiz de *M. guianensis* e identificados como pertencentes ao gênero *Aspergillus*. Desta maneira, observa-se nos fungos endofíticos desta espécie amazônica um forte potencial para a produção de xilanase.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (Programa Pró-Amazônia Projeto nº. 052) e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO FILHO, G.; LASMAR, D. J.; HERCULANO, F. E. B.; PIMENTA, N. L. Biotecnologia e (Bio) Negócios no Amazonas. EDUA. Edição 1. Manaus, Amazonas, 2015.
- BAGCHI, B. e BANERJEE, D. **Diversity of fungal endophytes in *Bauhinia vahlii* (a lianas) from different regions of Paschim Medinipur district of West Bengal.** IJSET, v. 2, p.748-756, 2013.
- BANHOS E. F.; SOUZA, A. Q. L.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, A. D. L.; KOOLEN, ALBUQUERQUE, P. M. **Endophytic fungi from *Myrcia guianensis* at the Brazilian Amazon: distribution and bioactivity.** Brazilian Journal of Microbiology, v.45, n.1, p. 153-161, 2014.
- BEZERRA, J. D. P.; NASCIMENTO, C. C. F.; BARBOSA, R. N.; SILVA, D. C. V.; SVEDESE, V. M.; SILVA-NOGUEIRA, E. B.; GOMES, B. S.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTTA, C. M. **Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential.** Brazilian Journal of Microbiology, v.46, n.1, p.49-57, 2015.
- CASTELLANI, A. **Viability of mold culture of fungi in destiled water.** Journal of Tropical Medical and Hygiene, v. 42, p. 225, 1939.
- CRUZ, F. G.; CERQUEIRA, M. D.; ROQUE, N. F. MARTINS, D. GUEDES, M. L. S.; MARQUES, E. J. **Composição química dos óleos voláteis de *Myrcia salzmannii* Berg (Myrtaceae) em diferentes meses do ano.** XXVI Congresso Latinoamericano de Química, 2004.
- DELAYE L.; GARCÍA-GUZMÁN.; H. E. L MARTIN. **Endophytes versus biotrophic and necrotrophic pathogens—are fungal lifestyles evolutionarily stable traits?.** Fungal diversity, v. 60, p 125-135, 2013.
- ELEGBEDE, J. A. e LATEEF, A. **Valorization of corn-cob by fungal isolates for production of xylanase in submerged and solid state fermentation media and potenctial biotechnological applications.** Waste and Biomass Valorization, v.9, n.8, p. 1273-1287, 2018.
- GASPAR JÚNIOR, P. J. **Caracterização de holocelulases fúngicas na otimização da biomassa lignocelulósica.** 2014, 187f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2014.
- GOMES, E. M. C. e PENA, R. M. C. M. **Isolamento, caracterização morfológica e avaliação do crescimento micelial e esporulação em Diferentes meios de cultura de cepas do fungo *Quambalaria* sp.** Biota Amazônia, Macapá, v.6, n.4, p. 59-63, 2016.
- KUSTER, R. M.; NETO, J. C.; SILVA, A. J. R.; AMORIM, M. B.; FELIX, C. F.; SANTOS, P. S.; SCOFANO, H. M. **Flavonóides inibidores de ATPases de *Myrcia uniflora* (Myrtaceae).** 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ/maio 2003.
- MEYER, T. S. M.; MIGUEL, Â. S. M.; FERNÁNDEZ, D. E. R.; ORTIZ, G. M. D. **Biotechnological Production of Oligosaccharides—Applications in the Food Industry.** In: EISSL, P. A. A. (Ed.). Agricultural and Biological Sciences - Food Production and Industry. Food Production and Industry, 2015.
- MICHELIN, M.; PEIXOTO-NOGUEIRA, S. C.; BETINI, J. H.; DA SILVA, T. M.; JORGE, J. A.; TERENZI, H. F.; POLIZELI, M. L. **Production and properties of xylanases from *Aspergillus terricola* Marchal and *Aspergillus ochraceus* and their use in cellulose pulp bleaching.** Bioprocess and biosystems engineering, v. 33, n. 7, p. 813-821, 2010.
- MILLER, G.L. **Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar.** Analytical Chemistry, VOL. 31, n. 3, 1959.

Myrcia in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10699>>. Acesso em: 21 Ago. 2018

NENAWE, S.; LAL, R.; KUHAD, R.C. **Isolation of three xylanase-producing strains of actinomycetes and their identifications using molecular methods.** Current Microbiology. 53:178-182. 2006.

PASSARINHO, A.T.P. **Produção e caracterização de xilanases derivadas do gene xyna de *Orpinomyces* pc-2 e avaliação da eficiência para hidrólise de farinha e clarificação de sucos.** 2014, 67f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Ouro Petro, Ouro Petro, Minas Gerais, 2014.

PINHEIRO, E. A. A.; CARVALHO, J.M.; SANTOS, D. C. P.; FEITOSA, A. O.; MARINHO, P. S. B.; GUILHON, G. M. S. P.; SOUZA, A. D. L.; SILVA, F. M. A.; MARINHO, A. M. R. **Antibacterial activity of alkaloids produced by endophytic fungus *Aspergillus* sp. EJC08 isolated from medical plant *Bauhinia guianensis*.** Natural Product Research, v.27, p.1633-1638, 2013.

SEYIS, I.; AND AKSOZ, N. **Xylanase production from *Trichoderma harzianum*.** Food Technology Biotechnology. v 43, n.1, p. 37–40, 2005.

SILVA, R. L. O.; LUZ, J. S.; SILVEIRA, E. B.; CAVALCANTE, U. M. T. **Fungo endofíticos em Annona spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.).** Acta Botanica Brasileira, v. 20, n. 3, p.649-655, 2006.

SILVA, S.R.S; SILVA, A.S.; SANTIAGO, P.A.L.; SOUZA, A.D.L.; POLIKARPOV I., MARTINEZ, J.L.; SOUZA, A.Q.L. **Avaliação das enzimas CMcase e xilanase de três fungos endofíticos da Amazônia, em três resíduos agrícolas em duas diferentes condições de cultivo.** Diversidade Microbiana da Amazônia 2015. Editora INPA. p.221-226, 2015.

SOUZA-GOMES, K. **Purificação e caracterização de xilanases do fungo Chrysoporthe cubensis e utilização na hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar.** 2014. 59f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2014.

SUBRAMANIYAN, S.; PREMA, P. **Biotechnology of microbial xylanases: Enzymology, molecular biology, and application.** Critical Reviews in Biotechnology, v. 22, p. 33–64, 2002.

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO MILHOCINA COMO FONTE DE VITAMINAS E NITROGÊNIO ORGÂNICO NA PRODUÇÃO DE ERITRITOL POR *Yarrowia lipolytica*

Luana Vieira da Silva

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Departamento de Engenharia Bioquímica

Rio de Janeiro - Rio de Janeiro - Brasil

Maria Alice Zarur Coelho

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Departamento de Engenharia Bioquímica

Rio de Janeiro - Rio de Janeiro - Brasil

Priscilla Filomena Fonseca Amaral

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Departamento de Engenharia Bioquímica

Rio de Janeiro - Rio de Janeiro - Brasil

Patrick Fickers

University of Liège - Gembloux Agro-Bio
Tech Microbial Processes and Interactions (MiPI)
Gembloux, Bélgica

RESUMO: *Yarrowia lipolytica* é uma levedura osmofílica com capacidade de produzir eritritol utilizando glicerol como fonte de carbono. Nitrogênio e vitaminas são fatores importantes na regulação de biossíntese de polióis por micro-organismos osmofílicos e as fontes tradicionalmente utilizadas para este propósito são NH₄Cl e extrato de lêvedo, que são componentes de alto custo. Uma alternativa para tornar o processo de obtenção de eritritol por via biotecnológica mais barato é a substituição destes componentes por resíduos que são mais baratos. Milhocina é um resíduo obtido como

principal subproduto do processamento de amido de milho, sendo uma fonte natural destes nutrientes e de baixo custo. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a substituição destes componentes mais onerosos por milhocina na produção de eritritol por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682, utilizando glicerol como fonte de carbono. O agente de estresse osmótico foi polietilenoglicol 2000, uma vez que aumentou o rendimento de eritritol comparando com a produção obtida em NaCl. No experimento controle contendo extrato de lêvedo, NH₄Cl e PEG 2000, a produção foi de 28,36±1,73 g/L. Substituindo o extrato de lêvedo por milhocina, a produção de eritritol foi de 23,34±0,1 e 21,79 g/L na presença e ausência de NH₄Cl, respectivamente. Portanto, milhocina pode ser considerada uma fonte alternativa promissora para a produção de eritritol por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682.

PALAVRAS-CHAVE: Milhocina; polietilenoglicol 2000; glicerol; eritritol; *Yarrowia lipolytica*

ABSTRACT: *Yarrowia lipolytica* is an osmophilic yeast capables of producing erythritol using glycerol as the carbon source. Nitrogen and vitamins are important factors in the regulation of biosynthesis of polyols by osmophilic microorganisms and the sources traditionally used for this purpose are NH₄Cl and yeast extract, which are high cost components. An

alternative to making the process of obtaining erythritol cheaper via biotechnology is to replace these components with waste that is cheaper. Corn steep liquor is a residue obtained as the main byproduct of corn starch processing, being a natural source of these nutrients and low cost. Therefore, the objective of this study was to evaluate the replacement of these more expensive components for corn steep liquor in the erythritol production by *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682, using glycerol as carbon source. The osmotic stress agent was polyethylene glycol 2000, since it increased the yield of erythritol compared to the production obtained in NaCl. In the control experiment containing yeast extract, NH₄Cl and PEG 2000, the production was 28.36 ± 1.73 g/L. Replacing the yeast extract with corn steep liquor, the erythritol production was 23.34 ± 0.1 and 21.79 g/L in the presence and absence of NH₄Cl, respectively. Therefore, corn steep liquor can be considered a promising alternative source for the erythritol production by *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682.

KEYWORDS: *Corn steep liquor; polyethylene glycol 2000; glycerol; erythritol; Yarrowia lipolytica*

1 | INTRODUÇÃO

Eritritol é um componente natural da dieta humana, presente em frutas, cogumelos, algas e alimentos fermentados (Goossens e Röper, 1994). É utilizado nas indústrias química, cosméticos, alimentos e farmacêutica. Possui 60-80% de doçura da sacarose e sua aplicação na produção de alimentos é apreciada devido a seu baixo valor calórico, não apresenta potencial cariogênico, seu consumo não afeta o nível de insulina no sangue e, ao contrário de outros polióis usados como substitutos do açúcar, não causa efeitos colaterais gástricos. Esse poliol está crescendo em popularidade, com um mercado de 23.000 toneladas em 2011 e expectativa crescente. O preço do eritritol é atualmente cerca de US\$ 4,5/kg (Moon *et al.*, 2010). A produção de eritritol em larga escala ocorre através de processos fermentativos com glicose, sacarose ou glicose obtida a partir de amidos de milho e trigo hidrolisados química ou enzimaticamente e pode ser produzido por leveduras osmofílicas e algumas bactérias (Moon *et al.*, 2010).

Yarrowia lipolytica é uma levedura osmofílica capaz de metabolizar diferentes fontes de carbono e possui diferentes aplicações. Esta levedura pertence ao grupo designado por leveduras “não-convencionais” que foi adotado para diferenciar as leveduras pertencentes a este grupo das leveduras mais comumente utilizadas como, por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae* e *Schizosaccharomyces pombe*, que são, portanto, consideradas leveduras “convencionais” (Barth e Gaillardin, 1997; Fickers *et al.*, 2005). Estes dois grupos se diferenciam em relação à fisiologia, genética, biologia molecular e aplicação biotecnológica (Zinjarde, 2014). A levedura *Yarrowia lipolytica* é a espécie mais estudada do grupo das leveduras “não-convencionais” principalmente por não apresentar patogenicidade (Barth e Gaillardin, 1997; Fickers *et al.*, 2005) e

tem sido utilizada como modelo para o estudo de secreção protéica, biogênese de peroxisomas, dimorfismo (Kawasse *et al.*, 2003), degradação de substratos hidrofóbicos (Ferreira, 2009), complexos mitocondriais, acúmulo de lipídeos, produção de lipase e síntese de ácidos orgânicos (Zinjarde, 2014). Estudos recentes demonstraram que cepas de *Yarrowia lipolytica* são capazes de transformar glicerol em eritritol e manitol (Tomaszewska *et al.*, 2014a) e, adicionando NaCl ao meio de produção, o rendimento e produtividade de eritritol aumentam fortemente, reduzindo a produção de manitol devido ao estresse osmótico aplicado ao sistema (Tomaszewska *et al.*, 2014b).

Polietilenoglicol (PEG) é um polímero capaz de aplicar pressão osmótica ao sistema de interesse (Money, 1989), é um osmólito neutro utilizado no método de estresse osmótico utilizado para medir forças intermoleculares em matrizes de biomacromoléculas, tais como DNA, o colágeno e polissacarídeos, assim como para medir a termodinâmica de alterações conformacionais nas enzimas e canais de membranas (Stanley *et al.*, 2003).

O custo do meio de fermentação é um dos fatores principais que determina a viabilidade econômica de produção de eritritol. Logo, é muito importante que os componentes que forneçam todas as necessidades nutricionais requeridas ao micro-organismo de produção de eritritol sejam de baixo custo. Um dos componentes necessários é a adição de fontes de nitrogênio e vitaminas. Extrato de lêvedo é uma fonte rica em aminoácidos, polipeptídios e vitaminas e é usado por pesquisadores como fonte de nitrogênio e vitaminas na produção de eritritol (Savergave, 2011). Embora extrato de lêvedo seja uma fonte de vitaminas favorita na fermentação, devido a seu alto custo, ela poderia não ser considerada para uso na produção de eritritol em larga escala. Milhocina, principal subproduto do processamento de amido de milho, é usada principalmente como suplemento alimentício para ruminantes, fonte de nutrientes para aves, na confecção de iscas atrativas para as moscas das frutas e fonte de nutrientes para o processo de fermentação industrial (Domingos, 2009). É uma substância complexa rica em aminoácidos, vitaminas e polipeptídeos e uma excelente fonte de nitrogênio orgânico (Xi *et al.*, 2013). Sendo uma fonte alternativa e econômica de vitaminas e nitrogênio, milhocina pode substituir os componentes de meio mais onerosos.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar a capacidade de *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 de crescer e produzir eritritol a partir de glicerol como fonte de carbono, utilizando milhocina como fonte de vitaminas e nitrogênio.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo

O micro-organismo utilizado no presente trabalho é uma cepa selvagem de *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 selecionada de um estuário no Rio de Janeiro, Brasil

(Haegler e Mendonça-Haegler, 1981) e identificada pelo Instituto de Microbiologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

2.2 Preservação da Cultura

As células foram conservadas por repiques regulares em placas petri com meio YPD (“*Yeast Extract, Peptone, Dextrose*”) contendo (em p/v): extrato de lêvedo 1%, peptona 1%, glicose 2% e solidificado com agar 1,5%. Após incubação a 28 °C (Barth e Gaillardin, 1997) por 48 horas na estufa, as culturas foram refrigeradas a 4°C por 3 meses.

2.3 Obtenção do Inóculo

A partir das placas contendo as células preservadas em meio sólido YPD (descrito no item 2.2) inoculou-se, de forma estéril com uma alça de platina, 50 mL de meio de cultivo contendo (em p/v): glicerol 5%, extrato de lêvedo 0,5% e peptona 0,5% em erlenmeyers de 250 mL o qual foi incubado em um agitador rotatório a 28 °C e 250 rpm de agitação por 72 h. Após este período, a absorvância (600 nm) de uma amostra desse cultivo foi determinada e, em seguida, calculou-se o volume de meio de cultivo que serviu de inóculo dos experimentos que serão descritos nos itens posteriores. O volume deste inóculo era suficiente para obter-se uma concentração inicial de células de, aproximadamente, 0,1 mg p.s.cel/mL nos meios de cultivo.

2.4 Produção de eritritol usando milhocina como fonte de vitaminas e nitrogênio por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682

Sendo a milhocina uma fonte natural e de baixo custo, o objetivo desta seção foi avaliar a sua influência como fonte de vitaminas e nitrogênio na produção de eritritol por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682.

Os experimentos foram conduzidos em erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura usando glicerol como fonte de carbono, inoculado com células cultivadas em meio descrito no item 2.3. Este meio de cultivo foi incubado em agitador rotatório (*shaker*) a 28°C e 250 rpm por 240 h com amostragem diária. A amostra era centrifugada a 15493g durante 5 min, sendo o sobrenadante congelado (-4°C) para posterior análise dos níveis de eritritol, manitol, ácido cítrico e glicerol. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Testes foram realizados com o meio de cultivo descrito por Tomaszewska et al. (2012), que consiste de (g/L): glicerol: 100; NH₄Cl: 4,56; MgSO₄.7H₂O: 1; extrato de lêvedo: 1; CuSO₄: 0,7x10⁻³; MnSO₄.H₂O: 32,6x10⁻³; NaCl: 25 g/L; 0,72M tampão fosfato, pH = 4,3 com algumas modificações:

- NaCl foi substituído por PEG 2000 (22,84%), pois em estudo anteriores, a produção de eritritol por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 foi superior quando PEG 2000 foi utilizado como agente de estresse osmótico (Da Silva et al.

2018). Este teste foi utilizado como experimento controle.

- Extrato de lêvedo foi substituído por milhocina (10 g/L) na presença ou ausência de NH4Cl (4,56 g/L).

2.5 Métodos Analíticos

Quantificação do crescimento celular: A cinética do crescimento celular foi determinada em espectrofotômetro por medidas de densidade óptica a 600 nm e esses valores foram convertidos para mg p.s/mL usando-se um fator de conversão previamente determinado pela curva de peso seco.

Determinação das concentrações de glicerol, eritritol, ácido cítrico e manitol: foram determinadas por HPLC utilizando uma coluna AMINEX HPX-87H (Bio-Rad), tendo como fase móvel TFA 15mM (0,60 mL/min) e temperatura da coluna igual a 65 °C. Utilizou-se detector de índice de refração (40°C).

2.6 Cálculo dos Parâmetros de Produção

Para comparação entre os testes experimentais, parâmetros de produção como rendimento de eritritol a partir do consumo de glicerol ($Y_{P/S}$), fator de conversão de glicerol em células ($Y_{X/S}$), rendimento de eritritol em relação à biomassa formada ($Y_{P/X}$) e produtividade volumétrica de eritritol (Q_E) foram determinados. Seguem as Equações utilizadas no cálculo destes parâmetros.

$$Y_{P/S} = \frac{P_E}{S_0 - S_f} \quad (1)$$

$$Y_{X/S} = \frac{X_f - X_0}{S_0 - S_f} \quad (2)$$

$$Y_{P/X} = \frac{P_E}{X_f - X_0} \quad (3)$$

$$Q_E = \frac{P_E}{t_f} \quad (4)$$

Onde,

P_E : concentração de eritritol no tempo t_f (g/L); S_f : concentração do substrato glicerol no tempo t_f (g/L); S_0 : concentração inicial de substrato no tempo t_0 (g/L); t_f : tempo de fermentação (h); X_f : concentração celular no tempo de fermentação t_f (g/L); X_0 : concentração inicial celular no tempo t igual a zero (g/L).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a possibilidade de uso de milhocina como fonte de vitaminas e nitrogênio, testes experimentais foram realizados substituindo extrato de lêvedo na presença ou ausência de NH_4Cl por milhocina, utilizando glicerol como fonte de carbono por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682. O meio de cultivo utilizado foi o descrito por Tomaszewska *et al.* (2012), porém utilizando PEG 2000 como agente de estresse osmótico, uma vez que a produção de eritritol foi aumentada quando NaCl foi substituído por PEG 2000 (Da Silva *et al.* 2018).

Comparando os experimentos, eritritol foi produzido quando *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 foi cultivada em meio contendo milhocina ambos na presença ou ausência de NH_4Cl , mas foi ligeiramente menor na ausência (Tabela 1). Milhocina é um componente complexo rico em vitaminas, como tiamina e inositol, e nitrogênio que são essenciais ao metabolismo dos micro-organismos produtores de eritritol. Logo, este subproduto forneceu quantidades suficientes destes nutrientes a *Y. lipolytica* IMUFRJ 50682 para que seu metabolismo fosse direcionado a produção de eritritol. Portanto, milhocina pode ser usada como fonte de vitaminas e nitrogênio, substituindo extrato de lêvedo e NH_4Cl na produção de eritritol por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682. O meio utilizado por Tomaszewska *et al.* (2012) é suplementado com os minerais cobre e manganês que são necessários, pois estão relacionados ao aumento da atividade da enzima eritrose redutase e aumento da permeabilidade do eritritol intracelular, respectivamente (Lee *et al.*, 2000). Este meio de cultivo também possui o mineral magnésio. Milhocina possui em sua composição todos estes minerais. Portanto, um estudo sobre a produção de eritritol utilizando milhocina também como fonte destes minerais se faz necessária.

Ácido cítrico não foi detectado no cultivo de *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 utilizando o meio descrito por Tomaszewska *et al.* (2012), usando PEG 2000 como agente de estresse osmótico e milhocina como fonte de vitaminas e nitrogênio, na presença e ausência de NH_4Cl . O pH do meio de cultivo foi ajustado para em torno de 4,3 uma vez que em valores próximos a neutralidade, o metabolismo de *Y. lipolytica* é induzido a produção de ácido cítrico.

Manitol, principal subproduto da fermentação de eritritol, não foi detectado no cultivo de *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 utilizando o meio descrito por Tomaszewska *et al.* (2012) com PEG 2000 e milhocina como fonte de vitaminas e nitrogênio, na presença e ausência de NH_4Cl . A ausência de produção de manitol foi devido ao estresse osmótico aplicado ao sistema por PEG, impedindo a formação deste subproduto.

Extrato de Lêvedo (g/L)	Milhocina (g/L)	NH ₄ Cl (g/L)	P _E (g/L)	Q _E (g/L.h)	Y _{E/S} (g/g)	Y _{E/X} (g/g)	Y _{X/S} (g/g)	pH ₀	pH [#]
1	0	4,56	28,36±1,73 ^a	0,12	0,36	14,19	0,03	4,34	3,16±0,00
0	10	4,56	23,34±0,15 ^b	0,11	0,77	10,85	0,07	4,38	3,60
0	10	0	21,79 ^a	0,09	0,74	5,54	0,13	4,40	3,80

Tabela 1 – Parâmetros e pH do processo de produção de eritritol por *Y.lipolytica* IMUFRJ 50682 cultivada em PEG 2000 (22,84%) com extrato de lêvedo e NH₄Cl (Da Silva *et al.* 2018) ou milhocina na presença ou ausência de NH₄Cl. Os dados são referentes ao tempo de produção máxima de eritritol.

^a: calculado em 240 h; ^b: calculado em 214 h; pH[#]: pH em 240 h.

4 | CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que eritritol pode ser produzido por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682, substituindo os componentes de meio convencionais extrato de lêvedo e NH₄Cl por milhocina como fonte de vitaminas e nitrogênio. Sendo a milhocina um subproduto da indústria de amido de milho, a sua utilização como nutriente pode agregar valor significativo ao processo de obtenção de eritritol já que o custo de obtenção de eritritol utilizando os componentes convencionais é mais oneroso. O efeito da milhocina sob pressão osmótica na produção dos subprodutos ácido cítrico e manitol foi investigada. Ambos os subprodutos não foram detectados quando milhocina foi usada substituindo o extrato de lêvedo. Portanto, a milhocina pode ser usada como uma fonte econômica alternativa de vitaminas e nitrogênio.

REFERÊNCIAS

- Barth, G. & Gaillardin, C. (1997). **Physiology and genetics of the dimorphic fungus *Yarrowia lipolytica*.** FEMS Microbiology Reviews, 19, 21-237.
- Da Silva, L.V., Coelho, M.A.Z., Amaral, P.F.F., Fickers, P. (2018). Bioprocess Biosyst Eng (2018). <https://doi.org/10.1007/s00449-018-2001-5>.
- DOMINGOS, M. (2009). **Estudo do crescimento de *Ceriporiopsis subvermispora* em culturas submersas para a produção de inóculos destinados ao processo de biopolpação.** Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Industrial, p. 1 – 77.
- Ferreira, T. F. (2009). **Emprego de *Yarrowia lipolytica* na degradação de óleo cru.** (Dissertação de mestrado). Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Fickers, P., Benetti, P. H., Wache, Y., Marty, A., Mauersberger, S., Smit, M.S., Nicaud, J.M.

- (2005). **Hydrophobic substrate utilization by the yeast *Yarrowia lipolytica*, and its potential applications.** *FEMS Yeast Research*, 5, 527–543.
- Goossens J, Röper H. (1994). **Erythritol: a new sweetener.** *Food Sci Technol Today*, 8(3), 144-149.
- Haegler, A.N., & Mendonça-Haegler, L.C. (1981). **Yeasts from marine and estuarine waters with different levels of pollution in the state of Rio de Janeiro, Brazil.** *Appl. Environ. Microbiol.*, 41(1), 173-178.
- Kawasse, F. M., Amaral, P. F.; Rocha-Leão, M. H. M., Amaral, A. L., Ferreira, E. C., Coelho, M. A. Z. (2003). **Morphological analysis of *Yarrowia lipolytica* under stress conditions through image processing.** *Bioprocess Biosyst Eng.*, 25, 371-375.
- Kim, S.Y., Lee, K. H., Kim, J. H., Oh, D. K. (1997). **Erythritol production by controlling osmotic pressure in *Trigonopsis variabilis*.** *Biotechnology Letters*, 19 (8), 727-729.
- Lee, J.K., Ha, S.J., Kim, S.Y., & Oh, D.K. (2000). **Increased erythritol production in *Torula sp.* by Mn²⁺ and Cu²⁺.** *Biotechnol Lett.*, 22, 983–986.
- Money, N. P. (1989). **Osmotic Pressure of Aqueous Polyethylene Glycols.** *Plant Physiol*, 91, 766-769.
- Moon, H. J., Jeya ,M., Kim, I. W., Lee, J. K. (2010). **Biotechnological production of erythritol and its applications.** *Appl Microbiol Biotechnol*, 86(4), 1017-1025.
- Savergave, L.S., Gadre, R.V., Vaidya, B.K., Narayanan, K. (2011). **Strain improvement and statistical media optimization for enhanced erythritol production with minimal by-products from *Candida magnoliae* mutant R23,** *Biochem. Eng. J.*, 55, 92–100.
- Stanley, C. B., Strey, H. H. (2003). **Measuring Osmotic Pressure of Poly(ethylene glycol) Solutions by Sedimentation Equilibrium Ultracentrifugation.** *Macromolecules*, 36, 6888-6893.
- Tomaszewska, L., Rywińska, A., & Gładkowski, W. (2012). **Production of erythritol and mannitol by *Yarrowia lipolytica* yeast in media containing glycerol.** *J Ind Microbiol Biotechnol*, 39, 1333-1343.
- Tomaszewska, L., Rywińska, A., Rymowicz, W. (2014a). **High selectivity of erythritol production from glycerol by *Yarrowia lipolytica*.** *Biomass & Bioenergy*, 62, 309-320.
- Tomaszewska, L., Rakicka, M., Rymowicz, W., Rywińska, A. (2014b) **A comparative study on glycerol metabolism to erythritol and citric acid in *Yarrowia lipolytica* yeast cells.** *FEMS Yeast Res*, 14, 966–976.
- Xi, Y., Chen, K., Dai, W., Ma, J., Zhang, M., Jiang, M., Wei, P., & Ouyang, P.K. (2013). **Succinic acid production by *Actinobacillus succinogenes* NJ113 using corn steep liquor powder as nitrogen source.** *Bioresource Technol.*, 136, 775–779.
- Zinjarde, S. S. (2014). **Food-related applications of *Yarrowia lipolytica*.** *Food Chemistry*, 152, 1–10.

OBSERVAÇÃO

O presente trabalho que vos envio foi apresentado no **XXVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.**

Luana Vieira da Silva, Maria Alice Zarur Coelho, Priscilla Filomena Fonseca Amaral, *Patrick Fickers* (2018). **UTILIZAÇÃO DO RESÍDUO MILHOCINA COMO FONTE DE NITROGÊNIO ORGÂNICO E VITAMINAS e POLIETILENOGLICOL COMO AGENTE DE ESTRESSE OSMÓTICO NA PRODUÇÃO DE ERITRITOL POR *Yarrowia lipolytica*.** XXVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ANÁLISE DE MOBILIÁRIO HOSPITALAR COM INCIDÊNCIA EM EVENTOS ADVERSOS

Lígia Reis Nóbrega

Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – Minas Gerais

Selma Terezinha Milagre

Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – Minas Gerais

RESUMO: Mobiliário hospitalar são os móveis utilizados em Estabelecimentos Assistenciais de Saúde (EAS) para auxiliar no atendimento ao paciente, tais como, cadeira de rodas, cama hospitalar, mesa de refeição, entre outros. Móveis hospitalares de qualidade não estão ligados a luxo e sim a conforto, segurança e boa condição na prestação de serviço. Um mobiliário adequado contribui para a eficiência na realização de tarefas executadas pelos profissionais de saúde. Os eventos adversos (EAs) em hospitais, ou seja, as ocorrências de uma complicação indesejada decorrente do cuidado prestado aos pacientes, não atribuída à evolução natural da doença de base, são associados a fatores intrínsecos que são vinculados ao paciente (idade avançada e mobilidade reduzida) e fatores extrínsecos que são vinculados ao ambiente físico (altura inadequada do mobiliário, mobiliário obsoleto, leitos altos e/ou sem grades) e demais características organizacionais. Alguns móveis hospitalares podem causar EAs como quedas,

fraturas e hematomas. Esses acidentes podem ser prevenidos quando sua causa origem é detectada e tratada previamente. Neste contexto, o objetivo desse projeto será realizar uma avaliação do mobiliário hospitalar de um hospital público de grande porte e alta complexidade.

PALAVRAS-CHAVE: Mobiliário Hospitalar, Segurança do Paciente, Evento Adverso

ABSTRACT: Hospital Furniture is the furniture used in Health Care Facilities (HCF) to help the patients' care, for example, wheelchair, hospital beds, meal table, etc. Quality Hospital Furniture are not related with lux, but comfort, security and good condition to carry out the services. An adequate furniture contributes with the efficiency in the health professionals' tasks. The Adverse Events (AEs) in hospitals, occurrences of an unwanted complication resulting from the care provided to the patients, not attributed to the natural evolution of the underlying disease, are associated with intrinsic factors from the patient (advanced age and reduced mobility) and extrinsic factors from the environment (inadequate height of the furniture, obsolete furniture, beds without grids) and other organizational characteristics. Some hospital furniture can cause AEs, such falls, fractures and bruises. These accidents can be prevented when their source is detected and treated in

advance. In this context, the aim of this project will be to carry out an evaluation of the hospital furniture of a high complexity public hospital.

KEYWORDS: Hospital Furniture, Patients Security, Adverse Events

1 | INTRODUÇÃO

Mobiliário Hospitalar são os móveis utilizados em Estabelecimentos Assistenciais de Saúde (EAS) para auxiliar no atendimento ao paciente tais como, cama hospitalar, poltrona de acompanhante, mesa de alimentação, entre outros. Móveis hospitalares de qualidade não estão ligados a luxo e sim a conforto, segurança e boa condição na prestação de serviço.

Um mobiliário adequado contribui para o bem-estar do paciente e de seu acompanhante e com a eficiência na realização de tarefas executadas pelos profissionais de saúde. Ao passo que o mobiliário indevido ou inapropriado prejudica o paciente e seu acompanhante durante a internação, dificulta a atuação do profissional de saúde, oferece riscos ergonômicos e corrobora para ocorrência de eventos adversos.

Os eventos adversos em hospitais são as ocorrências de uma complicações indesejada decorrente do cuidado prestado aos pacientes, não atribuída à evolução natural da doença de base. Eles são associados a fatores intrínsecos, que são vinculados ao paciente (idade avançada e mobilidade reduzida), e fatores extrínsecos, que são vinculados ao ambiente físico (altura inadequada do mobiliário, mobiliário obsoleto e mal conservado, leitos altos e/ou sem grades), e demais características organizacionais (Jesus, 2014)(Zottiz *et al.*, 2010).

Alguns móveis hospitalares podem causar eventos adversos como quedas, fraturas e hematomas e esses acidentes podem ser evitados quando sua causa origem é detectada e tratada previamente.

De forma semelhante a que o ambiente influencia na segurança dos pacientes, ele também influencia na atuação dos funcionários do EAS. A ergonomia dos profissionais de saúde é um tema que merece atenção. Os profissionais de saúde vivem uma rotina intensa e diversas reclamações podem ser eliminadas ou bastante reduzidas com designs ergonomicamente corretos de equipamento e mobiliário que suportem e garantam uma manipulação segura do paciente (Stichler, 2013).

O Mobiliário Hospitalar, assim como os Equipamentos Médico-Assistenciais (EMAs), também possui fase de obsolescência, necessidade de manutenção e adequação ao ambiente e muita vezes esse cuidado é negligenciado. Sendo assim, se faz necessário realizar a avaliação da qualidade e do estado de conservação do mobiliário para verificar questões de ergonomia, desempenho, segurança e usabilidade.

Partindo disso, o objetivo principal desse trabalho foi realizar uma revisão da literatura, a fim de detectar fatores que possam influenciar na atuação do profissional de saúde, causar eventos adversos, oferecer riscos ergonômicos e comprometer a eficiência e eficácia do atendimento ao paciente.

Foram considerados nesse estudos os móveis presentes nos quartos de internação, ou seja, cama hospitalar, mesa de refeição, poltrona de acompanhante, armário para armazenamento de objetos pessoais, mesa de cabeceira, suporte de soro e escada auxiliar de dois degraus.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feita uma revisão sistemática, no período de 28 de fevereiro a 30 de abril de 2016, nas bases de dados *PubMed*, Google Acadêmico, *LILACS*, *BIREME* e *MedLine* buscando o tema mobiliário hospitalar relacionado à eventos adversos. A unidade de análise dessa pesquisa é um EAS público de grande porte e alta complexidade. A princípio a avaliação será realizada em um único setor de um hospital como projeto piloto, com meta de expansão da pesquisa em outros setores do hospital. Todo o estudo será baseado nas diretrizes do Ministério da Saúde sobre Avaliação de Tecnologias em Saúde. Para cada móvel será realizada uma análise estrutural, funcional, morfológica e técnica. Além disso, ergonomia, manutenção e usabilidade do móvel também serão avaliados.

3 | RESULTADOS

Foram encontrados 56 artigos e, após triagem e leitura foi avaliado que 16 artigos realmente são relevantes para esta pesquisa. Essa pesquisa permitiu comprovar, baseado em evidências, que o mobiliário hospitalar influencia diretamente na quantidade de eventos adversos que ocorrem em um EAS (Mahlmeister, 2010) (Boushon et al., 2012).

Um estudo realizado no Rio de Janeiro (Jesus, 2014) realizou um diagnóstico situacional sobre os riscos de queda considerando o ambiente e o mobiliário hospitalar (iluminação, corredores, banheiros, camas e escadas auxiliares) e em todos os itens avaliados houve uma inadequação. Já outro estudo, desenvolvido em um complexo hospitalar na Espanha (Parras, 2011) mostrou que 22% das quedas ocorrem quando o paciente está na cama e a explicação disso é a inadequação do móvel, como grades abaixadas e travas da cama na posição incorreta.

O meio onde o indivíduo está inserido pode tornar-se um importante predisponente a queda ou outros danos ao paciente, principalmente quando esse ambiente se encontra inadequado (O'Connor et al., 2006)(Dykes, 2010).

4 | CONCLUSÃO

Baseado nas evidências científicas, foi possível concluir que os EAs (principalmente quedas) dependem da qualidade, características e disposição do mobiliário hospitalar

nos leitos dos EASs, influenciando assim não somente na segurança do paciente como na ergonomia e nível de estresse da equipe que presta atendimento aos pacientes.

Esse projeto visa ainda (i) catalogar os móveis hospitalares usados atualmente no setor (Unidade de Internação); (ii) verificar a situação do mobiliário junto à Agência nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); (iii) classificar os móveis; (iv) realizar especificação técnica adequada para cada móvel e um fluxograma de especificação e (v) substituir a especificação atual, se necessário.

REFERÊNCIAS

Boushon, B et al. **How-to Guide: Reducing Patient Injuries from falls.** Cambridge, MA: Institute for Healthcare Improvement, 2012.

Dykes, P. C. et al. **Fall prevention in acute care hospitals: a randomized trial.** JAMA, v. 304, n17, p. 1912-8, 2010.

Jesus J.B., Botelho H.M.S.B., Aguiar B.G.C., Pereira G.L., Leite, J.L. **Avaliação do ambiente físico e mobiliário quanto ao risco de quedas: diagnóstico situacional.** Revista ACRED-ISSN, P. 85-99, 2014.

Mahlmeister, L.R. **Human factors and error in perinatal care: the interplay between nurses, machines, and the work environment.** The Journal of perinatal & neonatal nursing, v. 24, n. 1, p. 12-21, 2010.

O'Connor, P. et al. **Taking aim at fall injury adverse events: best practices and organizational change.** Montreal: Healthcare Quarterly, v. 9, n. Sp, 2006.

Parras, M.L.J. et al. **Incidencia de Caídas en un Hospital de nivel 1: Factores Relacionados.** Espanha: Gerokomos Revista de la Sociedad Española de Enfermería Geriátrica y Gerontológica. v.22, n4, p. 167-173, 2011.

Stichler, J.F. **Healthy work environments for the ageing nursing workforce.** Journal of nursing management, v. 21, n. 7, p. 956-963, 2013.

Zottis G.A., Ribeiro M.L., de Moura P.M. **Rotina de Prevenção de quedas.** Grupo Hospitalar Conceição Hospital Cristo Redentor. p. 1-14, 2010.

ANÁLISE DO PROCESSO TECNOLÓGICO EM SAÚDE NO SERVIÇO DE OXIGENOTERAPIA DOMICILIAR

Bruno Pires Bastos

Florianópolis – Santa Catarina

Labergo – Laboratório de Ergonomia,
Departamento de Engenharia de Produção
e Sistemas, Universidade Federal de Santa
Catarina

Renato Garcia Ojeda

Universidade Federal de Santa Catarina, Instituto
de Engenharia Biomédica
Florianópolis – Santa Catarina

à saúde. Do ponto de vista da engenharia clínica, recomendam-se melhorias no processo de gerenciamento dos equipamentos inserindo indicadores de acompanhamento das empresas, custos, qualidade e índice de falhas de modo fornecer qualidade e confiabilidade no processo tecnológico desta modalidade de atendimento domiciliar.

PALAVRAS-CHAVE: Processo tecnológico em saúde, engenharia clínica, oxigenoterapia domiciliar, atenção domiciliar.

RESUMO: As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) estão entre as principais causas de internações hospitalares. O custo individual do tratamento de uma doença crônica ainda é bastante alto para o sistema público de saúde. O Estado de Santa Catarina oferece o serviço de oxigenoterapia domiciliar (SOD), para atender pacientes que sofrem com problemas respiratórios. O objetivo deste trabalho é realizar uma análise documental para compreender como é realizado o gerenciamento da tecnologia médica no serviço de oxigenoterapia domiciliar. A abordagem desta análise é compreender como é realizado o gerenciamento da tecnologia médica no serviço de oxigenoterapia domiciliar. Com o objetivo de recomendar melhorias quanto a gestão e gerenciamento dos equipamentos médico-domiciliares nesta modalidade de assistência

ABSTRACT: Chronic noncommunicable diseases (NCDs) are still among the leading causes of hospital admissions, the individual cost of a chronic disease is still quite high although there is a public health system free and universal. The Santa Catarina state Brazil offers the home oxygen therapy service, to assist patients suffering from respiratory problems. The approach of this analysis is to understand how it is done the management of medical technology in the home oxygen therapy service. Improvements in equipment management process by inserting monitoring indicators of businesses, cost, quality, mode of failure rates provide quality and reliability in the technological process of this home care modality is recommended from the point of view of clinical engineers.

KEYWORDS: Technological process in health,

1 | INTRODUÇÃO

A mudança do perfil epidemiológico e o envelhecimento da população são fatores que podem influenciar nas políticas de saúde pública. Estes fatores influenciam indiretamente no modelo e estratégias adotadas na gestão dos recursos remetidos para o sistema público de saúde. Segundo um relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) foram responsáveis por 38 milhões de mortes no ano de 2012 onde 16 milhões (42%) eram prematuras e evitáveis (WHO, 2014). No Brasil, as DCNT constituem o problema de saúde de maior magnitude relevante e respondem por mais de 70% das causas de mortes. Em 2013, a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) identificou que 45% da população adulta brasileira referiu ter pelo menos uma DCNT, sendo as mais frequentes hipertensão, dor na coluna ou nas costas, diabetes, artrite ou reumatismo, depressão, e bronquite ou asma (BRASIL, 2014). A ausência de ações baseadas em evidências, a custos humanos, sociais e econômicos das doenças não transmissíveis continuarão a crescer e sobrecarregar a capacidade dos países em resolver os problemas de saúde (WHO, 2014). No Brasil as doenças crônicas não transmissíveis estão entre as principais causas de internações hospitalares, o custo individual de uma doença crônica ainda é alto para o sistema público de saúde (BRASIL, 2011). Existem deficiências nos sistemas de saúde no âmbito mundial apesar do aumento dos investimentos na rede pública e privada. Em muitos países os sistemas de saúde continuam subfinanciados e lutam para dar cobertura para os serviços básicos de saúde. Isso acontece porque o acesso aos serviços ainda é considerado baixo para o desenvolvimento nas zonas rurais e para as pessoas mais pobres. A infraestrutura dos serviços que prestam assistência à saúde pode ser de qualidade inferior devido a uma gestão ineficiente e por capacidades técnicas gerenciais defasadas (WHO, 2015a).

O Estado de Santa Catarina vem desenvolvendo ações relacionadas as doenças respiratórias desde 1991. O Serviço de Oxigenoterapia Domiciliar Prolongada (SOD) foi estruturado nos anos 2000, e no ano de 2015 incluiu a ventilação mecânica não invasiva no SOD. Este serviço oferece fontes de oxigênio para pacientes com doenças pulmonares obstrutivas crônicas (DPOC) (SES-SC, 2004). O objetivo da oxigenoterapia é corrigir a hipoxemia grave que os pacientes frequentemente apresentam em estágios avançados da doença e assim melhorar a oxigenação dos tecidos (ORTEGA RUIZ et al., 2014) Essa terapia depende de uma fonte de oxigênio externa, capaz de fornecer uma concentração de oxigênio maior que o percentual presente no ar ambiente. O SOD, disponibiliza ao paciente tecnologia médica como forma de auxilio no tratamento. O uso de tecnologias médicas pode ser considerado uma estratégia para aumentar a eficiência dos cuidados em saúde (SU et al., 2014).

Entretanto, o uso inadequado representa um grande fator de risco à vida dos pacientes. Para diminuir os riscos associadas à oxigenoterapia domiciliar prolongada (ODP), entre eles: riscos físicos (incêndios e explosões), efeitos funcionais e efeitos tóxicos. A equipe de atenção domiciliar precisa realizar treinamento e orientar os pacientes, familiares e/ou cuidadores quanto ao manuseio do equipamento médico no domicílio (MS, 2012). Moraes (2007) define processo tecnológico em saúde (PTS), como a interação entre recursos humanos e a tecnologia-médico hospitalar (TMH), ou seja, a interação entre os recursos-humanos, os equipamentos médico-hospitalares e a infraestrutura necessárias para a transformação da saúde do paciente dentro de um ambiente de assistência em saúde (MORAES, 2007) nos países em desenvolvimento, o gerenciamento inadequado dos equipamentos médico-hospitalares é a causa principal da inoperância de cerca da metade destes equipamentos, na assistência em saúde. Isto gera dificuldades severas no esforço para a melhoria na assistência em saúde desses países. Como forma de integração neste contexto, a Engenharia Clínica deve analisar os problemas com os equipamentos sob uma perspectiva de processo. Para isto, esta tese define o conceito de processo tecnológico em saúde, como a interação entre os recursos humanos e a tecnologia médico-hospitalar (TMH). A modalidade de atenção domiciliar, é considerada um desafio para Engenharia Clínica. Devido à necessidade de implementar processos de gestão de tecnologia capazes de contribuir com a qualidade, confiabilidade e segurança ao paciente no processo tecnológico em saúde desta modalidade. Este estudo tem como base uma análise documental, no qual o objetivo consiste em realizar uma busca exploratória para identificar como é realizado o gerenciamento dos equipamentos médicos assistenciais no serviço de oxigenoterapia do Estado de SC- Brasil, sob a perspectiva da engenharia clínica.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento desta análise foi estruturado por etapas tendo como base a ferramenta de gestão o ciclo Plan-Do-Check-Action (PDCA) ou em português (planejar,fazer, verificar, agir) PDCA (WERKEMA, 2013) conforme figura 1.

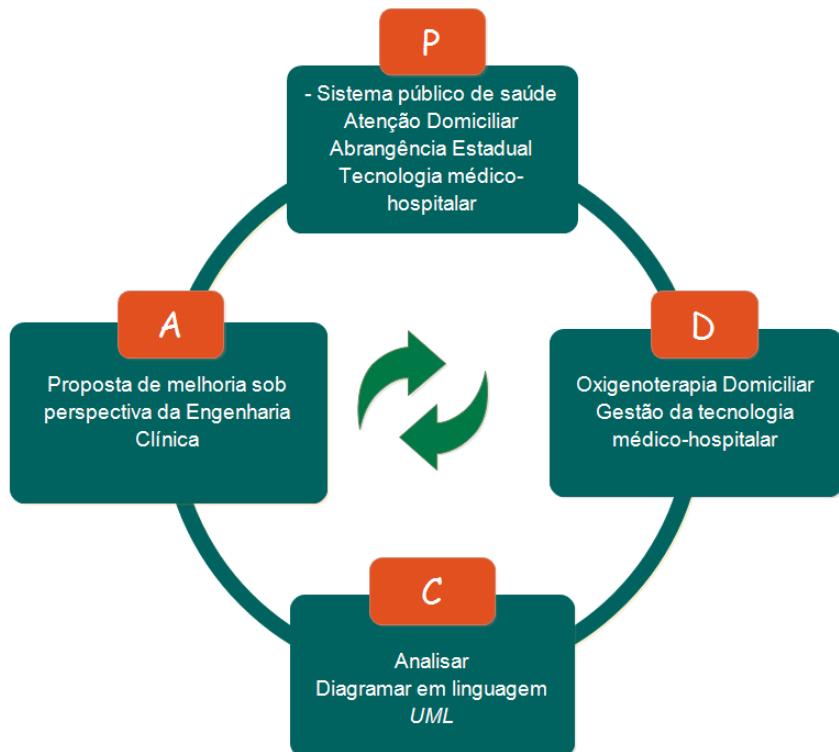


Figura 1 Ciclo PDCA para análise do processo tecnológico na oxigenoterapia domiciliar

A etapa de planejamento (P) foi feita para um serviço do sistema público de saúde. Este serviço precisa ser oferecido na modalidade de atenção domiciliar e utilizar tecnologia médico hospitalar ou equipamento médico assistencial. Por tratar-se do ambiente domiciliar utilizamos o termo de equipamento médico assistencial.

Na segunda etapa (D) foi escolhido um serviço que possui abrangência estadual e fornece equipamentos médicos assistenciais no domicílio como forma de complementar o tratamento dos pacientes com doença respiratória crônica não transmissível.

A segunda etapa (C) faz uso da ferramenta *UML* (*Unified Modeling Language*) ou linguagem de modelagem unificada (ROUSSEV; AKELLA, 2006), para diagramar os atores dentro do Processo Tecnológico em Saúde (PTS) e suas atividades dentro de cada nível de gestão. A fim de contribuir com a qualidade do PTS, a análise é embasada em materiais bibliográficos de domínio público.

A quarta e última etapa (A) consiste em desenvolver uma proposta de ações que possam ser incorporadas para melhorar a qualidade e segurança do PTS da oxigenoterapia domiciliar prolongada por meio de um modelo de gestão de tecnologia médica. Abordando os domínios de Infraestrutura, Recursos Humanos e Tecnologia conforme define (Moraes, 2007). No qual a infraestrutura precisa estar adequada para receber os equipamentos médicos. Os profissionais de saúde, pacientes, cuidadores precisam ser treinados e capacitados para fazer uso dos equipamentos médicos assistenciais em domicílio de modo seguro. A tecnologia precisa funcionar dentro das especificações técnicas conforme manual do fabricante, ser submetida a testes de desempenho e segurança para verificar a confiabilidade metrológica do equipamento médico assistencial utilizado no ambiente domiciliar. Moraes (2007) afirma que o

equilíbrio entre a tecnologia, infraestrutura e recursos humanos pode contribuir com a qualidade, segurança e eficácia do processo tecnológico em saúde.

3 | RESULTADOS

A análise do processo tecnológico em saúde do serviço de oxigenoterapia domiciliar (SOD), foi realizada com base na diretriz publicada pela Secretaria do Estado de Saúde do Estado de Santa Catarina (SES-SC, 2004). Foi mapeado as possíveis atividades na qual a Engenharia Clínica possa contribuir. Do mesmo modo, é possível identificar os principais atores envolvidos na gestão da tecnologia médica.

O SOD divide-se em três níveis de gestão. Gestão Municipal, Gestão Regional e Gestão Estadual.

No nível de gestão municipal ocorre o início do processo com a prescrição do médico para incluir o paciente no serviço de oxigenoterapia domiciliar prolongada (ODP). Conforme diagrama *UML*, figura 2.

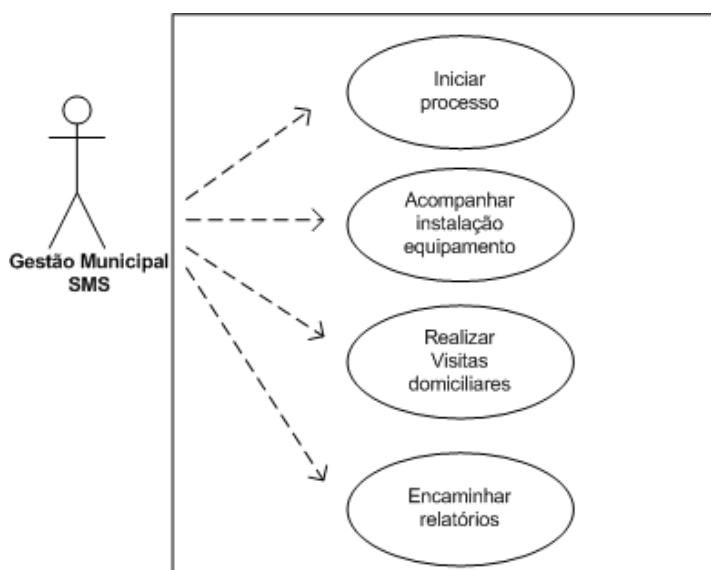


Figura 2 Atividades Gestão Municipal SOD

O início do processo no SOD pode ser oriundo do hospital ou da Unidade Básica de Saúde (UBS). Após o parecer positivo do médico, o pedido segue para a Secretaria de Desenvolvimento Regional (SDR). Em seguida, o pedido é encaminhado para a Secretaria Estadual de Saúde (SES). O pedido é avaliado e pode ser autorizado ou negado. As atribuições da gestão municipal por meio da Secretaria Municipal de Saúde (SMS), referem-se ao acompanhamento da instalação do equipamento em domicílio, realização de visitas domiciliares e geração de relatórios mensais para SDR.

No nível de gestão regional a Secretaria de Desenvolvimento Regional (SDR) recebe todos os processos/(pedidos) de ODP oriundos de Secretarias Municipais de Saúde. Realiza a análise dos processos para encaminhar até a gerência do SOD no

nível estadual conforme diagrama *UML*, figura 3

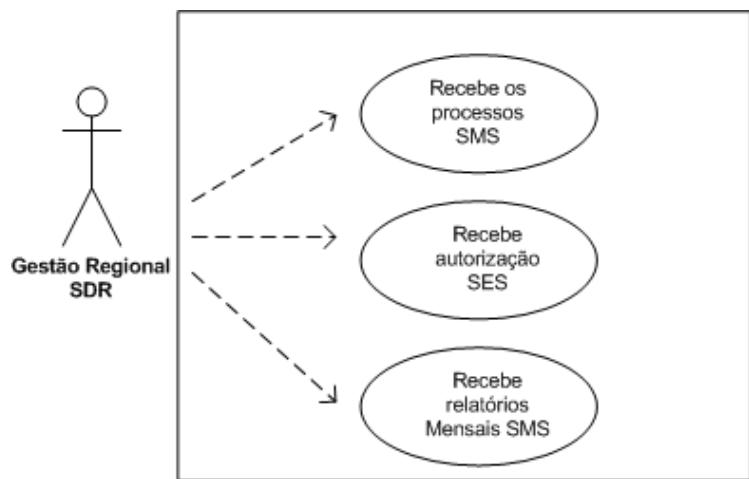


Figura 3 Atividade Gestão Regional SOD

A SDR também recebe os relatórios mensais oriundos dos municípios. Quando o pedido/ processo é deferido a favor do paciente, a SDR encaminha a autorização do SOD para as secretarias municipais. Nos níveis municipais, as secretarias contatam o paciente e a empresa para a instalação do equipamento médico assistencial em domicílio.

Na Gestão Estadual, a Secretaria Estadual de Saúde (SES) é responsável por receber os pedidos de ODP oriundos da Secretaria Municipal de Saúde e Secretaria de Desenvolvimento Regional. Conforme diagrama *UML*, figura 4. Neste nível, a gerência do SOD analisa os processos/pedidos para concessão da oxigenoterapia domiciliar prolongada. Emite guia de autorização para empresa fornecedora de equipamentos médicos assistenciais no domicílio. Avalia a renovação do processo/(pedido) do usuário (para mantê-lo ou não no serviço) e suspender o paciente da oxigenoterapia quando receber alta, ou vier a óbito.

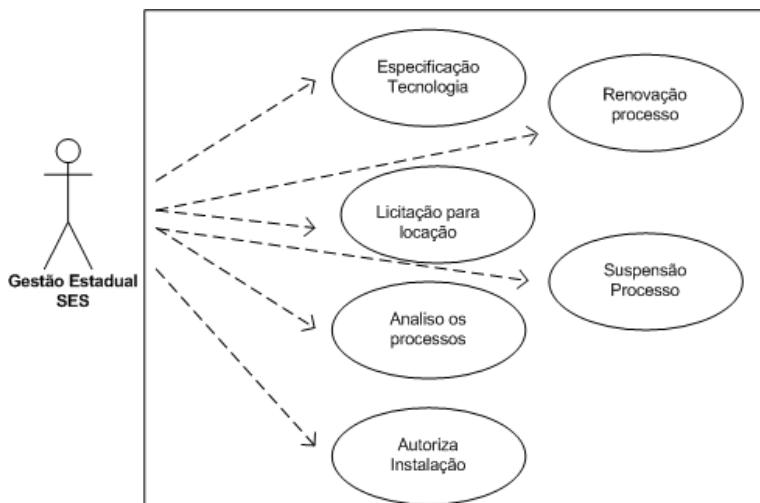


Figura 4 Atividade de Gestão Estadual SOD

Em casos de desistência do tratamento, ou quando o paciente não fizer uso do

equipamento conforme prescrição médica. As fontes de oxigênio são disponibilizadas aos pacientes por meio de contrato por comodato com empresa terceirizada.

Os equipamentos médicos disponibilizadas em domicílio por meio de regime comodato com empresa terceira são: concentradores de oxigênio, dispositivos para ventilação mecânica ou *Continuous Positive Airway Pressure* (CPAP) em português (Pressão Positiva Contínua nas Vias Aéreas), *Bilevel Positive Airway Pressure* (BIPAP). Diante do contexto modelado e analisado, percebe-se a dinamicidade dos processos. Com isso, considerando a definição do PTS no âmbito do modelo de gestão de GTMH aplicado pela Engenharia Clínica, observa-se que a infraestrutura domiciliar quanto as instalações elétricas precisam estar conforme a norma NBR5410 – instalações elétricas residenciais. A tecnologia, neste estudo caso, fonte de oxigênio/concentrador de oxigênio deve estar funcionando conforme os critérios e parâmetros da IEC 60601-1 Parte 1 requisitos para segurança; IEC 60602-2 Parte 1-2 requisitos gerais para segurança- padrão colateral e compatibilidade eletromagnética e Norma ISO 8359/2009 concentrações de oxigênio para uso médico (BRITISH STANDARD, 2009). Para uso adequado dos equipamentos e eficácia do tratamento em domicílio, é de fundamental importância que os profissionais de saúde, cuidadores e pacientes sejam treinados e capacitados a fim de proporcionar a segurança de todos os envolvidos no PTS.

A qualidade do processo tecnológico em saúde deve-se ao equilíbrio entre os domínios de infraestrutura, recursos humanos e tecnologia conforme Moraes (2007). Assim, a infraestrutura tem que estar adequada e proporcionar o funcionamento seguro dos equipamentos médicos, os recursos humanos aptos a utilizar a tecnologia. A tecnologia precisa atender as necessidades dos pacientes e seu desempenho estar dentro das especificações supracitadas. Deste modo é possível planejar e avaliar o custo-benefício do processo tecnológico em saúde da oxigenoterapia domiciliar e promover a qualidade e confiabilidade neste processo.

4 | DISCUSSÃO

Sob a perspectiva da engenharia clínica, o processo tecnológico em saúde da oxigenoterapia domiciliar oferece oportunidades de melhoria no âmbito da gestão dos equipamentos médico assistenciais utilizados em domicílio.

Analizando cada nível de gestão do SOD: Gestão Municipal, Gestão Regional e Gestão Estadual, foi possível classificar as melhorias dentro de cada domínio do PTS. No domínio da infraestrutura, a gestão da oxigenoterapia poderia ser verticalizada, propiciando maior agilidade no processo de inclusão e exclusão dos pacientes. Do modo como o processo é conduzido, nos níveis de gestão do SOD, a tomada de decisão está centralizada em um único nível o que pode acarretar em um elevado tempo de espera para o paciente. Como exemplo, um pedido de adesão ao SOD, no qual envolve à autorização da instalação do equipamento em domicílio, é analisado no

mínimo duas vezes antes de chegar ao nível de gestão estadual.

As visitas domiciliares para acompanhar o quadro clínico do paciente precisam ser realizadas com periodicidade. Além de acompanhar o quadro clínico do paciente, as visitas podem ser uma forma de certificar se empresa está atuando de forma adequada. Verificar se o paciente faz uso do equipamento. Nos achados da literatura científica a Organização Mundial da Saúde (OMS), faz um alerta para o uso de concentradores de oxigênio. A taxa de fluxo necessária e a concentração do oxigênio fornecido podem variar dependendo da idade e do quadro clínico do paciente (WHO, 2015b). Os principais efeitos adversos são derivados de uso inadequado dos equipamentos. O oxigênio pode causar lesão pulmonar, em alguns casos a lesão pode ser irreversível. Também existe o risco de explosão e incêndio do equipamento, principalmente quando o paciente fuma, enquanto faz uso do oxigênio (ORTEGA RUIZ *et al.*, 2014).

No que concerne aos Recursos Humanos, os pacientes, cuidadores e profissionais da saúde, precisam ser treinados e capacitados para utilizar o equipamento de modo adequado e seguro. O paciente/ cuidador deve saber higienizar o equipamento, reconhecer os sinais visuais e/ou sonoros que o equipamento venha a emitir em caso de alguma falha. O desafio dos profissionais de saúde na oxigenoterapia domiciliar está no desenvolvimento da educação permanente e do autocuidado dos pacientes (DÍAZ LOBATO; GARCÍA GONZÁLEZ; MAYORALAS ALISES, 2015).

No âmbito da tecnologia, a inexistência de programas de gestão de tecnologia médica-domiciliar dificulta o processo de tomada de decisão por parte dos gestores. No que concerne à incorporação e substituição de equipamentos e acompanhamento da empresa. Indicadores de desempenho podem ser incorporados, de modo a facilitar o registro e mapeando das falhas nos equipamentos. Para determinar a confiabilidade dos equipamentos médicos utilizados em domicílio, é necessário haver o registro e histórico de manutenção realizada nos mesmos. Com a falta destes registros, o desenvolvimento de análises e estudos, que permitam avaliar a qualidade e segurança dos equipamentos, fica comprometido. A diretriz do SOD menciona a geração de relatórios mensais dentro de cada nível de gestão. Estes relatórios têm por objetivo avaliar o estado clínico do paciente, identificar a periodicidade das visitas domiciliares realizadas por profissionais da saúde. Com isso, existe a necessidade de identificar o número de pacientes, perfil epidemiológico, faixa etária, para identificar as reais necessidades dos pacientes(DÍAZ LOBATO; GARCÍA GONZÁLEZ; MAYORALAS ALISES, 2015).

Diante de todos os expostos, para a engenharia clínica faz-se necessário identificar quais são as dificuldades dos pacientes e/ou cuidadores, quanto ao uso das tecnologias médicas associadas ao tratamento. Assim é possível elaborar ações que promovam a segurança de todos os envolvidos no PTS.

5 | CONCLUSÃO

A Engenharia Clínica na sua qualidade de apoio à tomada de decisão pode atuar com uma estrutura de fiscalização e orientação quanto ao uso adequado dos equipamentos médicos assistências do domicílio. Tanto para os profissionais da saúde quanto para os pacientes/cuidadores. Visando minimizar os riscos inerentes ao uso inadequado dos equipamentos, programas de controle de qualidade podem ser estabelecidos a fim de identificar o estado de funcionamento dos equipamentos médicos. Avaliar se estão em conformidades com as normas técnicas vigentes. Esta análise permitiu identificar a necessidade de atualizar a diretriz do SOD com as normas e portarias que regem a modalidade de atenção domiciliar e doenças crônicas. Abordar aspectos sobre o gerenciamento dos equipamentos médico assistenciais utilizados em domicílio. Criar indicadores para monitorar a atuação da empresa que fornece os equipamentos médicos assistenciais. Desenvolver novos estudos com o objetivo de identificar as possíveis dificuldades que os pacientes enfrentam quanto ao uso dos equipamentos médico assistenciais. A engenharia clínica pode ser um agente de transformação na oxigenoterapia domiciliar realizando ações que promovam a qualidade, segurança e confiabilidade no processo tecnológico em saúde.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde: 2013**. Acesso e utilização dos serviços de saúde. Acidentes e Violências. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2014. 106 p.
- BRASIL, M. D. S. **Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011 - 2022**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2011.
- BRITISH STANDARD. **Oxygen concentrators for medical use — Safety requirements (ISO 8359:1996)**, 2009.
- DÍAZ LOBATO, S.; GARCÍA GONZÁLEZ, J. L.; MAYORALAS ALISES, S. Controversias en oxigenoterapia continua domiciliaria. **Archivos de Bronconeumología**, v. 51, n. 1, p. 31–37, 2015.
- MORAES, L. **Metodologia para auxiliar na definição de indicadores de desempenho para a gestão da tecnologia médico-hospitalar**. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Santa Catarina., Florianópolis, 2007.
- MS. **Caderno de Atenção Domiciliar**. Ministério ed. Brasília: Secretaria de Atenção à Saúde, 2012.
- ORTEGA RUIZ, F.; DÍAZ LOBATO, S.; GALDIZ ITURRI, J. B.; GARCÍA RIO, F.; GÜELL ROUS, R.; MORANTE VELEZ, F.; PUENTE MAESTU, L.; TÀRREGA CAMARASA, J. Continuous Home Oxygen Therapy. **Archivos de Bronconeumología (English Edition)**, v. 50, n. 5, p. 185–200, 2014.
- ROUSSEV, B.; AKELLA, R. **Management of the Object-Oriented Development Process**. Hershey: Idea Group, 2006.

SES-SC. Diretrizes para oxigenoterapia domiciliar. Florianópolis: Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina, 2004.

SU, C. L.; LEE, C. N.; CHEN, H. C.; FENG, L. P.; LIN, H. W.; CHIANG, L. L. Comparison of domiciliary oxygen using liquid oxygen and concentrator in northern Taiwan. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 113, n. 1, p. 23–32, 2014.

WERKEMA, C. **Métodos PDCA e DMAIC e suas ferramentas analíticas**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

WHO. **Global status report on noncommunicable diseases 2014**. Genebra: WHO Press, 2014.

WHO. **Health in 2015: From MDGs, Millennium Development Goals to SDGs, Sustainable Development Goals**. 2. ed. Genebra: World Health Organization, 2015a.

WHO. **TECHNICAL SPECIFICATIONS FOR OXYGEN CONCENTRATORS**. Genebra: WHO Medical Device Technical Series, 2015b.

CARACTERIZAÇÃO DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA RECENTE SOBRE A ODONTOLOGIA HOSPITALAR NO BRASIL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Wagner Couto Assis

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Jequié - Bahia

Adriano Santos Sousa Oliveira

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Jequié - Bahia

Danilo Lyrio de Oliveira

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Jequié - Bahia

Ismar Eduardo Martins Filho

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Jequié - Bahia

Alba Benemérita Alves Vilela

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Jequié - Bahia

line, no âmbito da saúde, no período de 2006 a 2017 que trata sobre a odontologia hospitalar e sua importância? Selecionou-se 23 artigos distribuídos regionalmente da seguinte forma: 10 sudeste (43,5%), 07 sul (30,4%), 03 centro-oeste (13%), 02 nordeste (8,7%) e 01 norte (4,3%). É fato que o paciente hospitalizado, geralmente, encontra-se debilitado e sua terapêutica fica centrada unilateralmente na morbidade responsável pela internação, assim obtendo menor atenção aos cuidados de higiene oral. Portanto, reconhece-se que a inserção do cirurgião-dentista na equipe hospitalar possui um impacto relevante na condição de saúde do paciente e que a carência desses profissionais nos hospitais precisa ser superada.

PALAVRAS-CHAVE: Equipe hospitalar de odontologia, Unidade hospitalar de odontologia, Odontologia hospitalar

ABSTRACT: The dentistry can participate as an oral health consultant or service provider at the outpatient or hospital, aiming to obtaining the integrality of health care. The objective of this study was to characterize the scientific production the main aspects of hospital dentistry in Brazil. It is an integrative review, being carried out a research in the Virtual Health Library, in the databases MEDLINE, BBO and LILACS, in 2017, to answer the following guiding question: what is the characterization of the publications

RESUMO: O cirurgião-dentista pode participar como consultor da saúde bucal ou prestador de serviço a nível ambulatorial ou hospitalar, visando garantir a integralidade da atenção à saúde. Este estudo objetivou caracterizar a produção científica que aborda os principais aspectos sobre a odontologia hospitalar no Brasil. Trata-se de uma revisão integrativa, sendo realizada uma pesquisa na Biblioteca Virtual de Saúde, nas bases de dados MEDLINE, BBO e LILACS, em 2018, para responder a seguinte questão norteadora: qual a caracterização das publicações disseminadas em periódicos on-

disseminated in online journals, in the field of health, from 2006 to 2018, which deals with hospital dentistry and its importance?. We selected 23 articles distributed regionally as follows: 10 southeast (43,5%), 07 south (30,4%), 03 central west (13%), 02 northeast (8,7%) and 01 north (4,3%). The hospitalized patient is usually debilitated and their therapy is unilaterally focused on the morbidity responsible for hospitalization, thus obtaining less attention to oral hygiene care; Therefore, it is recognized that the insertion of the dental surgeon in the hospital team has a relevant impact on the patient's health condition and that the need for these professionals in hospitals needs to be overcome.

KEYWORDS: Dental Staff Hospital, Dental Service Hospital, Hospital Dentistry

1 | INTRODUÇÃO

A Odontologia Hospitalar é uma prática que propõe-se aos cuidados das alterações bucais que requer procedimentos de baixa, média ou alta complexidade, efetivados em âmbito hospitalar, cuja a finalidade é, com uma visão holística, melhorar a saúde em geral e a qualidade de vida dos pacientes hospitalizados, em que o cirurgião-dentista irá atuar no suporte à equipe nos cuidados assistenciais, dinamização e otimização do trabalho interdisciplinar, participando do processo de tomada de decisões, baseado na concepção de novos tratamentos e das condições fisiológicas e psicológicas dos pacientes, os proporcionando um maior conforto e bem-estar (COSTA et al., 2016; GAETTI-JARDIM et al.,2013).

A inclusão do cirurgião-dentista na equipe multiprofissional é salutar para a saúde do paciente, e permite uma troca de experiências e conhecimentos com demais profissionais do âmbito hospitalar, ressalta-se que a equipe deve garantir cuidado integral ao paciente, não levando em consideração apenas o motivo de internação, mas também intervir em todos sistemas para facilitar a recuperação e prognóstico (EUZÉBIO et al.,2013).

Diante das mudanças na rotina dos hábitos alimentares, medidas de higiene bucal cotidiana, modificação nos horários das refeições, terapêutica medicamentosa introduzida, faz-se imprescindível o acompanhamento dos cuidados com a saúde bucal dos indivíduos hospitalizados, principalmente nos pacientes em intubação orotraqueal, visando a manutenção de sua saúde em geral (COSTA et al., 2016). A precária condição de higiene bucal desencadeia uma série de doenças bucais tais como: a xerostomia, periodontite e gengivite potencializam os focos de infecções e propiciam maior risco de complicações sistêmicas (COSTA et al., 2013) como: pneumonia bacteriana, doença pulmonar obstrutiva crônica, doenças cardiovasculares e artrite reumatoide (ALMEIDA et al.,2006).

A correlação entre doenças bucais e sistêmicas, dos pacientes admitidos em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) revela que a depender da condição bucal presente no paciente, pode existir foco de disseminação de microrganismos patogênicos

(WAYAMA et al., 2014). Devido ao estado crítico, estes pacientes ficam mais suscetíveis às infecções e apresentam com maior risco agravamento, pois possuem barreiras imunológicas, expectoração e o reflexo da tosse afetados (SIQUEIRA et al., 2014).

Além disso, o uso de equipamentos de respiração artificial durante o tempo de permanência do paciente na UTI, acrescido ao uso de medicamentos, que diminuem o fluxo salivar, provocam a higiene bucal insuficiente, a diminuição da limpeza natural da boca ocasionada pela mastigação de alimentos duros e fibrosos, movimentação dos músculos da língua e das bochechas durante a fala, facilitam para a ampliação do biofilme, favorecendo a colonização bucal por patógenos respiratórios e uma maior resistência aos antibióticos (WAYAMA et al., 2014).

A descoberta dos antibióticos constituiu um progresso inquestionável da medicina do século XX (MACÃO et al., 2013). Desde então, a resistência bacteriana foi aumentando, ao longo das décadas, conforme a introdução e uso clínico dos novos antibióticos, até ser atualmente considerada como um dos problemas de saúde pública mais relevantes em torno do mundo (LOUREIRO et al., 2016). Esta resistência é caracterizada por mecanismos mediante os quais as bactérias diminuem a ação dos agentes antimicrobianos, podendo ser de forma natural ou adquirida (KOHL; PONTAROLO; PEDRASSANI, 2016).

Diante do exposto, o presente estudo tem por objetivo caracterizar a produção científica, no âmbito nacional e internacional em periódicos on-line, de 2006 a 2017, que abordam a temática odontologia hospitalar e sua importância na prevenção e melhora da condição sistêmica nos pacientes hospitalizados.

2 | MÉTODO

O delineamento metodológico deste estudo caracterizou-se por uma revisão integrativa da literatura. Para elaboração da revisão foram realizadas as seguintes etapas segundo: definição do tema; elaboração da questão norteadora; apontamento dos critérios de inclusão e exclusão; estabelecimento da estratégia de busca na literatura; categorização do conteúdo dos estudos; análise e interpretação dos resultados; discussão e apresentação dos resultados (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008) A questão norteadora proposta para o estudo foi a seguinte: qual a caracterização das publicações disseminadas em periódicos on-line, no âmbito da saúde pública, no período de 2006 a 2017 que aborda a odontologia hospitalar e sua importância.

A estratégia de busca de publicações que compuseram a revisão integrativa deste estudo, consistiu num levantamento na Biblioteca Virtual de Saúde nas bases de dados eletrônicas *LILACS* (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), *BBO* (Biblioteca Brasileira de Odontologia) e *MedLine* (Literatura Internacional em Ciências da Saúde), durante os meses de Fevereiro e Março de 2018.

Os descritores utilizados foram “equipe hospitalar de odontologia”, “unidade hospitalar de odontologia” e a palavra “odontologia hospitalar” e o operador booleano “OR”, sendo que os dois primeiros descritores foram definidos com base nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e seus correspondentes na língua inglesa: “Dental Staff, Hospital” e “Dental Service, Hospital” a partir do *Medical Subject Headings* (MeSH). Outra estratégia utilizada foi à busca manual nas listas de referências dos estudos selecionados para complementação da pesquisa.

A seleção dos artigos foi realizada a partir da triagem dos títulos que abordassem: odontologia hospitalar, sua importância e atuação. Ao final da busca, foram excluídos os títulos repetidos, obtidos nas bases de dados supracitadas. Em seguida, realizou-se uma leitura detalhada dos resumos dos artigos a fim de selecionar aqueles que abordassem a odontologia hospitalar de no período de 2006 até 2017. Excluídos os resumos que não versavam sobre o tema, os textos completos foram avaliados e os que se enquadram nos critérios de inclusão foram lidos em sua totalidade e incluídos no resultado final da busca.

Os critérios de inclusão foram: artigos publicados em língua portuguesa e inglesa, de âmbito Nacional e Internacional, entre os anos de 2006 e 2017, que utilizassem como metodologia: artigos originais, revisão de literaturas e análise documentais, disponibilizados na íntegra. Os critérios de exclusão foram: artigos duplicados, resumos de dissertações ou teses acadêmicas e estudos sem disponibilidade de texto completo disponível em algum sítio da internet.

Os dados foram analisados e apresentados na forma de tabela com a descrição das seguintes características: ano, local, periódico, autor, título, metodologia e desfecho.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da combinação dos descritores selecionados e dos critérios de inclusão e exclusão deste estudo foram selecionados 26 artigos, na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), sendo que, destes, 17 foram da base de dados LILACS, 07 BBO e 02 da MEDLINE, sendo que os artigos desta última base estavam incluídos na pesquisa realizada no LILACS. Após a leitura dos títulos e resumos foram descartados 03 artigos que não correspondiam aos objetivos da pesquisa. Em seguida, foi realizada a leitura completa dos 23 artigos restantes, e todos estavam adequados aos objetivos estabelecidos. As publicações distribuíram-se regionalmente da seguinte forma: 10 da região sudeste (43,5%), 07 do sul (30,4%), 03 do centro-oeste (13%), 02 do nordeste (8,7%) e 01 do norte (4,3%). De tal modo, observa-se que a distribuição de pesquisas na área da odontologia hospitalar se concentra nas regiões de maior desenvolvimento do país, Sul e Sudeste, com destaque para o estado de São Paulo que conta com uma forte rede de pesquisa e tecnologia do país. Quanto aos autores dos artigos selecionados todos eram cirurgiões-dentistas. As principais informações dos artigos

analisados foram compiladas no Quadro 01.

Ano/ Local	Periódico	Autoria	Título	Metodologia	Conclusões
2017/ Rio Grande do Norte (RN)	Ver. Plural Ciência	FERNANDES et al.	Conhecimentos e práticas de saúde bucal por pacientes internados e equipe hospitalar	Estudo transversal	Identificou falhas no cuidado com a saúde bucal por pacientes hospitalizados e equipe hospitalar. No entanto, apesar das limitações físicas, psicológicas e ambientais, a maioria dos sujeitos afirmou escovar os dentes diariamente. Porém o número de pacientes que não higienizou a cavidade oral no período da internação foi alto.
2016/ Brasília (DF)	Rev. Odonto Planal Cent.	DANTAS et al.	Saúde bucal e cuidadosna Unidade de Terapia Intensiva	Revisão de literatura	Concluiu-se que a deficiência de higienização da cavidade bucal em UTIs constitui fator de risco ao desenvolvimento de doenças sistêmicas, sobretudo as do trato respiratório; e que a participação do cirurgião-dentista no tratamento do paciente crítico é fundamental à promoção da saúde em ambiente hospitalar.
2016/ Bauru (SP)	Rev. Bras. Odonto.	FREITAS-AZNAR et al.	A bioética no contexto da Odontologia Hospitalar: uma revisão crítica	Revisão de literatura	Há escassez de trabalhos na literatura científica específicos sobre a aplicação dos princípios bioéticos ao dia a dia dos profissionais de odontologia em âmbito hospitalar.
2016/Portugal (PT)	Rev. Portuguesa de Saúde Pública	LOUREIRO et al.	O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução	Revisão de literatura	A resistência bacteriana tem crescido acentuadamente, sendo que as bactérias gram-positivas mais resistentes aos antibióticos são da espécie <i>Staphylococcus aureus</i> e do género <i>Enterococcus</i> .
2016/ Canoinhas (SC)	Saúde Meio Ambiente	KOHL 2016 et al.	Resistência Antimicrobiana de Bactérias Isoladas de Amostras De Animais Atendidos Em Hospital Veterinário.	Estudo transversal	O alto índice de múltipla resistência observado comprova a necessidade do uso racional de antimicrobianos aliados aos testes de sensibilidade, educação continuada aos profissionais da saúde e educação da população sobre a sua utilidade.
2014/ Belo Horizonte(MG)	Arq Cent Estud Curso Odonto UnivFed Minas Gerais	ROCHA et al.	Odontologia hospitalar: a atuação do cirurgião dentista em equipe multiprofissional na atenção terciária.	Estudo transversal	O crescimento da procura pelo cirurgião-dentista pode representar o reconhecimento da necessidade de sua integração na equipe hospitalar, mesmo sem estar clara a noção de equipe multiprofissional.
2014/ Araçatuba (SP)	Rev. Bras. Odonto	WAYAMA et al.	Grau de conhecimento dos cirurgiões-dentistas sobre Odontologia Hospitalar	Estudo transversal	Pode-se sugerir que há carência de conhecimento sobre Odontologia Hospitalar, assim o cirurgião- dentista deve ser instruído desde a sua formação acadêmica para a inserção na equipe hospitalar.
2014/ Belo Horizonte -(MG)	Arq Cent Estud Curso Odonto UnivFed Minas Gerais	MICLOS et al.	Inclusão da Odontologia no cenário hospitalar da região metropolitana de Belo Horizonte, MG	Estudo transversal	Constatou-se a existência da odontologia na maioria dos hospitais de grande porte da RMBH, com presença de equipes odontológicas fortes, que trabalham em interdisciplinaridade, mostra reconhecimento e valorização do cirurgião- dentista.
2014/ Belém (PA)	Rev. Assoc. Paul.Cir. Dent	ALVES JUNIOR et al.	Prescrição de higiene bucal nos prontuários de pacientes internados em uma cidade da Amazônia	Estudo transversal	Não há uma efetiva importância dos cuidados bucais no âmbito hospitalar dos pacientes internados com a maioria deles não recebendo nenhuma prescrição de higiene bucal.

2013/ Goiania(GO)	Rev. Odonto .Bras. Central	EUZÉBIO et al.	Atuação do Residente Cirurgião-Dentista em Equipe Multiprofissional de Atenção Hospitalar à Saúde Materno-Infantil	Estudo Transversal	O cirurgião-dentista pode atuar de forma abrangente no contexto hospitalar; considerando a área materno-infantil, as atividades educativo- preventivas ocorreram em maior número do que as curativas.
2013/ São Paulo (SP)	Rev. Assoc Paul CirDent	COSTA et al.	A odontologia hospitalar no serviço público do Estado de São Paulo	Estudo transversal	Os CDs costumam ter carga horária pequena e dividida entre o atendimento ambulatorial e hospitalar, parece apropriado tanto à estruturação de novos serviços como o aumento de contratações específicas para suprir a demanda crescente.
2016/ Porto Alegre(RS)	Revista da AcBO	COSTA et al	A Odontologia Hospitalar em Conceitos	Estudo transversal	A prática da odontologia em ambiente hospitalar deverá considerar o ser humano como um somatório de dimensões biopsicossociais e espirituais inter-relacionadas; poderá ser exercida pelo Cirurgião-Dentista.
2013/ Santa Maria (RS)	Rev. Bras. Ciên. Saúde	GAETTI- JARDIM et al.	Atenção Odontológica a Pacientes Hospitalizados: Revisão da Literatura e Proposta de Protocolo de Higiene Oral	Revisão de literatura	A odontologia precisa atuar em uma Equipe de Saúde em que os profissionais estejam conscientes de que as diferentes especialidades devem se inter-relacionar para o tratamento integral do paciente que se encontra em ambiente hospitalar.
2014/Belo Horizonte (MG)	Arq Cent Estud Curso Odonto UnivFed Minas Gerais	MICLOS et al.	Prática da promoção e educação em saúde bucal nos hospitais de grande porte da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais	Estudo transversal	Verificou-se que a maioria dos hospitais da RMGV realizam educação e promoção de saúde bucal.
2014/ Rio de janeiro(RJ)	Rev. bras. odontol	SIQUEIRA et al.	Candidíase oral em pacientes internados em UTI	Revisão de literatura	A candidíase oral é uma infecção frequente em pacientes de UTI. Em pacientes graves pode haver complicações com a disseminação das infecções, estando associada ao aumento no período de internação e morte.
2013/ Cuiabá(MT)	Pesqui. bras. Odonto pediatria clín. integr	MATOS et al.	Conhecimento do médico hospitalar referente à higiene e as manifestações bucais de pacientes internados	Estudo transversal	Há deficiência no conhecimento dos médicos hospitalares frente ao controle do biofilme oral dos pacientes hospitalizados, mas não omissão frente às questões que envolvem o foco de infecção Odontogênica.
2013/Portugal (PT)	Acta Med Port	MAÇÃO et al.	Bactérias Multirresistentes Associadas aos Cuidados de Saúde num Hospital Pediátrico: Experiência de Cinco Anos	Estudo longitudinal	Ao longo do período de estudo, a proporção de bactérias multirresistentes apresentou uma tendência de aumento, embora sem significado estatístico.
2012/ Araçatuba (SP)	Rev. Bras. Odonto	ARANEGA et al.	Qual a importância da Odontologia Hospitalar?	Revisão de literatura	A Odontologia Hospitalar entre os membros da equipe multidisciplinar tem o conhecimento e um objetivo comum que permite o crescimento de todos os profissionais.
2013/ Blumenau (SC)	Salusvita	SCHMITT et al.	Demandas do serviço de odontologia clínica do Hospital Santa Catarina de Blumenau - SC	Estudo transversal	A integração da Odontologia com as diferentes especialidades médicas, no ambiente hospitalar, ainda é pequena, tendo em vista a constatação da baixa demanda pelos cuidados odontológicos.

2011/Feira de Santana (BA)	Rev. baiana saúde pública	SANTOS et al.	Fatores associados à doença periodontal em indivíduos atendidos em um hospital público de Feira de Santana, Bahia	Estudo transversal	O impacto de fatores clássicos sob a condição periodontal reforça a adoção de práticas mais efetivas de educação em saúde bucal e cuidados de higiene em pacientes hospitalizados como rotina diária por equipe capacitada e multiprofissional.
2011/ Florianopolis(SC)	Ciênc. Saúde Coletiva	MATTEVI et al.	A participação do cirurgião-dentista em equipe de saúde multidisciplinar na atenção à saúde da criança no contexto hospitalar	Estudo transversal	Os resultados evidenciam a ampla aceitação e a importância da participação do cirurgião-dentista no contexto da Unidade Hospitalar e na dinamização e otimização do trabalho interdisciplinar.
2010/Tubarão (SC)	Ciênc. Saúde Coletiva	BARBOSA et al.	Conhecimentos e práticas em saúde bucal com crianças hospitalizadas com câncer	Estudo transversal	Todos os participantes consideram importante haver um CD no setor de oncologia. Pôde-se concluir que não existe um protocolo de cuidados com a higiene bucal de crianças hospitalizadas com câncer.
2006/ Fernando pessoa – Portugal (PT)	Rev Port Clin Geral	ALMEIDA et al.	Associação entre doença periodontal e patologias sistêmicas	Estudo transversal	A Doença Periodontal e as várias Patologias Sistêmicas que a ela têm vindo a ser associadas, como sejam a Diabetes Mellitus, as Doenças Cardiovasculares, as Infecções Respiratórias, a Artrite Reumatóide e a ocorrência de Partos Prematuros.

Quadro 1. Distribuição dos estudos selecionados nesta revisão integrativa, de acordo com o ano, local, periódico, autoria, título, metodologia e principais conclusões. Jequié /BA, Brasil. 2018

Evidenciou-se que, dos artigos incluídos nesta revisão integrativa, 73,9% foram estudos transversais, 21,7% revisão de literatura e 4,3% estudos longitudinais, todos versando sobre a atuação do cirurgião-dentista no âmbito hospitalar e sua importância para garantir a atenção integral à saúde do paciente hospitalizado. Observou-se que o ano de 2013 e 2014 ocorreu o maior número de publicações (52,2%), seguido pelo ano de 2016 (21,7%). Os diferentes processos de adoecimento no mundo revelam estratificações próprias da sociedade, o que evidencia a clara relação de poder com os perfis de morbidades e mortalidades em países desenvolvidos, subdesenvolvidos e em desenvolvimento. Características muito marcantes são observadas em países em desenvolvimento como o Brasil, que tem experimentado gradativamente ao longo das últimas décadas, transformações no perfil demográfico, epidemiológico e nutricional (COSTA et al., 2016).

A Odontologia Hospitalar é uma prática que se propõe aos cuidados das alterações bucais que requerem procedimentos de baixa, média ou alta complexidade, efetivados em âmbito hospitalar. Portanto, a finalidade é, com uma visão holística, melhorar a saúde em geral e a qualidade de vida dos pacientes hospitalizados (ARANEGA et al., 2012). O cirurgião-dentista irá atuar no suporte à equipe nos cuidados assistenciais, dinamização e otimização do trabalho interdisciplinar, participando do processo de tomada de decisões, baseado na concepção de novos tratamentos e das condições fisiológicas e psicológicas dos pacientes, os proporcionando um maior conforto e bem-estar (COSTA et al., 2016; GAETTI-JARDIM et al., 2013).

Neste contexto, observa-se a ampliação da carga das condições crônicas que reflete os principais efeitos negativos do processo de globalização, do sedentarismo, da má nutrição, do estresse social, além da utilização abusiva do tabaco e álcool. Todos esses fatores de risco e outros de ordem comportamentais, biológicos e ambientais impactam nos principais fatores de risco metabólicos, como excesso de peso, pressão arterial aumentada, elevação da glicose sanguínea, lipídios e colesterol, prováveis de resultarem doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, diabetes, cânceres e outras tantas doenças (FERNANDES et al., 2017; MATOS et al., 2013).

Dos mais diversos tipos de cânceres, encontram-se aqueles que atingem a região oral, os quais na maioria das vezes têm um diagnóstico tardio, levando a tratamentos mutiladores e com pouca chance de sobrevida aos afetados (EUZÉBIO et al., 2013). No Brasil, estima-se para os anos de 2018 e 2019, 11.200 casos novos de câncer bucal em homens e 3.500 em mulheres. Esses números importam um risco estimado de 10,86 casos novos a cada cem mil entre o público masculino e 3,28 a cada 100 cem entre o feminino. Esse tipo de câncer o 5º mais prevalente entre os homens (INCA, 2018).

Diante das mudanças na rotina dos hábitos alimentares, medidas de higiene bucal cotidiana, modificação nos horários das refeições, terapêutica medicamentosa introduzida, faz-se imprescindível o acompanhamento dos cuidados com a saúde bucal dos indivíduos hospitalizados, principalmente nos pacientes em intubação orotraqueal, visando a manutenção de sua saúde em geral (COSTA et al., 2016).

A correlação existente entre doenças bucais e sistêmicas, revela que a depender da condição bucal presente no paciente, pode existir foco de disseminação de microrganismos patogênicos, sendo assim, o tratamento odontológico irá contribuir significativamente com a prevenção e melhora da condição sistêmica, principalmente nos pacientes hospitalizados (WAYAMA et al., 2014).

A predisposição ao desenvolvimento de gengivite e periodontite podem surgir a partir de doenças infecciosas na cavidade bucal que têm sido comumente associadas a alterações na resposta imunológica, como a falta de higiene oral, desnutrição severa, tabagismo, alcoolismo e diabetes. Além de que, o comprometimento da resposta imune local e sistêmica na proteção dos tecidos periodontais leva à degradação das condições dos tecidos de suporte, assim como promove a colonização da cavidade oral por microrganismos patogênicos como as bactérias entéricas e pseudomonas (ARANEGA et al., 2012; WAYAMA et al., 2014).

Dentre as causas mais significativas do aumento da permanência hospitalar, mortalidade e custos hospitalares destacam-se as infecções hospitalares, as quais são consideradas um importante problema de saúde pública. Uma das infecções mais comumente encontradas em pacientes hospitalizados é a do trato respiratório, onde existe uma associação direta com o biofilme dental (ROCHA; FERREIRA, 2014). A higienização bucal de pacientes hospitalizados é um procedimento primordial com a finalidade preservar a saúde dos tecidos bucais e prevenir infecções durante o

período de permanência dos internos. Sabe-se que a manutenção da higiene bucal é responsável pela diminuição das taxas de pneumonia nosocomial em pacientes subordinado à ventilação mecânica, além de preservar a mucosa lubrificada e favorecer a comodidade do paciente (BARBOSA; RIBEIRO; CALDO-TEIXEIRA, 2010; DANTAS et al., 2016).

A partir do pressuposto, é perceptível que há uma necessidade cada vez maior de se distinguir como está a saúde bucal de pacientes internados para que haja a possibilidade de identificar a vulnerabilidade presente nesses indivíduos, principalmente àqueles que se encontram com pouca condição de autocuidado e maior tempo de hospitalização (LOUREIRO et al., 2016).

É evidente que a odontologia tem avançado significativamente em tecnologia e inovação, cada vez mais, observam-se estudos que versam sobre a melhor forma de cuidar e tratar indivíduos com doenças bucais ou sistêmicas e que se inter-relacionam. Neste sentido, a atenção em saúde para com a população deve ser integral e abranger os três níveis de cuidado, seguindo os pressupostos do Sistema Único de Saúde (KOHL; PONTAROLO; PEDRASSANI, 2016).

A atual composição da equipe multiprofissional hospitalar, geralmente, carece da presença do cirurgião-dentista que atua em segmentos fundamentais para o bem-estar do indivíduo que pode estar ou não debilitado (DANTAS et al., 2016). Ainda que o cirurgião-dentista possa reconhecer a necessidade de sua integração na equipe hospitalar e ser instruído desde a sua formação acadêmica sobre esta necessidade, o mesmo deve ter a noção clara de equipe multiprofissional, e ser preparado para atuar em conjunto com os demais profissionais assistentes, em busca do diagnóstico da melhor e menos onerosa terapêutica, potenciais riscos de interações com os medicamentos prescritos, resistência bacteriana, reações adversas e intoxicação aos pacientes hospitalizados (ROCHA; FERREIRA, 2014). Além disso, deve ser estimulado, desde a graduação, a compreensão dos aspectos diferenciais do contexto hospitalar no planejamento do tratamento odontológico, reafirmando o trabalho multiprofissional já enaltecido (WAYAMA et al., 2014).

A despeito do reconhecimento da importância da saúde bucal no meio hospitalar, observam-se disparidades desta atenção em diferentes regiões brasileiras. Enquanto na região Sudeste evidenciou-se experiências exitosas a exemplo das relatadas em Belo Horizonte MG, com presença de equipes odontológicas fortes, que trabalham em interdisciplinaridade, mostrando um reconhecimento e valorização do cirurgião-dentista também neste campo de trabalho (MICLOS et al., 2014).

Nos hospitais municipais na região Norte do país, observou-se que não há um efetivo cuidado bucal dos pacientes internados com a maioria deles não recebendo nenhuma prescrição de higiene oral (ALVES JUNIOR et al., 2014). Tal quadro leva a um importante ponto que é a necessidade da criação de linhas de cuidados e protocolos odontológicos para este nível de atenção, visando o cuidado estruturado e articulado que verse sobre a saúde oral e sistêmica a exemplos de pacientes: neonatos, crianças,

gestantes, idosos, com câncer, entre outros (BARBOSA; RIBEIRO; CALDO-TEIXEIRA, 2010).

O paciente hospitalizado, geralmente, encontra-se debilitado e sua terapêutica, muitas vezes, centra-se unilateralmente na morbidade responsável pela internação, apresentando menor atenção aos cuidados básicos de higiene bucal (SCHMITT et al., 2013). Ressalta-se que as orientações e práticas de higiene bucal, realizadas pela equipe hospitalar, proporciona o bem-estar e evita a formação do biofilme dentário, consequentemente, diminuição do risco de infecções provenientes da microbiota bucal, o que contribui significativamente para a saúde geral do paciente (FERNANDES et al., 2017).

Neste contexto, a atenção e o cuidado em saúde para com a população deve considerar cada sujeito em sua singularidade, integralidade, complexidade e em sua inserção sociocultural, buscando a promoção da saúde, a prevenção e tratamento de doenças e a redução de danos ou de sofrimentos que possam afetar as possibilidades do viver saudável (MICLOS et al., 2013). Além disso, a condição socioeconômica é um fator preponderante na realização dos cuidados de higiene bucal, visto que a população menos favorecida economicamente está mais exposta aos agravos de saúde bucal, pela falta de recursos para obtenção da escova, creme e fio dental, e provável limitação do conhecimento que os tornam mais vulneráveis. Dessa forma, as afecções orais são reconhecidas como marcas da iniquidade social, o que expõe a importância da atuação da equipe de saúde bucal na prestação da assistência odontológica, em todos os níveis de atenção à saúde (FERNANDES et al., 2017).

A criação de espaços para a construção de um conhecimento em saúde multiprofissional deve existir principalmente com direcionamento à atitude crítico-reflexiva, para que todas as questões pertinentes ao trabalho sejam compartilhadas pelos membros da equipe. Dentre as vantagens da atuação do cirurgião-dentista em ambiente hospitalar observa-se a possibilidade da solicitação e compartilhamento de exames específicos e detalhados do campo odontológico para o diagnóstico de doenças, muitas vezes pouco frequentes em outras áreas do conhecimento (MAÇÃO et al., 2013). Ainda, ressalta-se o suporte adequado para o atendimento depacientes com necessidades especiais que apresentam impossibilidade de frequentar o consultório odontológico convencional, bem como, a importância da atuação em equipe multiprofissional o que garante a integralidade da atenção (ARANEGA et al., 2012)

Além disso, a inserção do cirurgião-dentista no âmbito hospitalar e a necessidade de ações de promoção e educação também neste nível de atenção (MATTEVI et al., 2011; MICLOS et al., 2014; SCHMITT et al., 2013) é uma necessidade e deve ser constante no nível terciário de atenção, a fim de, fortalecer o atendimento e a resolutividade, pois frequentemente há ocorrências de vítimas politraumatizadas com as lesões mais graves localizadas na cabeça e pescoço e extremidades (MICLOS et al., 2013, 2014; SANTOS et al., 2011).

A organização da Rede de Atenção às Urgências e Emergências (RUE) no Sistema Único de Saúde, tem mais do que uma prioridade, torna-se como uma necessidade premente, de forma a articular e integrar todos os equipamentos de saúde, objetivando ampliar e qualificar o acesso humanizado e integral aos usuários sem situação de urgência e emergência nos serviços de saúde, de forma ágil e oportuna, em todo o território nacional, respeitando-se os critérios epidemiológicos e de densidade populacional, bem como uma intervenção de forma organizada e efetiva (SCHMITT et al., 2013).

Ademais, a epidemiologia é considerada imprescindível para o apropriado provimento de aplicações e meios na odontologia hospitalar, pois oferece informações do perfil e agravos à saúde da população. A realização de estudos epidemiológicos e o uso dos dados coletados são essenciais no processo de planejamento das ações de saúde. As informações coletadas também corroboram na averiguação dos fatores que influenciam a saúde bucal, análise do impacto das ações propostas, planejamento das ações de vigilância à saúde e estratégias adotadas e verificação de conjecturas a serem sondadas em estudos analíticos futuros, por isso o cirurgião-dentista nesse nível de atenção produz informações para a organização da demanda que adentram esses espaços (COSTA et al., 2013).

De acordo com o Código de Ética Odontológico, compete ao cirurgião-dentista, independentemente da habilitação em Odontologia Hospitalar, internar e assistir pacientes em hospitais públicos e privados, com ou sem caráter filantrópico, respeitando as normas técnico-administrativas das instituições e as disposições deste referido código (MATOS et al., 2013).

A odontologia hospitalar tem suscitado o desenvolvimento de estudos sobre a temática, visto que o ambiente hospitalar é uma potencial área para a atuação do cirurgião-dentista. Em 2015, o Conselho Federal de Odontologia publicou a Resolução CFO N° 162, que reconhece o exercício da odontologia hospitalar, desde que o cirurgião-dentista faça um curso de habilitação para tal função, seguindo a disposta resolução (FREITAS-AZNAR et al., 2016).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dessa revisão permitem inferir que a inserção do cirurgião-dentista na equipe hospitalar possui um impacto relevante na saúde bucal e geral dos pacientes, garantindo a integralidade da atenção à saúde. Dessa forma, a carência desses profissionais nos hospitais precisa ser superada, visto que a atuação multidisciplinar e interdisciplinar se faz cada vez mais necessária. Além disso, é possível verificar que a presença dos cirurgiões-dentistas nos ambientes hospitalares é indispensável para se conhecer e identificar as necessidades em saúde bucal, pois os dados coletados por estes trazem informações que permitem que sejam feitas gestões de ações em saúde e avaliação da eficiência geral dos serviços ofertados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. F. et al. Associação entre doença periodontal e patologias sistémicas. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 22, n. 3, p. 379–90, 2006.
- ARANEGA, A. M. et al. Qual a importância da Odontologia Hospitalar? **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 69, n. 1, p. 90–93, jun. 2012.
- ALVES JUNIOR S.M. et al. Prescrição de higiene bucal nos prontuários de pacientes internados em uma cidade da Amazônia. **Revista Associação Paulista Cirurgião Dentista**. v. 68 n. 4, p.302-6. 2014.
- BARBOSA, A. M.; RIBEIRO, D. M.; CALDO-TEIXEIRA, A. S. Conhecimentos e práticas em saúde bucal com crianças hospitalizadas com câncer. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, p. 1113–1122, jun. 2010.
- COSTA, A. C. O. et al. A Odontologia Hospitalar no serviço público do Estado de São Paulo. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentista APCD**, v. 67, n. 4, p. 306–312, 2013.
- COSTA, J. R. S. et al. A Odontologia Hospitalar em Conceitos. **Revista da AcBO - ISSN 2316-7262**, v. 5, n. 2, 11 dez. 2016.
- DANTAS, B. DE O. et al. Saúde bucal e cuidados na Unidade de Terapia Intensiva. **Roplac**, v. 5, n. 1, p. 28–32, 2016.
- EUZÉBIO, L. F. et al. Atuação do residente cirurgião-dentista em equipe multiprofissional de atenção hospitalar à saúde materno-infantil. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 22, n. 60, 7 mai. 2013.
- FERNANDES, A. DE S. et al. Conhecimentos e práticas de saúde bucal por pacientes internados e equipe hospitalar. **Revista Ciência Plural**, v. 2, n. 3, p. 3–16, 14 abr. 2017.
- FREITAS-AZNAR, A. R. DE et al. A bioética no contexto da Odontologia Hospitalar: uma revisão crítica. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 73, n. 4, p. 311–314, dez. 2016.
- GAETTI-JARDIM, E. et al. Atenção Odontológica a Pacientes Hospitalizados: Revisão da Literatura e Proposta de Protocolo de Higiene Oral. **Revista de Atenção à Saúde**, v. 11, n. 35, 14 maio 2013.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. INCA. **Estimativa 2018**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2018.
- KOHL, T.; PONTAROLO, G. H.; PEDRASSANI, D. Resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de amostras de animais atendidos em hospital veterinário. **Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar**, v. 5, n. 2, p. 115–127, 16 dez. 2016.
- LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77–84, mar. 2016.
- MACÃO, P. et al. Bactérias Multirresistentes Associadas aos Cuidados de Saúde num Hospital Pediátrico: Experiência de Cinco Anos. **Acta Médica Portuguesa**, v. 26, n. 4, p.385-391, 2013.
- MATOS, F.Z. et al. Conhecimento do médico hospitalar referente à higiene e as manifestações bucais de pacientes internados. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria** e clínica Integrada. João Pessoa,v.13, n.3, p.239-43, 2013.
- MATTEVI, G. S. et al. A participação do cirurgião-dentista em equipe de saúde multidisciplinar na

atenção à saúde da criança no contexto hospitalar. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 10, p. 4229–4236, out. 2011.

MENDES, K. D. S.; SILVEIRA, R. C. DE C. P.; GALVÃO, C. M. Integrative literature review: a research method to incorporate evidence in health care and nursing. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 17, n. 4, p. 758–764, dez. 2008.

MICLOS, P. V. et al. Prática da promoção e educação em saúde bucal nos hospitais de grande porte da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo odontologia**, v. 49, n. 2, p. 82–87, 2013.

MICLOS, P. V. et al. Inclusão da Odontologia no cenário hospitalar da região metropolitana de Belo Horizonte, MG. **Arquivos em Odontologia**, v. 50, n. 1, 2014.

ROCHA, A. L.; FERREIRA, E. F. E. Odontologia hospitalar: a atuação do cirurgião dentista em equipe multiprofissional na atenção terciária. **Arquivos em Odontologia**, v. 50, n. 4, 2014.

SANTOS, C. M. L. et al. Fatores associados à doença periodontal em indivíduos atendidos em um hospital público de Feira de Santana, Bahia. **Revista Baiana Saúde Pública**, 2011.

SCHMITT, B. H. E. et al. Condição bucal de pacientes cardiopatas internados no Hospital Santa Catarina de Blumenau. **Revista Sociedade Cardiologia do Estado de São Paulo**, p. 30–33, 2013.

SIQUEIRA, J. DA S. S. et al. Candidíase oral em pacientes internados em UTI. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 2, p. 176–179, dez. 2014.

WAYAMA, M. T. et al. Grau de conhecimento dos cirurgiões-dentistas sobre odontologia hospitalar. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 1, p. 48–52, 2014.

CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES COM ÚLCERA DE PÉ DIABÉTICO ATENDIDOS EM HOSPITAIS DA REDE PÚBLICA DE SÃO LUÍS MARANHÃO

Kezia Cristina Batista dos Santos

Universidade Federal do Maranhão

São Luís – Maranhão

Tamires Barradas Cavalcante

Universidade Federal do Maranhão

São Luís – Maranhão

Patrícia Amorim Danda

São Luís – Maranhão

Gabriela Sellen Campos Ribeiro

São Luís – Maranhão

Adrielly Haiany Coimbra Feitosa

São Luís – Maranhão

com ensino fundamental incompleto (38,3%) e casados (54,3%). Quanto aos dados clínicos observou-se que 87,2% tinham Diabetes Mellitus tipo II, 31,9% tinham a doença há cerca de 6 a 10 anos, 52,1% não tinham conhecimento prévio sobre a doença, 55,3% não tomaram os cuidados necessários ao descobrir a doença; 58,5% faziam uso de hipoglicemiantes orais; 70,2% não faziam controle glicêmico adequado, 68,1% referiram o aparecimento da úlcera de pé diabético pela primeira vez, 74,5% não apresentaram amputação, 54,3% referiram ter cuidados com os pés e 67% relataram tristeza em relação ao aparecimento da úlcera de pé diabético. O estudo do perfil de pacientes com úlcera de pé diabético é fundamental como estratégia para elaboração de medidas de educação em saúde, prevenção e tratamento. Estudos dessa natureza contribuem para ações de melhoria na qualidade de vida desses pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: Diabetes mellitus, Pé diabético, Enfermagem, Saúde pública

ABSTRACT: The aim of this study was to characterize the sociodemographic and clinical profile of patients with diabetic foot ulcers treated in hospitals of the public network of São Luís do Maranhão. It is an observational, cross-sectional and quantitative study carried out with 94 patients attended at a Mixed Unit

RESUMO: Objetivou-se caracterizar o perfil sociodemográfico e clínico de pacientes com úlcera de pé diabético atendidos em hospitais da rede pública de São Luís do Maranhão. Trata-se de um estudo observacional, transversal e quantitativo realizado com 94 pacientes atendidos em uma Unidade Mista e em um Hospital de Urgência e Emergência em São Luís-MA no período de novembro de 2013 a abril de 2014. Utilizou-se para coleta de dados um questionário semiestruturado referente às variáveis sociodemográficas e clínicas. Os dados foram analisados usando recursos da estatística descritiva. Predominaram pacientes do sexo masculino (61,7%), com idade entre 61 a 65 anos (29,8%), de raça parda (40,4%),

and in an Emergency and Emergency Hospital in São Luís-MA from November 2013 to April 2014. It was used to data collect a semistructured questionnaire referring to sociodemographic and clinical variables. Data were analyzed using descriptive statistics resources. Predominated male patients (61.7%), aged 61-65 years (29.8%), brown (40.4%), incomplete elementary school (38.3%) and married (54.3%). Regarding the clinical data, it was observed that 87.2% had type II diabetes mellitus, 31.9% had the disease for about 6 to 10 years, 52.1% had no previous knowledge about the disease, 55.3% did not they took the necessary care to discover the disease; 58.5% used oral hypoglycemic agents; 70.2% did not have adequate glycemic control, 68.1% reported on the appearance of diabetic foot ulcer for the first time, 74.5% did not present amputation, 54.3% reported having foot care and 67% reported sadness regarding the appearance of diabetic foot ulcer. The study of the profile of patients with diabetic foot ulcers is fundamental as a strategy to elaborate health education, prevention and treatment measures. Studies of this nature contribute to actions to improve the quality of life of these patients.

KEYWORDS: Diabetes Mellitus; Diabetic foot; Nursing; Public health

1 | INTRODUÇÃO

O Diabetes Melittus (DM) está assumindo proporções epidêmicas na maioria dos países do mundo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016). Atualmente, estima-se que a população mundial com DM seja da ordem de 387 milhões e que alcance 471 milhões em 2035. Cerca de 80% desses indivíduos vivem em países em desenvolvimento, onde a epidemia assume maior intensidade com crescente proporção de pessoas acometidas em grupos etários mais jovens (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2014).

Em 2013, a Pesquisa Nacional de Saúde – PNS estimou que, no Brasil, 6,2% da população com 18 anos ou mais de idade referiram diagnóstico médico de diabetes, sendo de 7,0% nas mulheres e de 5,4% nos homens (THEME FILHA et al., 2015). Este número está aumentando em virtude do crescimento e do envelhecimento populacional, da maior urbanização, da progressiva prevalência de obesidade e sedentarismo, bem como da maior sobrevida de pacientes com DM (IBGE, 2014).

O DM está associado ao aumento da mortalidade devido ao alto risco para desenvolvimento de complicações agudas e crônicas. É apontado como um dos principais responsáveis pelo desenvolvimento de insuficiência renal, retinopatia, doenças cardiovasculares, doença arterial coronariana e amputação de membros inferiores (BOELL; RIBEIRO; SILVA, 2014).

O pé diabético, complicação crônica mais comum do DM, é uma doença complexa e multifatorial. O pé diabético é definido como uma infecção, úlcera e/ou destruição de tecidos moles associadas a alterações neurológicas e vários graus de doença arterial periférica nos membros inferiores (BAKKER et al., 2015). Fatores como idade, tipo e tempo de diagnóstico do DM, controle metabólico, tabagismo, alcoolismo,

obesidade, hipertensão arterial e falta de bons hábitos de higiene no cuidado com os pés são importantes fatores de risco dessa complicação (BOELL; RIBEIRO; SILVA, 2014).

Dados epidemiológicos indicam que os pacientes diabéticos apresentam uma incidência anual de úlceras nos pés de 2% e um risco de 25% em desenvolvê-las ao longo da vida. Aproximadamente 20% das internações de indivíduos com DM são decorrentes de lesões nos membros inferiores (BRASIL, 2016). O pé diabético é responsável por 40% a 70% das amputações não traumáticas em membros inferiores e 85% destas amputações são precedidas de ulcerações. 85% das amputações de membros inferiores em pessoas com DM são precedidas de ulcerações, sendo os seus principais fatores de risco a neuropatia periférica, as deformidades no pé e os traumatismos (BRASIL, 2013).

Sabe-se que as úlceras de pé diabético (UPD) geram altos custos para o sistema de saúde, tendo em vista o número de internações prolongadas e recorrentes, assim como, o aumento do número de consultas ambulatoriais e maior necessidade de cuidados domiciliares aos pacientes com tal enfermidade (BRASIL, 2006, 2013; BOELL; RIBEIRO; SILVA, 2014).

Segundo o Ministério da Saúde 50% destas amputações poderiam ser evitadas por meio de ações educativas para profissionais, para pessoas com DM e seus familiares, concomitante ao rastreamento de fatores de risco e exame periódico dos pés, que ao identificar precocemente as alterações, permite a implementação de tratamento oportuno e, consequentemente, impedindo o desenvolvimento de complicações (BRASIL, 2013, 2016).

Diante disto, a caracterização dos aspectos sociodemográficos e clínicos de pacientes com UPD poderá fornecer informações relevantes para o cuidado integral, permitindo a equipe multiprofissional uma visão holística da saúde dos pacientes, para uma atuação impactante no restabelecimento da saúde e manejo dessa condição, assim, objetivou-se, neste estudo, caracterizar o perfil sociodemográfico e clínico de pacientes com UPD atendidos em hospitais da rede pública em São Luís, Maranhão.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional, transversal, com abordagem quantitativa realizado em uma Unidade Mista e em um Hospital de Urgência e Emergência em São Luís do Maranhão, no período de novembro de 2013 a abril de 2014.

A população-alvo do estudo correspondeu a todos os pacientes diabéticos atendidos na Unidade Mista e Hospital de Urgência e Emergência. Foram incluídos na pesquisa os pacientes diabéticos, de ambos os sexos, com idade ≥ 18 anos, presença de uma ou mais UPD em membro inferior, atendidos nas referidas unidades de saúde. Foram excluídos os pacientes com incapacidade de compreensão e comunicação verbal efetiva, assim como aqueles sem condições físicas ou emocionais para responder

ao formulário, a partir da avaliação subjetiva das pesquisadoras. A amostra resultou em 94 pacientes selecionados por conveniência, coletados conforme possibilidade de aplicação do instrumento em tempo hábil.

Para a coleta de dados utilizou-se um questionário semiestruturado, contendo questões abertas e fechadas referente às variáveis sociodemográficas e clínicas. Os pacientes foram contatados na própria unidade de saúde ao realizarem consulta de enfermagem ou médica e por busca ativa nos leitos de internação. A coleta de dados foi realizada pelas pesquisadoras por meio de entrevista individual nos turnos matutino e vespertino, três vezes na semana durante o período da pesquisa. O formulário de coleta de dados foi aplicado individualmente em local reservado, após explanação sobre a pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, em duas vias.

Os dados coletados foram transferidos para um banco de dados na planilha do aplicativo Excel 2010, com dupla digitação. Logo após, foram exportados e analisados pelo programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20.0, em que foram realizados os cálculos estatísticos descritivos como frequências absoluta e relativa, média, desvio-padrão, sendo os resultados apresentados em forma de tabelas e gráficos.

Ressalta-se que esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Ceuma – UNICEUMA, sob parecer consubstanciado nº 332.941, estando de acordo com as recomendações da Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características sociodemográficas da amostra estudada demonstram que a maioria dos pacientes era do sexo masculino (61,7%), na faixa etária entre 61 a 65 anos (29,8%), de raça parda (40,4%), com ensino fundamental incompleto (38,3%) e casada (54,3%), conforme apresentado na tabela 1.

Variável	n	%
Sexo		
Masculino	58	61,7
Feminino	36	38,3
Faixa etária		
< 54 anos	5	5,3
55 a 60 anos	7	7,4
61 a 65 anos	28	29,8
66 a 70 anos	21	22,3
71 a 75 anos	17	18,1
76 a 80 anos	10	10,6
> 80 anos	6	6,5
Raça		

Branca	19	20,2
Negra	36	38,3
Parda	38	40,4
Indígena	1	1,1
Escolaridade		
Não sabe ler/escrever	23	24,5
Alfabetizado	7	7,4
Ensino fundamental incompleto	36	38,3
Ensino fundamental completo	20	21,3
Ensino médio incompleto	7	7,4
Ensino médio completo	1	1,1
Situação conjugal		
Solteiro	15	16,0
Casado	51	54,2
Viúvo	25	26,6
Vive só	2	2,1
Outros	1	1,1
Total	94	100

Tabela 1 - Características sociodemográficas dos pacientes com úlceras de pé diabéticos atendidos em hospitais da rede pública em São Luís, Maranhão, Brasil. 2013-2014.

Fonte: Dados da pesquisa, 2013-2014.

Quanto aos dados clínicos, observou-se que 87,2% eram portadores de Diabetes Mellitus tipo II, 31,9% possuía a doença há cerca de 6 a 10 anos, 52,1% não tinham conhecimento prévio sobre a doença, 55,3% não tomaram os cuidados necessários ao descobrir a doença; 58,5% faziam uso de hipoglicemiantes orais; 70,2% não faziam controle glicêmico adequado, 68,1% referiram o aparecimento da UPD pela primeira vez, 74,5% não apresentaram amputação, 54,3% referiram ter cuidados com os pés e 67% relataram tristeza em relação ao aparecimento da UPD (Tabela 2).

Variável	n	%
Tipo de DM*		
Tipo I	12	12,8
Tipo II	82	87,2
Tempo de conhecimento da DM*		
< 1 ano	3	3,2
1 – 5 anos	9	9,6
6 – 10 anos	30	31,9
11 – 15 anos	23	24,5
16 – 20 anos	14	14,9
> 20 anos	15	16,0
Reação ao descobrir o DM*		
Não, tomou os cuidados necessários	52	55,3
Sim, tomou os cuidados necessários	42	44,7
Conhecimento prévio sobre UPD*		
Não	49	52,1

Sim, mas não entendeu	32	34,0
Sim	13	13,9
Medicação		
Hipoglicemiantes orais	55	58,5
Insulina	15	16,0
Insulina + hipoglicemiantes orais	23	24,5
Sem medicação	1	1,1
Controle glicêmico		
Adequado	28	29,8
Não adequado	66	70,2
Úlcera em pé diabético		
Primeira vez	64	68,1
Recidivante uma vez	14	14,9
Recidivante duas vezes	10	10,6
Recidivante três vezes	4	4,3
Recidivante quatro vezes	2	2,1
Amputações		
Ausente	70	74,5
Atualmente em membro direito	6	6,4
Atualmente em membro esquerdo	8	8,5
Prévia em membro direito	5	5,3
Prévia em membro esquerdo	5	5,3
Cuidado com os pés		
Não	24	25,5
Sim	51	54,3
Às vezes	19	20,2
Reação atual demonstrada		
Tristeza	63	67,0
Depressão	14	14,9
Não relataram	17	18,1
Total	94	100

Tabela 2 - Variáveis clínicas dos pacientes com úlceras de pé diabéticos atendidos em hospitais da rede pública em São Luís, Maranhão, Brasil. 2013-2014.

*DM – diabetes mellitus, UPD – úlcera de pé diabético

Fonte: Dados da pesquisa, 2013-2014.

4 | DISCUSSÃO

O presente estudo permitiu identificar as características sociodemográficas e clínicas de pacientes com UPD atendidos na rede pública de São Luís/MA. As características sociodemográficas da amostra foram similares ao encontrado em outros estudos realizados com mesma população, especialmente em relação ao sexo, faixa etária, escolaridade, indicando que homens idosos têm maior probabilidade de desenvolver UPD e que o baixo nível de escolaridade está presente nessa população.

Assim como observado por Neto, Alves e Simão (2016) e Santos et al., (2015)

a UPD foi mais comum no sexo masculino. Entretanto, outros estudos, apontam predomínio no sexo feminino (CUBAS et al., 2013; SILVA, 2015). De fato, os homens são duas vezes mais acometidos pela UPD e submetidos à amputação do que as mulheres, principalmente por doença vascular periférica. Nas mulheres, entretanto, o diabetes é o principal responsável pelo procedimento e pela elevada mortalidade em todas as faixas etárias (SPICHLER et al., 2004).

Observou-se maior proporção de UPD na faixa etária de 61 a 65 anos evidenciando maior risco para o surgimento de tal complicaçāo a partir da sexta década de vida, corroborando com diversos estudos (NETO; ALVES; SIMĀO, 2016; BORTOLETTO et al., 2010; SANTOS et al., 2015). A literatura aponta que o acometimento por esta complicaçāo apresenta faixa etária bem delimitada, sendo mais comum na faixa etária superior aos 60 anos (SANTOS et al., 2011a).

Quanto a raça, a maioria dos pacientes se autodeclararam pardos, assim como encontrado por Vieira-Santos et al., (2008). Esse percentual está de acordo com o último censo demográfico do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010), que avaliou a cor parda como sendo predominante na região nordeste.

Em relação a escolaridade, a baixa escolaridade vem sendo apontada como fator de risco importante para o desenvolvimento de UPD em alguns estudos (SANTOS et al., 2011b; BOELL; RIBEIRO; SILVA, 2014). De acordo com Santos et al., (2011b) a baixa escolaridade repercute diretamente sobre o autocuidado, por influenciar a capacidade dos indivíduos de assimilarem os conhecimentos sobre a doença e a importância dada ao controle do DM, incluindo aí os cuidados preventivos às complicações, o que impõe aos profissionais da saúde um desafio que requer o planejamento de estratégias diferenciadas e intensivas quando das orientações para o autocuidado, de modo a alcançar efetivamente a população alvo.

Observou-se, também, que a maioria da amostra era casada, resultado semelhante ao encontrado por Silva et al., (2015), evidenciando haver a necessidade de orientação para o casal, assim o cônjuge passa também a ajudar o paciente sobre formas de prevenção da UPD e controle da DM.

No tocante aos dados clínicos, evidenciou-se que a maioria dos pacientes tinha Diabetes Mellitus tipo II, possuía a doença há cerca de 6 a 10 anos, não tinha conhecimento prévio sobre a doença, não tomou os cuidados necessários ao descobrir a doença, não fazia controle glicêmico adequado, referiu o aparecimento da UPD pela primeira vez, não apresentou amputação, referiu ter cuidados com os pés e relatou tristeza em relação ao aparecimento da UPD.

O tipo de DM verificado em maior proporção na amostra foi o do tipo 2, achado semelhante foi observado por Borbottelo et al., (2010) e Santos et al., (2011a). Tais resultados estão de acordo com os dados da American Diabetes Association (2010) em que relata que o DM tipo II abrange cerca de 90% dos casos de diabetes na população, sendo seguido em frequência pelo DM tipo I, que responde por aproximadamente 8%.

Em relação ao tempo de diagnóstico, os resultados do presente estudo estão de

acordo com estudos realizados por Santos et al., (2015), Boell, Ribeiro e Silva, (2014) e com os Dados da Pesquisa Nacional de Saúde (2013), que apontou 5% dos usuários com diagnóstico de DM há menos de 10 anos e 5,8% dos usuários com diagnóstico de DM há mais de 10 anos apresentam feridas nos pés (BRASIL, 2016).

Estudos que relacionaram o tempo transcorrido desde o início do DM com a ocorrência do pé diabético, também revelaram um tempo médio em torno de 10 anos de convivência com a doença para o desencadeamento do mesmo (OCHOA-VIGO et al., 2009; VIEIRA-SANTOS et al., 2008; SANTOS; SILVEIRA; CAFFARO, 2006). Desta forma, como a maioria da população deste estudo encontra-se entre seis e 10 anos desde o diagnóstico, observa-se a presença de tal fator como relevante para o desencadeamento da neuropatia periférica, um dos principais fatores de risco para desenvolvimento de UPD.

O uso de hipoglicemiantes orais foi relatado como a opção terapêutica mais utilizada, corroborando com os estudos de Neto, Alves e Simão (2016) e Bortoletto et al., (2010). Ressalta-se, a necessidade de orientação aos pacientes quanto a ocorrência de efeitos colaterais em relação ao uso destes medicamentos, como por exemplo, hipoglicemia, assim como, os sintomas e como preveni-los.

Foi encontrado neste estudo que a maioria dos pacientes não tomou os cuidados adequados ao descobrir o DM e não realizaram o controle glicêmico adequado. De acordo com vários estudos, o mau controle glicêmico favorece a instalação e o desenvolvimento das complicações crônicas, e aumenta o risco de neuropatia, um dos fatores preponderantes para o desencadeamento de UPD (SANTOS et al., 2015; SANTOS, 2009; GARCIA-ALVAREZ et al., 2013).

A pessoa com diabetes bem orientada e com forte atitude interfere positivamente na sua própria saúde. Se a pessoa mantiver um bom controle glicêmico, fizer atividade física e se alimentar adequadamente, além de realizar o tratamento correto prescrito, viverá muito bem com o diabetes, podendo exercer todas as atividades rotineiras (BRASIL, 2006).

Este estudo mostrou que a maioria dos pacientes apresentou UPD pela primeira vez e menor número de amputação em relação a alguns estudos como o realizado por Neto et al., (2016), onde 77,1% dos 140 pacientes diabéticos atendidos no hospital público em estudo evoluíram para amputação em membros inferiores e Santos et al., (2013) em que 50% tiveram alguma amputação.

As amputações de extremidades inferiores se constituem num sério problema de saúde pública devido a sua alta frequência e, principalmente, pela incapacidade que provoca pelo tempo de hospitalização com tratamento oneroso, gerando repercussões de ordem social e psicológica para os pacientes, comprometendo o seu convívio social e familiar (PIRES et al., 2013). Assim, destaca-se a necessidade da prestação de uma assistência de adequada aos pacientes diabéticos, principalmente na educação ao autocuidado, visando a diminuição dos altos índices de amputações e óbitos causados pelas complicações desta enfermidade.

O presente estudo demonstrou um importante número de pacientes que desconheciam a UPD e isso pode ter gerado um cuidado inadequado com os pés, e consequentemente, sentimento de tristeza em relação ao aparecimento da úlcera.

É recomendado que toda pessoa com DM realize a avaliação regular dos pés segundo periodicidade recomendada, com profissionais de nível superior (o médico de família ou, preferencialmente, o enfermeiro), para identificação fatores de risco para UPD e amputação (BRASIL, 2013).

É importante, para evitar o aparecimento de lesões nos pés, que o interior dos calçados seja inspecionado quanto a pontos em relevo ou presença de pequenos objetos, através de inspeção visual e manual, realizadas diariamente. O uso de sapatos inadequados pode propiciar a formação de bolhas e calosidades nos pés, o que poderá comprometer sua integridade, ocasionando lesões de continuidade que podem não ser percebidas, até que uma infecção grave tenha se desenvolvido (BRASIL, 2016).

As limitações de diversas ordens impostas pelo DM, tais como as restrições nutricionais, necessidade do uso contínuo de medicamentos, frustração pela dificuldade de alcançar as metas de controle, possibilidade de discriminação no ambiente social e no mercado de trabalho e incapacidades decorrentes das complicações em estado avançado, fragilizam emocionalmente e psicologicamente as pessoas diabéticas e comprometem sua autoestima, abrindo o caminho para a depressão comprometendo, assim, o autocuidado podendo levar ao aparecimento de recidivas de UPD (BRASIL, 2013).

A prevenção deve ser considerada como o maior foco na abordagem do pé diabético e redução das amputações. Para obter maior adesão aos cuidados necessários é importante o diagnóstico precoce, a sensibilização e a orientação do indivíduo e de sua família quanto a essa complicação. Alguns dos cuidados incluem rotinas de higiene diária, restrições ao caminhar descalço e orientações sobre calçados adequados (SILVA et al., 2015).

A enfermagem tem um papel de extrema importância para o DM e a consulta de enfermagem configura uma importante maneira de rastrear os pacientes com risco para desenvolverem UPD. Ao traçar o perfil de seus pacientes e formular estratégias de cuidados específicos, o enfermeiro consegue diminuir riscos e agravos, evitando as temidas sequelas relacionadas ao DM (SILVA et al., 2013). Para uma assistência integral, as ações educativas e preventivas devem contar com o apoio de uma equipe multiprofissional para elaboração e estabelecimento de metas terapêuticas com foco nos aspectos biopsicossociais individuais dos pacientes para prevenção do problema.

O presente estudo apresentou como limitação o baixo nível de escolaridade dos entrevistados que dificultou a aplicação do formulário, o qual passou por algumas modificações para facilitar o entendimento, principalmente pelos idosos entrevistados. Estudos futuros devem ser realizados, visando a investigação dos aspectos sociodemográficos, clínicos e qualidade de vida de pacientes diabéticos com UPD no município de São Luís-MA.

5 | CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu identificar as características sociodemográficas e clínicas de pacientes com UPD atendidos na rede pública de São Luís/MA. Verificou-se que a maioria era do sexo masculino, na faixa etária entre 61 a 65 anos, de raça parda, com ensino fundamental incompleto e casada. Quantos aos dados clínicos, evidenciou-se que a maioria dos pacientes tinha Diabetes Mellitus tipo II, possuía a doença há cerca de 6 a 10 anos, não tinha conhecimento prévio sobre a doença, não tomou os cuidados necessários ao descobrir a doença, não fazia controle glicêmico adequado, referiu o aparecimento da UPD pela primeira vez, não apresentou amputação, referiu ter cuidados com os pés e relatou tristeza em relação ao aparecimento da UPD.

O estudo do perfil de pacientes com UPD é fundamental como estratégia para elaboração de medidas de educação em saúde, prevenção e tratamento. Estudos dessa natureza contribuem para ações de melhoria na qualidade de vida desses pacientes.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Diagnosis and classification of diabetes mellitus.** Diabetes Care, Alexandria, v. 33, Suppl. 1, p. S62–69, 2010.

BAKKER, K. et al. **The 2015 Guidance on prevention and management of foot problems in diabetes:** development of an evidence-based global consensus. International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). Disponível em: <<http://www.iwgdf.org>>. Acesso em: 20 mai. 2015.

BOELL, J. E. W.; RIBEIRO, R. M.; SILVA, D. M. G. V. **Fatores de risco para o desencadeamento do pé diabético.** Rev. Eletr. Enferm. v.16, n.2, p. 386-393, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5216/ree.v16i2.20460>>. Acesso em: 12 mai. 2018.

BORTOLETTO, M. S. S. et al. **Caracterização dos portadores de diabetes submetidos à amputação de membros inferiores em Londrina, Estado do Paraná.** Acta Scientiarum. Health Sciences. v. 32, n. 2, p. 205-213, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Cadernos de Atenção Básica nº 16 - Diabetes Mellitus.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 64 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Cadernos de Atenção Básica n. 36 - Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: Diabetes mellitus.** Brasília: Ministério da Saúde, 2013. 160 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual do pé diabético:** estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 62 p.

CUBAS, M. R. et al. **Pé diabético:** orientações e conhecimento sobre cuidados preventivos. Fisioter Mov. v. 26, n. 3, p. 647-655, 2013.

GARCÍA-ÁLVAREZ, Y. et al. **Morphofunctional characteristics of the foot in patients with diabetes mellitus and diabetic neuropathy.** Diabetes Metab Syndr. v. 7, n. 2, p. 78-82, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Demográfico de 2010.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/indic_socio_saude/2009/default.shtml>. Acesso em: 24 mai. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa Nacional de Saúde 2013:** percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas. Brasil, grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro, IBGE, 2014, 180p.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION – IDF. **Diabetes Atlas** [Internet]. 6a ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2014. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas>>. Acesso em: 22 mai. 2018.

NETO, E. S. D.; ALVES, K. R. A.; SIMÃO, M. A. A. O. **Perfil de pacientes diabéticos submetidos à amputação de membros inferiores atendidos em hospital público no município de João Pessoa-PB.** Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança. n. 16, v. 2, p. 84-96, 2016.

OCHOA-VIGO, K. et al. **Caracterização de pessoas com diabetes em unidades de atenção primária e secundária em relação a fatores desencadeantes do pé diabético.** Acta paul. enferm. v.19, n. 3, p.296-303, 2009.

SANTOS, V. P.; SILVEIRA, D. R.; CAFFARO, R. A. **Risk factors for primary major amputation in diabetic patients.** Sao Paulo Med J. v. 124, n. 2, p. 66-70, 2006

SANTOS, D. M. T. et al. **Perfil de clientes submetidos a amputações relacionadas ao diabetes mellitus.** Rev Bras Enferm. v. 62, n. 6, p. 825-830, 2009.

SANTOS, I. C. R. V. et al. **Amputações por pé diabético e fatores sociais: implicações para cuidados preventivos de enfermagem.** Rev Rene, v. 12, n. 4, p. 684-691, 2011a.

SANTOS, I. C. R. V. et al. **Pé Diabético:** apresentação clínica e relação com o atendimento na atenção básica. Rev Rene. v. 12, n. 2, p. 393-400, 2011b.

SANTOS, I. C. R. V. et al. **Prevalência e fatores associados a amputações por pé diabético.** Ciênc. saúde coletiva. v. 18, n. 10, p. 3007-3014, 2013.

SANTOS, I. C. R. V. et al. **Fatores associados a amputações por pé diabético.** J Vasc Bras. v. 14, n. 1, p.37-45, 2015.

SILVA, J. P. et al. **O cuidado de enfermagem ao portador do pé diabético: revisão integrativa da literatura.** Cad. Grad. Ciênc. Biol. Saúde Facipe. v. 1, n. 2, p. 59-69, 2013.

SILVA, P. L. et al. **Cuidados com os pés: o conhecimento de indivíduos com diabetes mellitus cadastrados no programa saúde da família.** n. 37, p. 52-64, 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016).** Adolfo Milech [et. al.]; Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio - São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016. Disponível em:<<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/docs/DIRETRIZES-SBD-2015-2016.pdf>>. Acesso em: 22 mai. 2018

SPICHLER, D. et al. **Amputações maiores de membros inferiores por doença arterial periférica e diabetes melito no município do Rio de Janeiro.** J. Vasc. Br. v. 3, n. 2, p. 111-122, 2004.

THEME FILHA, M. M. et al. **Prevalência de doenças crônicas não transmissíveis e associação com autoavaliação de saúde:** Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. Rev Bras Epidemiol. v.18(suppl 2), p.83-96, 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbepid/v18s2/1980-5497-rbepid-18-s2-00083.pdf>>. Acesso em: 17 mai. 2018

VIEIRA-SANTOS, I. C. R. et. al. **Prevalência de pé diabético e fatores associados nas unidades de saúde da família da cidade de Recife, Pernambuco, Brasil, em 2005.** Cad. Saúde Pública, v. 24, n. 12, p. 2861-70, 2008.

APLICAÇÃO DE RTOS NA CRIAÇÃO DE DISPOSITIVO ELETROMÉDICO PARA AVALIAÇÃO DO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR INTRAOPERATÓRIO

Matheus Leitzke Pinto

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC)

Chapecó – Santa Catarina

Gustavo Ott

Contronic Sistemas Automáticos Ltda.

Pelotas – Rio Grande do Sul

Mauricio Campelo Tavares

Contronic Sistemas Automáticos Ltda.

Pelotas – Rio Grande do Sul

passível de evolução com baixo esforço de adaptação quando comparado com metodologias tradicionais de programação em microcontroladores.

PALAVRAS-CHAVE: RTOS, *software* embarcado, microcontrolador, aceleromiografia, bloqueio neuromuscular.

ABSTRACT: A Real-Time Operating System (RTOS) is a software tool that assists in the management of *hardware* resources and microprocessor applications in general, enabling the programmer to give attention to the target application. This work aimed the development of an electro-medical device under this optics, using a free RTOS. Designed around an ARM Cortex M0+ microcontroller, the device consists of a neuromuscular blocking analyzer for intraoperative use, according acceleromyography principle. Bench validation tests were conducted and showed agreement to expected essential performance. Exploring the inherent resources in the RTOS enabled to obtain an organized, understandable and low adaptation effort evolving software when compared with traditional programming methodologies in microcontrollers.

KEYWORDS: RTOS, *embedded software*, microcontroller, acceleromyography, neuromuscular blocking.

RESUMO: Um Sistema Operacional de Tempo Real (*Real-Time Operating System* - RTOS) é uma ferramenta que auxilia no gerenciamento dos recursos do *hardware* e na organização geral de *softwares* embarcados, possibilitando que o programador dedique maior atenção à aplicação alvo. A motivação deste trabalho foi o desenvolvimento de um dispositivo eletromédico sob esta ótica, com uso de um RTOS livre de custos. Projetado em torno de um microcontrolador com núcleo ARM Cortex M0+, o dispositivo consiste em um analisador de bloqueio neuromuscular para uso intraoperatório, utilizando o princípio da aceleromiografia. Testes de validação conduzidos em bancada evidenciaram atendimento ao desempenho essencial esperado do protótipo. O uso dos recursos inerentes do RTOS permitiu obter um *software* organizado, compreensível e

1 | INTRODUÇÃO

Os equipamentos eletromédicos que utilizam recursos computacionais podem ser enquadrados na categoria de sistema embarcado (MARWEDEL, 2011). Sob este prisma, muitas das características e restrições de um sistema embarcado passam a pertencer ao escopo do equipamento de uso médico projetado em torno de um microprocessador ou microcontrolador (*Microcontroller Unit - MCU*).

O presente trabalho teve como objetivo a criação de um protótipo de equipamento não invasivo para avaliação do índice de bloqueio neuromuscular (IBN) de paciente sob o efeito de anestesia geral. Foi empregada a técnica da aceleromiografia (MOGENSEN et al., 1988), quantificando o movimento do polegar em resposta à aplicação de um estímulo elétrico sobre o nervo motor correspondente. Durante a execução do projeto em questão, para o controle do *hardware* foi escolhido um MCU da família ARM de 32 bits, com núcleo do tipo Cortex M0+. O *hardware* foi projetado considerando uma possível expansão, com o objetivo de construir futuramente um dispositivo autônomo e portátil, com interface homem-máquina (IHM) incorporada. No tocante a *software*, o foco foi colocado na utilização de um sistema operacional de tempo real (*real-time operating system - RTOS*) em contraponto ao método convencional *baremetal*, codificando máquinas de estados sob um *superloop*. A motivação para esta abordagem foi a busca por flexibilidade, modularidade, previsibilidade, atendimento a tempo real nas tarefas críticas e facilidade de alteração futura no código (ANH; TAN, 2009; COOLING, 2013).

2 | CONCEITOS DE SISTEMAS EMBARCADOS E RTOS

Os sistemas embarcados são sistemas eletrônicos computacionais dedicados que apresentam funcionalidade restrita para atender uma tarefa específica em sistemas maiores, nos quais estão inseridos (MARWEDEL, 2011). Podem ser encontrados nas mais diversas aplicações, como no controle de veículos e aviões, eletrônica de consumo, sistemas de comunicação, equipamentos médicos e mesmo em entretenimento. A existência de diversos nichos de aplicação faz com que os componentes que constituem um sistema embarcado se diferenciem para atender as necessidades de cada projeto.

O *hardware* de um sistema embarcado é formado por sensores e atuadores, memórias, unidades de processamento e elementos de comunicação (MARWEDEL, 2011; NULL; LOBUR, 2011). Elencou-se como unidade de processamento um MCU, caracterizado por conter processador e periféricos em um mesmo chip. Sua capacidade de processamento é consideravelmente menor com relação aos processadores de uso geral contidos em computadores pessoais. Esse dispositivo é projetado com foco em determinismo, pequenas dimensões, baixo consumo de energia e baixo custo.

O desenvolvimento do *software* embarcado para uso em um MCU, denominado

firmware, é comumente feito utilizando linguagem de montagem (*assembly*) ou alguma linguagem de programação em mais alto nível, predominantemente C. Quando não se emprega um Sistema Operacional (SO) como parte do *firmware*, a técnica é denominada *baremetal*. Nesse caso, consiste na execução de um *loop* principal (*superloop*) que contém chamadas condicionais a funções que realizam as operações desejadas. Quando ocorrem eventos, interrupções de *hardware* ou *software*, rotinas de tratamento de interrupção são invocadas para realizar as ações necessárias. A modelagem desses sistemas geralmente é feita através do uso de máquinas de estados (WHITE, 2011).

No uso de SO objetiva-se tornar mais conveniente a programação do sistema e mais eficiente a utilização do *hardware* (OLIVEIRA; CARISSIMI; TOSCANI, 2009). No projeto de sistemas embarcados, por serem sistemas reativos (MARWEDEL, 2011), existe interesse em atender demandas do ambiente dentro de um período pré-determinado de tempo. O atendimento de tais requisitos requer cuidado na gerência dos recursos do sistema, que são tomados na implementação de RTOSes. Em um RTOS a atenção é dedicada ao comportamento temporal, ou seja, são SOs cujos serviços são definidos não somente em termos funcionais mas também em termos temporais (FARINES; DA SILVA FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000).

A maioria das aplicações embarcadas são do tipo *soft real-time* (FARINES; DA SILVAFRAGA; DE OLIVEIRA, 2000) e, nesse caso, a preocupação do projetista resume-se a escolher um RTOS com boas propriedades temporais, além de outros fatores como modularidade, serviços de gerência dos recursos de *hardware* e comunicação de tarefas que facilitem o desenvolvimento do sistema. Nesse cenário a abordagem com RTOS é tão mais interessante quanto maior se tornar o projeto, sendo igualmente atrativa quando o desenvolvimento é compartilhado por dois ou mais programadores. Em *baremetal* o controle do sistema pode se tornar uma tarefa penosa após uma simples modificação: por exemplo, o tempo dispendido na execução de um módulo extra, eventualmente inserido no *firmware*, pode interferir no desempenho global do sistema. Portanto, uma forma de tornar o desenvolvimento desses sistemas algo mais modular e controlável consiste na adoção de um RTOS. Este provê um *framework* de *software* que ajuda a estruturar todo o código do sistema. Os programadores tornam-se mais produtivos, já que o código é dividido em módulos que podem ser criados e testados separadamente. Outro benefício decorrente do uso de RTOS é a portabilidade com a adição de *device drivers* (FARINES; DA SILVA FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000).

Entretanto, somente a aplicação de testes de escalonabilidade ou o uso do escalonamento Executivo Cílico são capazes de garantir o atendimento de requisitos temporais do tipo *hard* (FARINES; DA SILVA FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000).

3 | AVALIAÇÃO DO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR

A realização de cirurgia com o paciente em nível de bloqueio neuromuscular adequado apresenta interesse social e econômico, pois permite reduzir a morbimortalidade, além dos custos associados com o tempo e procedimentos especializados despendidos nas salas de recuperação e centros de terapia intensiva. Para realizar tais intentos são necessários meios objetivos para monitoração do paciente e determinação quantitativa do nível de bloqueio, o que se materializa na forma de um índice calculado periodicamente antes, durante e após o procedimento, até que o paciente consiga respirar por seus próprios meios.

Por serem estimuláveis eletricamente, é possível enviar pulsos elétricos para células nervosas ligadas a um músculo e, com isso, causar movimento. Este fenômeno é chamado de transmissão neuromuscular (TNM) e pode ser desencadeado com auxílio de um estimulador neuromuscular elétrico (*neuromuscular electrical stimulator*- NMES), cuja corrente de saída atinge o nervo através de eletrodos dispostos em seu trajeto anatômico. A ação do músculo estimulado dessa forma é chamada resposta motora evocada (MOGENSEN et al., 1988). Foi projetado um NMES que excita o nervo ulnar, responsável pela contração de músculos da mão que flexionam o polegar, visando criar uma resposta motora evocada (PADMAJA; MANTHA, 2002). É fundamental que um NMES gere correntes que ativem consistentemente todos os neurônios de um nervo, induzindo graus idênticos de despolarização das fibras nervosas no decorrer do tempo. A TNM através dos nervos pode ser bloqueada com o uso de drogas de bloqueio neuromuscular (BNM) ou relaxantes musculares. Há complicações e efeitos indesejáveis no uso inadequado de BNM (LOCKS et al., 2015), portanto é necessário o controle no seu uso durante práticas cirúrgicas. Considera-se o registro da resposta evocada em músculos específicos, através de um NMES nos nervos inervados nos mesmos, a melhor maneira de se avaliar o IBN em um paciente (PADMAJA; MANTHA, 2002). Através do uso de certos padrões de estímulo, é possível obter uma resposta evocada em forma de movimento e relacioná-la com o grau de BNM em função de suas características. O TOF (*Train-Of-Four*) é o padrão de monitoração da TNM mais utilizado na avaliação de BNM (PADMAJA; MANTHA, 2002). Consiste na emissão de quatro estímulos de corrente supra máximas com duração de 0,1 ms a 0,2 ms cada um, a intervalos de 0,5 segundos, o que corresponde a uma frequência de 2 Hz. A representação do estímulo TOF é mostrada na Figura 3.1. É possível observar de forma intuitiva o funcionamento das respostas motoras evocadas do paciente por estímulo TOF na Figura 3.2.

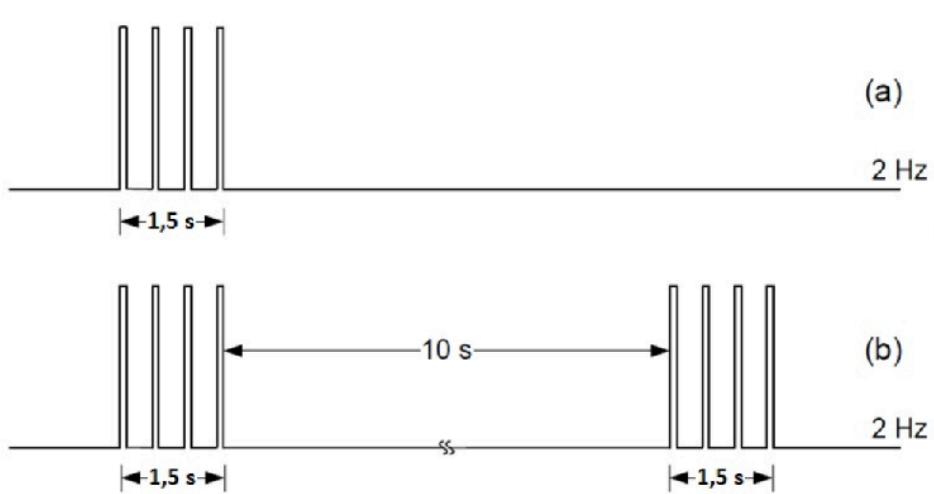


Figura 3.1 – Representação do protocolo TOF. Estímulo único (a) e janelas periódicas de estímulo (b).

Essas respostas são analisadas no momento da aplicação do TOF. A razão da quarta resposta (T_4) para a primeira (T_1) de um trem de pulsos estima o IBN. Esta relação T_4/T_1 ou índice TOF, comumente referenciada em valores percentuais, é inversamente proporcional ao IBN naquele momento.

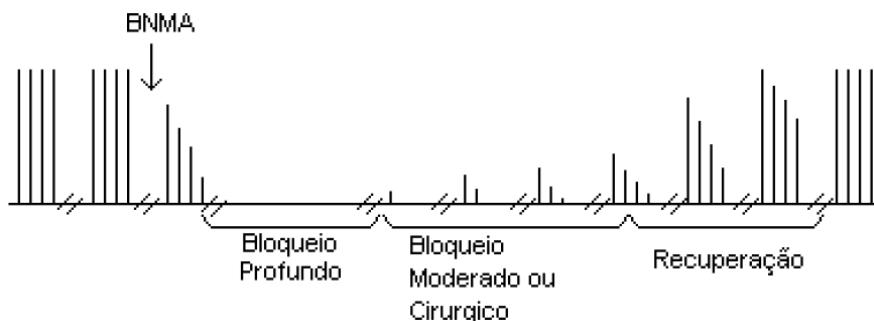


Figura 3.2 – Respostas características do protocolo TOF para os estados de bloqueio profundo, bloqueio moderado e recuperação após a aplicação de bloqueador neuromuscular a despolarizante (BNMA).

Para a avaliação prática da resposta motora evocada é registrada a força de contração do músculo do polegar do paciente em função das estimulações do TOF, método conhecido como miografia. O método miográfico escolhido foi a aceleromiografia (AMG) que mede a resposta evocada motora de um músculo por meio de sua aceleração (MOGENSEN et al., 1988), correlacionando com a primeira lei de Newton. O dispositivo empregado para medição de aceleração foi um acelerômetro microeletromecânico (*Micro-Electro-Mechanical Systems - MEMS*) afixado ao polegar do paciente.

4 | PROTOTIPO DO DISPOSITIVO

Na Figura 4.1 está representado o diagrama de blocos do sistema, contendo o dispositivo desenvolvido e componentes externos com os quais interage: um

computador pessoal (PC) que desempenha as funções de interface homem-máquina (IHM) e o paciente que receberá o bloqueador neuromuscular, ao qual serão afixados os eletrodos de estimulação elétrica e o acelerômetro.

Sem o objetivo de constituir um produto acabado, o protótipo foi montado como prova de conceito. É importante destacar que nesta fase do trabalho não houve realização de testes clínicos, ficando o escopo restrito ao desenvolvimento e avaliação funcional do dispositivo com os meios disponíveis em bancada. Na Figura 4.2 estão presentes: (A) a placa de prototipação contendo o MCU, sobreposta por um *shield* de interconexão, (B) placa do acelerômetro, (C) NMES, (D) bateria de 9 V e (E) carga resistiva. Esses componentes serão descritos a seguir.

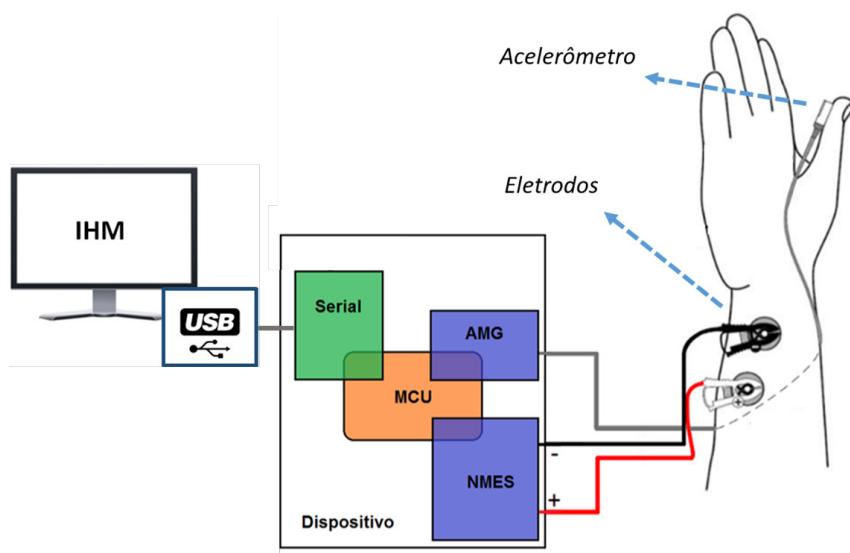


Figura 4.1 - Diagrama de blocos do dispositivo

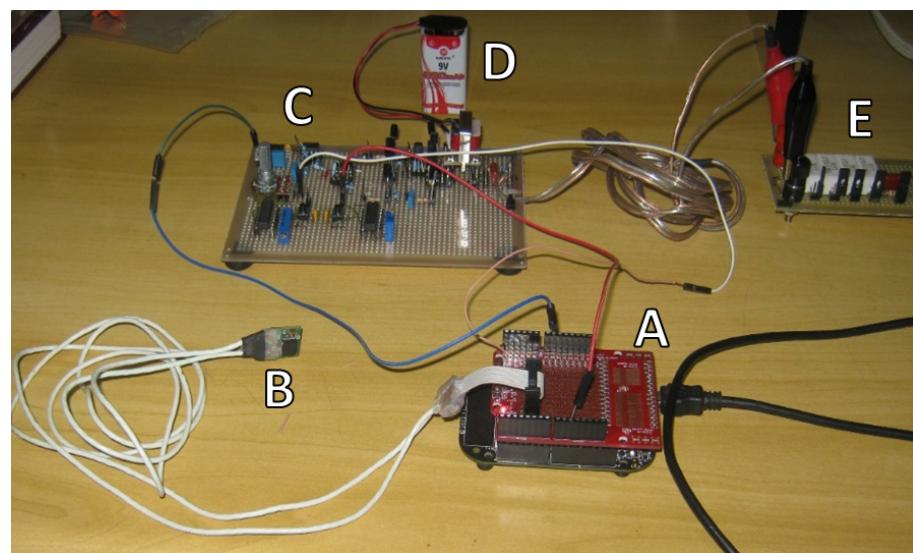


Figura 4.2 - Protótipo do dispositivo.

4.1 Microcontrolador e RTOS

O MCU é o componente do *hardware* que atua como gerenciador do dispositivo, executando o RTOS e as tarefas programadas, incluindo a geração dos estímulos

elétricos, a aquisição e o condicionamento das amostras obtidas do acelerômetro. Para esta função elegeu-se o MCU Kinetis MKL25Z128VLH4 (KL25Z) da NXP, um ARM Cortex-M0+ adequado para aplicações alimentadas com baterias. Este MCU suporta variados sistemas operacionais, com destaque para *FreeRTOS* e MQX. O *FreeRTOS* fornece serviços para criação e destruição de tarefas, escalonador de prioridades *preemptivo*, mecanismos de exclusão mútua e compartilhamento de recursos de *hardware* entre tarefas. Escrito em linguagem C com código aberto, é portável para mais de 30 arquiteturas e consome pouca memória (FREERTOS, 2018). O MQX é fornecido pela NXP para uso em seus MCUs e oferece recursos adicionais, ao custo de ocupar mais memória e apresentar curva de aprendizado mais longa. Por critério de simplicidade foi escolhido o *FreeRTOS*, sendo decorrente a necessidade de estudo da sua API (*Application Programming Interface*), dos meios de integração com o MCU escolhido e das técnicas de programação concorrente e de tempo real. As tarefas periódicas desenvolvidas para a execução pelo *FreeRTOS*, da mais prioritária à menos prioritária são: inicialização, NMES, AMG_Aq e AMG_Env, Serial_Env e Serial_Rec. A tarefa inicialização é criada apenas para esperar um pacote de inicialização do PC, sendo em seguida destruída. As demais tarefas serão descritas com mais detalhes nas subseções.

O método de escalonamento empregado é o Executivo Cíclico (FARINES; DA SILVA FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000) definindo-se relações de precedência entre as tarefas por meio de chamadas de sistema para suspensão e reativação das mesmas, sendo a escala criada em tempo de projeto (*offline*) e apresentada na Figura 4.3. As tarefas Serial_Rec e Serial_Env são tarefas aperiódicas, pois tratam eventos aperiódicos de envio/recepção de dados pela interface serial. Contudo, as tarefas AMG_Env e Serial_Env foram modeladas como uma única tarefa para escala, pois para o protótipo ambas sempre irão executar sequencialmente com o intuito de enviar as amostras de aceleração para o PC, sendo o tempo de computação (FARINES; DA SILVA FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000) calculado sobre seu total. Por ter uma prioridade inferior com relação às demais tarefas, a execução de Serial_Rec não interfere na escala criada. As folgas geradas garantem intervalos suficientes para o atendimento ao evento aperiódico, mas sem garantias. Para a medição do tempo de computação foram colocadas funções no início e fim das tarefas (ver Figura 4.4) que açãoam pinos de GPIO (*General Purpose Input-Output*), permitindo mensurar via osciloscópio. Não sendo utilizadas funções que gerem indeterminismo, esses valores puderam ser obtidos com um número reduzido de testes.

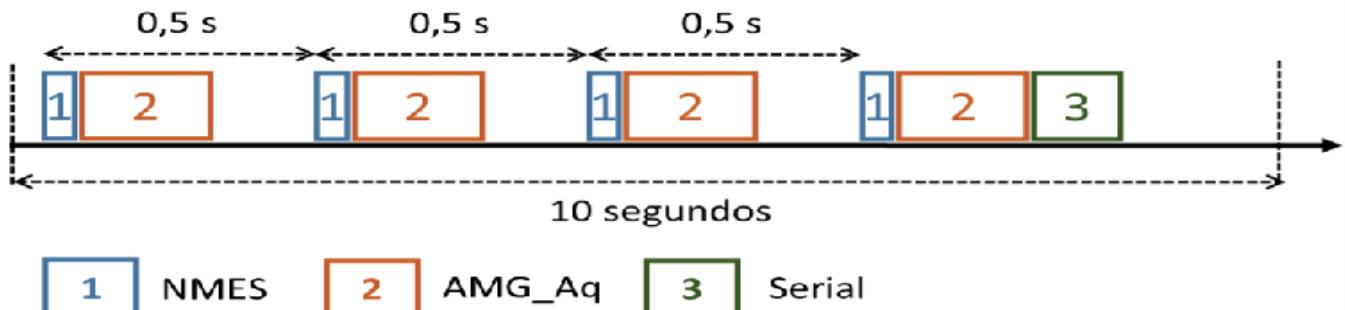


Figura 4.3 – Escala das tarefas criadas. As legendas indicam o tempo de computação das tarefas NMES (210 µs), AMG_Aq (300 ms) e Serial (100 ms).

```
tarefa()
{
    [...]/*Inicialização da tarefa*/
    /*Laço de execução da tarefa*/
    loop() {
        GPIO_Escreve(pino, ALTO);
        [...]/*Instruções de execução da tarefa*/
        GPIO_Escreve(pino, BAIXO);
    }
    [...]
```

Figura 4.4 – Localização das instruções de GPIO em uma tarefa, para medição do tempo de computação.

As ligações entre o MCU e os demais dispositivos do protótipo foram facilitadas pela arquitetura da placa de desenvolvimento FRDM-KL25Z, Revisão E.

4.2 Estimulador Elétrico Neuromuscular (NMES)

O NMES é composto pelos periféricos de GPIO e conversor digital-analógico (DAC) do MCU e uma etapa analógica composta por um conversor tensão-corrente e circuito de realimentação, cujo diagrama de blocos é apresentado na Figura 4.5. Cada instância da tarefa de NMES no MCU é responsável pela geração de um pulso de corrente. O circuito de chaveamento transistorizado é acionado por um GPIO, pela duração correspondente a um pulso TOF. A amplitude dos pulsos é determinada por um amplificador controlado pela tensão gerada pelo DAC do MCU, chamada V_{DAC} . Com resolução de 12 bits, é possível gerar pulsos de corrente precisos nos eletrodos.

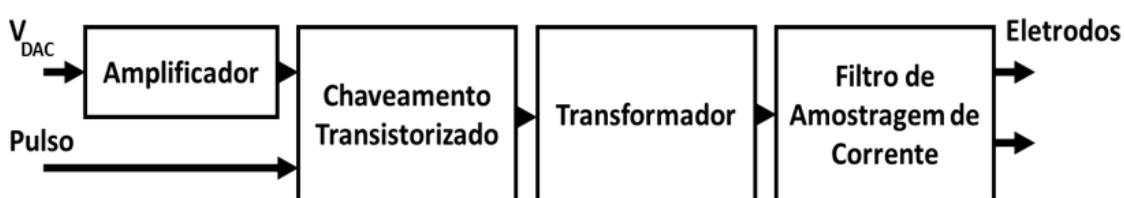


Figura 4.5 – Diagrama de blocos do *hardware* específico para NMES.

Um resistor de prova de $10\ \Omega$ (*shunt resistor*) está associado em série com o terminal negativo do estimulador, para amostragem da corrente efetiva. Na alimentação do circuito foi usada uma bateria de 9 V e capacidade de 320 mA/h. Para simular a impedância característica da pele humana foi desenvolvido um circuito simulador de carga, padrão AAMI NS4:1986, com opções de $500\ \Omega$ e $1\ k\Omega$.

4.3 Aceleromiógrafo

O aceleromiógrafo é composto pelo periférico de comunicação I²C do MCU e por um acelerômetro fixado ao polegar do paciente, conforme descrito. Foi escolhido um acelerômetro digital com comunicação I²C, modelo LIS03LV02DQ da *STMicroelectronics*.

Para que seja possível obter o vetor de aceleração do polegar no espaço tridimensional é necessário relacionar os valores obtidos dos três eixos do acelerômetro através de fórmula da aceleração resultante (HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2008). Alguns cuidados foram tomados:

- número de bits suficiente para a representação da aceleração resultante;
- filtragem digital da componente de aceleração da gravidade nas medições;
- tempo de estabilização das leituras amostradas devido à ação de filtragem.

A tarefa AMG_Aq tem a função de amostrar a resposta evocada através de cada pulso do NMES na forma de dados do acelerômetro e realizar a conversão dos valores digitais dos eixos em aceleração real do movimento do polegar, independentemente de sua posição espacial. Cada janela de reação do paciente é grande o suficiente para que a tarefa execute após a tarefa NMES. No fim da geração dos pulsos, as amostras de AMG são enviadas ao PC através da tarefa Serial (AMG_Env + Serial_Env).

4.4 Serial

A Serial é o subsistema responsável pela comunicação entre o dispositivo e o PC, formado pelo periférico UART do MCU e conversor UART/USB presente na placa FRDM-KL25Z. Cada mensagem enviada é genericamente denominada “pacote” (Figura 4.6), contendo um conjunto de *bytes* com informações específicas. Os pacotes são divididos em três partes, sendo elas:

- Código de cabeçalho: indica o tipo de pacote ao receptor e o que esperar no resto do pacote.
- *Payload*: conjunto variável de bytes - quando presente contém dados, mandos ou ambos.
- CRC8: Quando houver *payload*, o último byte do pacote é o código de “*Cyclic Redundancy Check 8*” relativo ao *payload*, permitindo validar os dados no receptor (SOBOLEWSKI, 2003).



Figura 4.6 – Seções de um pacote.

O protocolo de comunicação é bidirecional *full-duplex*, controlado por *handshake* em *software*. O dispositivo emissor do pacote (PC ou MCU) espera, com *timeout*, pela confirmação de recepção pela contraparte. No *setup* desenvolvido o cabo USB também provê a alimentação elétrica para os circuitos lógicos do dispositivo.

As tarefas do RTOS relacionadas com o subsistema são Serial_Env, AMG_Env e Serial_Rec. A primeira tem o objetivo de ser um *gatekeeper* (CURTIS, 2011), para controle no acesso ao barramento serial para envio, evitando assim condições de corrida (OLIVEIRA; CARISSIMI; TOSCANI, 2009). Qualquer tarefa inserida no sistema não terá acesso direto ao *hardware* serial, mas deverá realizar uma chamada de sistema para enviar seus dados dentro de uma estrutura do tipo FIFO (*First-In, First-Out*) (OLIVEIRA; CARISSIMI; TOSCANI, 2009). Quando tomar a vez do processador, a tarefa Serial_Env irá retirar os itens e envia-los à interface. A tarefa AMG_Env tem a única função de converter as amostras do acelerômetro em pacotes e realizar a chamada de sistema para envio.

A tarefa aperiódica de recepção serial espera pela liberação de um semáforo binário (OLIVEIRA; CARISSIMI; TOSCANI, 2009) por um evento gerado pelo módulo UART do KL25Z que indica a recepção de um byte no seu *buffer* de entrada. Quando isso ocorre o primeiro byte recebido é avaliado como um código de cabeçalho. Se o código for reconhecido e não contiver *payload*, o MCU envia o mesmo código como reconhecimento para o PC; se o código for reconhecido e contiver *payload*, espera pelo restante dos dados e realiza a validação pelo CRC8.

Se a checagem resultar em erro ou o comando não for reconhecido, um código de erro é enviado. Se o pacote for válido será executada a ação associada ao código contido no primeiro byte.

4.5 Interface Homem-Máquina (IHM)

O programa que executa no PC foi desenvolvido na IDE *Microsoft Visual Studio* 2008, com a linguagem C# e o *.NET framework*. O programa contém três gráficos que descrevem características dos movimentos do polegar. Na Figura 4.7 é apresentada a janela com os gráficos.

O gráfico superior esquerdo evidencia quatro janelas de amostras da aceleração do dedo do paciente correspondentes aos períodos dos quatro pulsos elétricos aplicados pelo estimulador. O gráfico permanece estático até o próximo trem de pulsos. É definida no *software* uma aceleração de limiar, abaixo da qual as amostras são consideradas nulas. Definiu-se esse limiar em 0,12 g, de forma a filtrar possíveis

movimentos não correlacionados aos estímulos. O gráfico à direita contém quatro barras, correspondentes às médias das amostras de aceleração geradas após cada pulso elétrico, normalizadas em relação ao primeiro pulso. Quando esse pulso for nulo, as quatro barras terão amplitude zero. Quando houver qualquer sinal de aceleração válido no primeiro pulso, a barra correspondente terá amplitude 100. Quando a média das outras amostras for maior que a primeira, as amplitudes aparecerão como 100 no gráfico. O gráfico inferior sumariza o índice TOF pelo tempo, começando a partir da comunicação com o dispositivo. O IBN é apresentado através do valor do percentual TOF a cada instante e mostrado à direita do gráfico. O painel à direita contém botões para comunicação com o dispositivo.

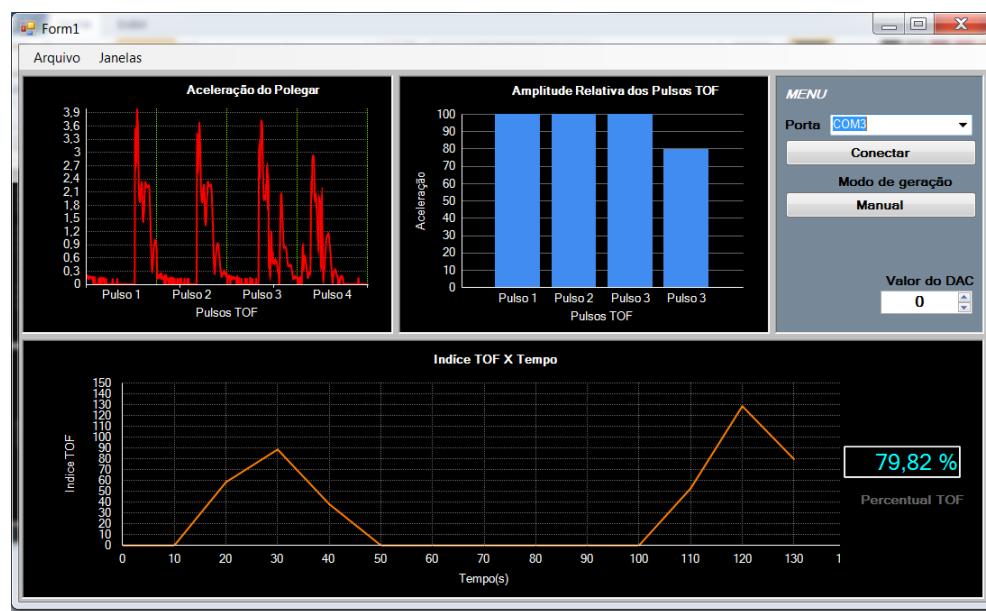


Figura 4.7 – Interface do **software** de visualização gráfica.

A operação ocorre em modo continuo, sendo os TOFs gerados pelo dispositivo, ou em modo manual, quando nenhum estímulo TOF será gerado até ser solicitado pelo PC. Quando isto ocorrer, o dispositivo deve gerar um estímulo TOF no mesmo instante. Os pacotes de amostras são enviados ao PC seguindo o mesmo protocolo do modo contínuo.

5 | RESULTADOS

5.1 Teste do NMES

A validação do sistema de estimulação neuromuscular foi feita em duas etapas: verificação da duração correta entre os pulsos TOF, gerados pelos pinos de GPIO e DAC; medição da corrente de saída, circulante sobre a carga AAMI nas posições de $500\ \Omega$ e $1\ k\Omega$, para várias intensidades da tensão V_{DAC} . Foi utilizado um osciloscópio digital Meastech GDS-2202 calibrado com rastreabilidade à RBC. A frequência dos

pulsos medida em ambos os canais é de 2,00 Hz, conforme recomendado no padrão TOF (PADMAJA; MANTHA, 2002). Na Figura 5.2 é detalhado um dos quatro pulsos do TOF, cuja duração nominal é de 200 μ s. A duração do pulso no canal 2 é de 203,2 μ s porque o *software* aciona o DAC antes do início do pulso efetivo e desliga a saída do DAC logo após a geração do pulso. O pulso que efetivamente comanda o estimulador elétrico é representado no canal 1, dura 198,0 μ s e representa o comando da tarefa do RTOS sobre o pino GPIO mostrado na Figura 4.5.

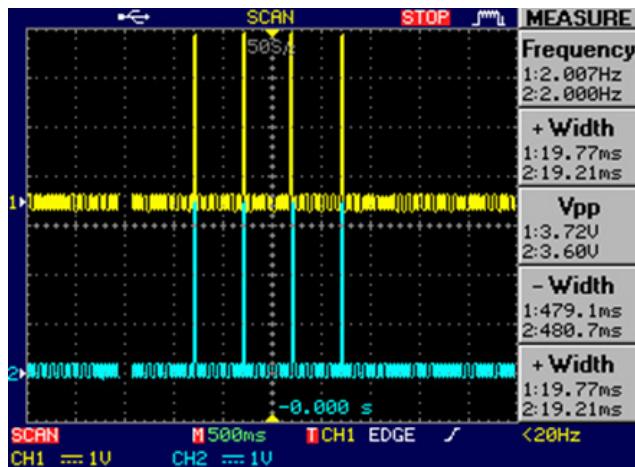


Figura 5.1 - Amostra dos pulsos de GPIO (canal 1) e DAC (canal 2) para análise da geração do estímulo TOF.

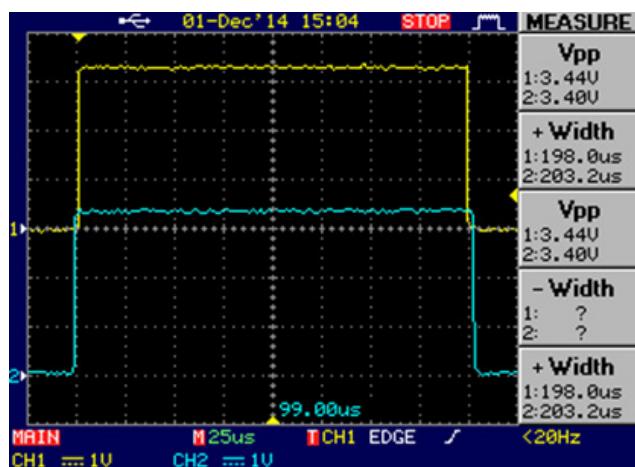


Figura 5.2 - Duração efetiva dos pulsos gerados para comando do estimulador elétrico via tarefa do RTOS.

5.2 Teste do AMG

A validação do sistema de AMG ocorreu através de simulação da situação real de uso. O teste com o acelerômetro consistiu na avaliação da aquisição das amostras dos eixos e posterior cálculo da aceleração resultante. Com o auxílio do circuito depurador contido na placa FRDM-KL25Z e do depurador de *software* contido na IDE Visual Studio, foram analisadas as sequências de amostras geradas pela tarefa de aceleromiografia. Foi arbitrado um protocolo que simula a utilização clínica: i) polegar não responsivo aos pulsos elétricos; ii) polegar respondendo com igual aceleração

a cada pulso elétrico; iii) polegar respondendo com aceleração menor a cada um dos quatro pulsos do TOF. Os dados obtidos foram qualitativamente coerentes com os movimentos realizados segundo o protocolo. Sendo o IBN definido pela relação percentual entre as acelerações obtidas nos quatro pulsos do TOF, não é necessária calibração absoluta das acelerações, nem que seja estabelecida correlação entre a escala de medição e as condições neuromusculares de cada paciente.

Os gráficos exibidos na IHM foram validados por meio de comparação direta entre os valores contidos nos *buffers* de amostras presentes na RAM do MCU e os valores exibidos na tela do computador.

5.3 Validação do cálculo do IBN

Tratando-se de um cálculo percentual básico, a validação da tarefa de cálculo do IBN foi realizada comparando os valores fornecidos na IHM com valores calculados manualmente, utilizando séries de amostras de aceleração obtidas através da execução do protocolo clínico simulado já descrito.

6 | DISCUSSÃO

Alguns projetistas que criam dispositivos com MCU costumam questionar a adoção de RTOS. Afirmam que aplicações simples, que demandam uma quantidade baixa de tarefas, com pouca complexidade e interdependência, não justificam seu uso. Isto decorre do fato de que o método difundido nos ambientes acadêmicos e industriais no Brasil é o *baremetal*. Alguns desenvolvedores alegam não utilizar porque simplesmente não precisam (EETIMES, 2017). Aparentes desvantagens de usar um RTOS em sistemas embarcados de pequeno porte são a curva de aprendizado e a sensação de “perda de controle” relatada pelos programadores à moda antiga, acostumados a escalonar estaticamente as tarefas da aplicação, geralmente na forma de uma ou mais máquinas de estados (WHITE, 2011). Apesar disso, pode-se avaliar por esse trabalho que ainda assim é possível o escalonamento estático com RTOS, mantendo algumas de suas vantagens. Pondera-se que a adoção de RTOS não deve ser indiscriminada, porém é recomendável e potencialmente recompensadora nos seguintes casos: i) o sistema embarcado será modificado em algum momento futuro, com adição de novos blocos de *hardware* ou novas funções; ii) o sistema embarcado utiliza MCU único e contém vários blocos funcionais que precisam ser executados em tempo real, com baixa tolerância a latências; iii) os próximos projetos utilizarão MCUs de maior porte, com mais periféricos e/ou sistema de interrupções mais complexo; iv) o projetista de *software* precisa criar sistemas embarcados com desempenho e *time-to-market* competitivos.

Outro aspecto que causa resistência à adoção de RTOS é a necessidade de verificação e validação dos *softwares* embarcados em equipamentos eletromédicos, requisitada pelas normas técnicas vigentes. Nestes casos é importante avaliar a

viabilidade de uso do *SafeRTOS*, uma versão do *FreeRTOS* validada para uso em saúde que utiliza basicamente a mesma API. Além disso, cabe salientar que apesar do escalonamento das tarefas críticas ter sido pensado e projetado para a concepção de um sistema *hard real-time*, diversos detalhes de construção devem ser considerados, tais como aspectos referentes sobre o *hardware* empregado (AXER et al., 2014). O MCU KL25Z, apesar de apresentar boas características de determinismo, contém um núcleo que não foi projetado especificamente para aplicações de *hard real-time*. Em contrapartida, as folgas entre os períodos de ativação garantem uma boa margem de determinismo na execução das tarefas.

No presente trabalho foi defendida a adoção de RTOS justamente em busca das vantagens citadas. Está entre os objetivos futuros o aperfeiçoamento do dispositivo nos seguintes pontos: alimentação por baterias recarregáveis, implicando na adição de um *chip fuel gauge* (I^2C); medição da corrente efetiva que circula pelos eletrodos (ADC); incorporação da IHM ($I^2C/SPI/GPIO$); adição de memória SD (SPI) para armazenar o índice IBN durante os procedimentos clínicos; comunicação *Bluetooth* (UART/SPI). Cada um desses módulos necessitará de tarefas específicas, com novos acessos ao *hardware* e com diferentes prioridades, que serão executadas pelo mesmo MCU. O uso de RTOS tornará mais simples a inserção desses aperfeiçoamentos, visto que não será preciso reformular toda a implementação de *software*.

Por fim, foi escolhido o método de escalonamento Executivo Cíclico, pois foi considerado o mais adequado para o conjunto de tarefas corrente. Entretanto, métodos de escalonamento dinâmicos como *Deadline Monotonic* (FARINES; DA SILVA FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000) podem ser empregados se algumas modificações forem realizadas. Por exemplo, as tarefas NMES e AMG_Aq poderiam ser agrupadas em uma única tarefa, com tempo de computação igual à soma dos tempos de computação das mesmas e período igual à 10 s, ao custo de adição de ociosidade do processador. Nesse caso, a escala poderia ser criada *online* (FARINES; DA SILVA FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000).

7 | CONCLUSÃO

O dispositivo projetado desempenhou suas funções de acordo com as especificações encontradas na literatura, considerado o ambiente e condições restritas nas quais foi testado. A temporização dos pulsos TOF e dos intervalos foi gerada corretamente e a aceleração do polegar pôde ser mensurada utilizando o protocolo clínico simulado.

Com o objetivo de tornar o *software* mais controlável, abstrato e modificável, foi adotado um RTOS para concepção e construção do sistema, em detrimento à abordagem convencional *baremetal*. Utilizar as funções de temporização e escalonamento de tarefas do *kernel* do *FreeRTOS* foi útil para controlar a execução da aplicação com

maior facilidade. Tarefas de menor prioridade puderam ser inseridas para execução apenas nos momentos oportunos, sem interferir na execução das tarefas de maior prioridade.

REFERÊNCIAS

- ANH, Tran Nguyen Bao; TAN, Su-Lim. Real-time operating systems for small microcontrollers. **IEEE micro**, v. 29, n. 5, p. 30–45, 2009.
- AXER, Philip et al. Building timing predictable embedded systems. **ACM Transactions on Embedded Computing Systems (TECS)**, v. 13, n. 4, 2014.
- COOLING, J. **Real-Time Operating Systems**. 1. ed. [s.l.] : Lindentree Associates, 2013.
- CURTIS, Keith E. **Embedded Multitasking**. Burlington: Elsevier, 2011.
- EETIMES. **2017 Embedded Markets Study**, 2017. Disponível em: <<https://m.eet.com/media/1246048/2017-embedded-market-study.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2018.
- FARINES, Jean-Marie; DA SILVA FRAGA, Joni; DE OLIVEIRA, Rômulo Silva. **Sistemas de Tempo Real**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. Disponível em: <<http://www.romulosilvadeoliveira.eng.br/livro-tr.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2018.
- FREERTOS. **FreeRTOS**. 2018. Disponível em: <<https://www.freertos.org/>>. Acesso em: 16 ago. 2018.
- HALLIDAY, David; RESNICK, Robert; WALKER, Jearl. **Fundamentos de Física Volume 1: Mecânica**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos, 2008.
- LOCKS, Giovani de Figueiredo et al. Uso de bloqueadores neuromusculares no Brasil. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 65, n. 5, p. 319–325, 2015.
- MARWEDEL, Peter. **Embedded System Design**. Dordrecht: Springer, 2011.
- MOGENSEN, J. Viby et al. Measurement of acceleration: a new method of monitoring neuromuscular function. **Acta anaesthesiologica scandinavica**, v. 32, n. 1, p. 45–48, 1988.
- NULL, Linda; LOBUR, Julia. **Princípios Básicos de Arquitetura e Organização de Computadores**. Porto Alegre: BOOKMAN, 2011.
- OLIVEIRA, Rômulo S.; CARISSIMI, Alexandre S.; TOSCANI, Simão S. **Sistemas Operacionais-Vol. 11: Série Livros Didáticos Informática UFRGS**. Porto Alegre: Bookman Editora, 2009.
- PADMAJA, D.; MANTHA, Srinivas. Monitoring of neuromuscular junction. **Indian J Anaesth**, v. 46, n. 4, p. 279–288, 2002.
- SOBOLEWSKI, John S. Cyclic redundancy check. In: **Encyclopedia of Computer Science**. [s.l.] : John Wiley and Sons Ltd., 2003. p. 476–479.
- WHITE, Elecia. **Making Embedded Systems: Design Patterns for Great Software**. Sebastopol,: “O'Reilly Media, Inc.”, 2011.

ATUAÇÃO DO SETOR DE ENGENHARIA CLÍNICA: UM ESTUDO DE CASO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ONOFRE LOPES

Camila Beatriz Souza de Medeiros

Engenheira Biomédica pela Universidade Federal
do Rio Grande do Norte
Natal - Rio Grande do Norte

Taline dos Santos Nóbrega

Engenheira Biomédica pela Universidade Federal
do Rio Grande do Norte
Natal - Rio Grande do Norte

Beatriz Stransky

Professora associada no Departamento de
Engenharia Biomédica da Universidade Federal
do Rio Grande do Norte
Natal - Rio Grande do Norte

tempo médio que o equipamento ficou parado neste período. Os resultados mostram que estes indicadores servem para avaliar de forma coerente os serviços prestados e se correlacionam adequadamente com o *status* de funcionamento dos equipamentos, melhorando o controle de qualidade e a eficiência dos processos que envolvem o setor de Engenharia Clínica.

PALAVRAS-CHAVE: Engenharia clínica, Gestão hospitalar, Indicadores, Diagnóstico por imagem, Hospital Universitário Onofre Lopes.

ABSTRACT: In a clinical engineering sector, performance and quality indicators of the processes involved are essential tools in the management of medical technology. In this study we conducted a case analysis to evaluate the procedures of the Clinical Engineering sector related to the diagnostic imaging equipment at the Onofre Lopes University Hospital (OLUH), between October 2014 and September 2015. The indicators assessed the amount of service's orders requested and completed in this period, the average time that the service providers companies require to perform service, the amount of orders requested by equipment and the amount of days that the machine had been stopped at that period. The results showed that these indicators are able to evaluate consistently the services provided by companies in the

RESUMO: No um setor de engenharia clínica, os indicadores de desempenho e de qualidade dos processos envolvidos são ferramentas essenciais no gerenciamento da tecnologia médica. Desta forma, realizou-se um estudo de caso no Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL) referente às manutenções realizadas nos equipamentos de diagnóstico de imagem, a fim de avaliar os procedimentos no setor de Engenharia Clínica, no período entre outubro de 2014 a setembro de 2015. Os indicadores avaliaram a quantidade de ordens de serviços solicitadas e finalizadas, o tempo médio de atendimento das empresas que prestam serviços para o hospital, a quantidade de chamados abertos por equipamentos e o

hospital and properly correlate these results with the operating status of the equipment.

KEYWORDS: Clinical Engineering, Hospital management, Indicators, Image diagnostics, Onofre Lopes University Hospital.

1 | INTRODUÇÃO

O engenheiro clínico é o responsável pela gestão da tecnologia biomédica dentro de um estabelecimento de saúde (Antunes *et al.*, 2002; HEGARTY *et al.*, 2014). No Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL) localizado em Natal (RN), o setor de engenharia clínica é subdividido em três subsetores: Chefia da Engenharia Clínica, Oficina de Engenharia Clínica, Central de Equipamentos. No subsetor da Chefia são intermediados os processos burocráticos, tais como solicitação de compra de equipamentos e acessórios, abertura de chamados de ordens de serviços, saída de equipamentos para manutenções externas, elaboração de descritivos para processos licitatórios, entre outros. Na Oficina são realizadas manutenções preventivas e corretivas, calibrações e aferições, e análise de falhas dos equipamentos médico-hospitalares. A Central de Equipamentos é responsável pela acomodação e transporte de equipamentos entre os setores do hospital (Contreras, 2015; Souza de Medeiros, 2015).

Dentre os diversos setores de um hospital, o núcleo de diagnóstico por imagens reúne todos os serviços de imagem e de métodos gráficos. No HUOL, o Centro de Diagnóstico por Imagem possui equipamentos de ressonância magnética, tomógrafo computadorizado helicoidal, hemodinâmica digital, ultrassonografia *color* e *doppler*, ecocardiógrafos *color* e *doppler*, videocolonoscópios digestivos e broncoscópios (Souza de Medeiros, 2015). Devido à importância desta divisão, é necessário um acompanhamento minucioso, para prevenir eventuais interrupções e garantir um funcionamento contínuo e eficiente de todo o conjunto. Estes equipamentos possuem contratos de manutenção preventiva e corretiva com as empresas autorizadas ou com o próprio fabricante. Estas manutenções são realizadas dentro do hospital e são acompanhadas pela equipe de engenharia clínica a fim de fiscalizar e avaliar estes procedimentos (Contreras, 2015).

A diversidade de processos envolvidos no gerenciamento do parque tecnológico de um estabelecimento de saúde representa um desafio e um ponto crucial para a manutenção da qualidade dos serviços prestados (Ministério da Saúde, 2002; WHO, 2011a). A utilização de *software* de gestão de equipamentos é uma eficiente ferramenta para auxiliar o gerenciamento de custos e monitoramento dos processos envolvidos com a tecnologia biomédica (WHO, 2011c). Estes podem ser adquiridos como aplicativos comerciais ou desenvolvidos pela própria equipe de engenharia clínica, com parâmetros e ferramentas dimensionados para atender necessidades específicas. Esta solução foi implementada pela equipe de engenharia clínica do HUOL, com o desenvolvimento de uma ferramenta computacional baseada em banco

de dados, a partir do inventário sobre os equipamentos, setores e processos atendidos pela setor (EBSERH, 2015; WHO, 2011b). Este sistema tem por função informatizar e integrar as divisões da chefia de engenharia clínica e oficina no hospital. Em relação à manutenção dos equipamentos, o aplicativo permite armazenar dados relativos à ordens de serviços solucionados pela própria equipe, ordens de serviços realizadas por empresas externas e envio de equipamentos para empresas autorizadas. Além de um controle maior dos procedimentos realizados, a avaliação destes dados gerou indicadores importantes para o controle de qualidade do setor de engenharia clínica (Souza de Medeiros, 2015).

Desta forma, este trabalho teve por objetivo verificar o desempenho do setor de engenharia clínica e das empresas prestadoras de serviços, relativos aos processos envolvendo os equipamentos de diagnóstico por imagens do HUOL, através da aplicação de ferramentas de gerenciamento e análise dos indicadores.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de dados – Os dados referentes aos equipamentos médicos do hospital foram dispostos em um sistema de gerenciamento de equipamentos hospitalares, utilizando a linguagem Visual Basic através do *software Access*. A partir deste sistema foram avaliados o histórico de procedimentos e chamados referentes a cada aparelho, obtendo informações sobre as ordens de serviços internas e externas, e dados como datas de abertura do chamado, de atendimento e encerramento, serviço realizado, fornecedores, orçamentos, troca de peças, entre outras informações.

Indicadores de Desempenho – Os indicadores de desempenho são utilizados como uma forma de inferir a qualidade dos processos de acordo através dos seguintes critérios: (i) número de ordens de serviços abertas a cada mês; (ii) número de ordens de serviço finalizadas a cada mês; (iii) tempo decorrente entre a abertura do chamado junto à empresa responsável pela manutenção e a realização o procedimento; (iv) quantidade de chamados realizados no decorrer do período, por tipo de equipamento; (v) tempo médio de dias parados durante um ano, por tipo de equipamento.

3 | RESULTADOS

Os indicadores de desempenho dos equipamentos de diagnóstico por imagens, analisados no período de outubro de 2014 a setembro de 2015, são apresentados a seguir. O primeiro indicador, referente ao número de ordens de serviços abertas durante cada mês (Figura 1). No período avaliado foram realizados oitenta e três chamados compreendidos entre manutenções corretivas e manutenção preventiva - no mês de junho houve o maior número de chamados abertos, enquanto que em novembro houve o menor.

Número de ordens de serviço abertas

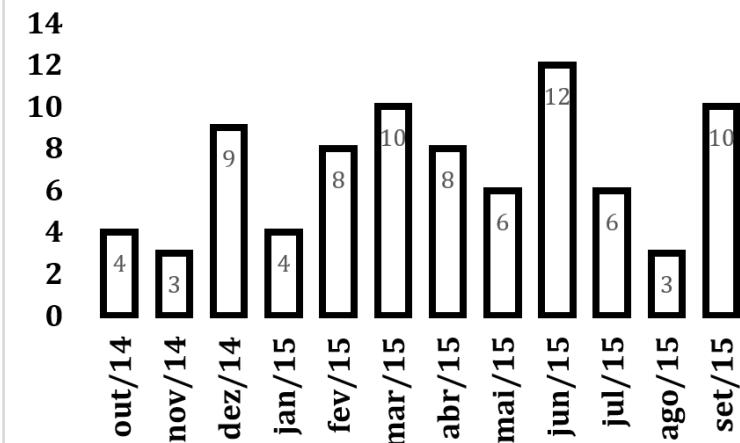


Figura 1: Número de ordens de serviço abertas por mês.

O segundo indicador relacionou a quantidade de ordens de serviço finalizadas durante cada mês (Figura 2). Nota-se que, de forma geral, a finalização dos serviços se seguem a mesma dinâmica longo do ano, quando comparado às aberturas de serviços mostrada na figura anterior.

Número de ordens de serviço finalizadas

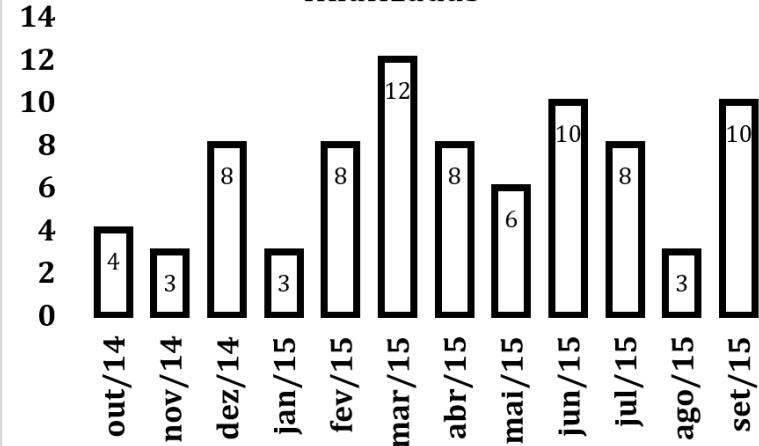


Figura 2: Número de ordens de serviço finalizadas por mês.

O terceiro indicador é também chamado de “Tempo Médio de Reparo” (MTTR - *Mean Time To Repair*), ou seja, a média de tempo que se leva para reparar o equipamento depois de uma falha avaliou a qualidade de serviço prestado em termos de tempo percorrido entre a data da abertura do chamado junto à empresa responsável e a data da realização do procedimento de manutenção (Figura 3). As empresas que forneceram serviços de manutenção dos equipamentos de imagem no HUOL foram: GE, Philips, AGFA, Siemens e Toshiba. Os resultados mostram que a empresa que possuiu o melhor desempenho em termos de celeridade em atendimento foi a Siemens, atendendo em média no mesmo dia da realização do chamado, e em

seguida a empresa AGFA. Observamos também que a Philips e a GE oscilaram durante alguns meses, mas demonstraram serem as empresas que necessitam de um tempo maior para a realização de atendimento dos chamados. Como podemos observar, a GE levou uma média de 8 dias para o atendimento do chamado realizado e a Philips uma média de quase 10 dias para a realização de atendimento no mês de fevereiro.

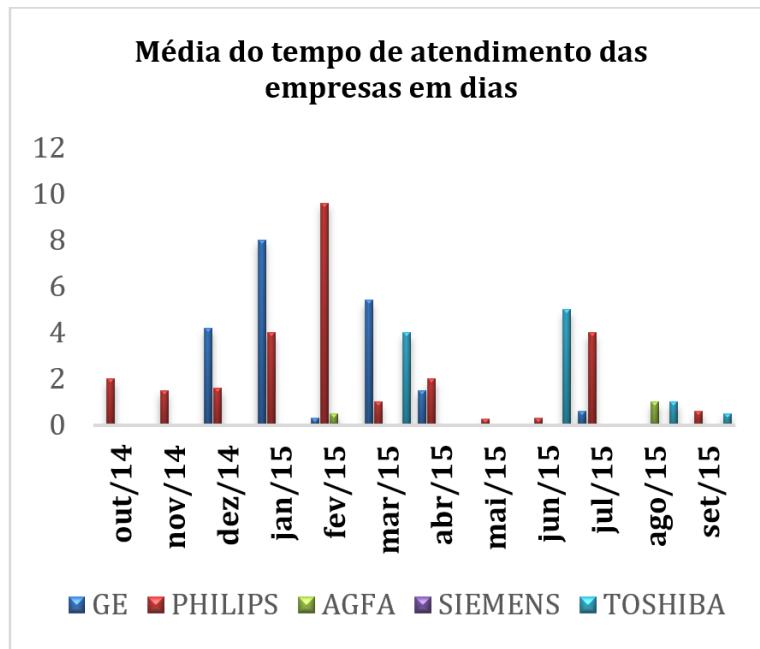


Figura 3: Tempo médio de atendimento das empresas por mês.

Após o levantamento inicial da demanda e processos de manutenção no Centro de Diagnóstico por imagem, foram avaliadas as demandas de cada tipo de equipamento. O quarto indicador, “Tempo Médio Entre Falhas” (MTBF - Mean Time Between Failures), é literalmente a média de tempo decorrida entre uma falha e a próxima vez em que ela irá ocorrer e varia em função da depreciação do equipamento, manutenção ineficiente e erros recorrentes. Este indicador apresentou o número de chamados solicitados por equipamento (manutenções preventivas, preditivas e/ou corretivas), dentre os quais possuíram um número maior que três chamados realizados no período (Figura 4). Os equipamentos que apresentaram o maior número de chamados foram a angiografia digital I, o aparelho de Raio-X e o Tomógrafo Computadorizado.

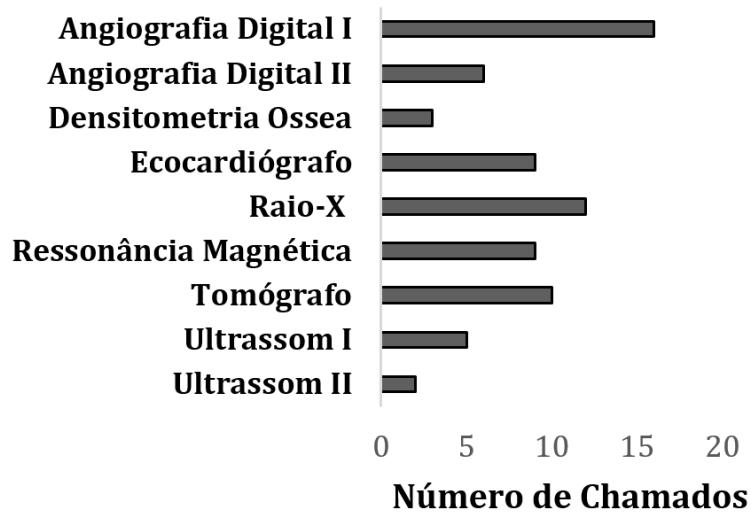


Figura 4: Número de chamados entre Outubro/2014 e Setembro/2015.

Finalmente, o quinto indicador analisou tempo médio entre a data em que foi realizado o chamado da ordem de serviço até o momento em que o serviço foi concluído e a partir disto, realizou o somatório dos dias parados durante o período de um ano (Figura 5). Foram incluídos os equipamentos em que o tempo de paralisação foi maior ou igual que 3 dias. Podemos observar que os equipamentos que apresentaram maior tempo de paralisação foram os aparelhos de Raio-X da marca GE, logo em seguida o Tomógrafo Computadorizado da marca Philips, a Ressonância Magnética da marca GE e a Angiografia Digital I da marca Philips.

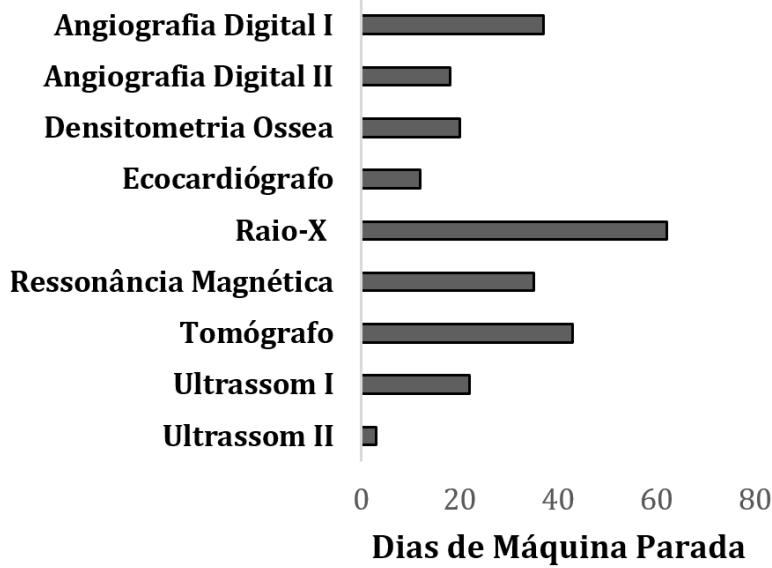


Figura 5: Tempo de máquina parada entre Outubro/2014 e Setembro/2015.

4 | DISCUSSÃO

Indicadores de desempenho são ferramentas de controle importantes, e foram utilizados neste trabalho para avaliar a gestão e desempenho do setor de engenharia clínica do HUOL.

O primeiro indicador informa o número de vezes que houve a necessidade da abertura de chamado para a realização de ordem de serviço pelas empresas externas no hospital (Figura 1). As falhas mais relatadas foram: não liga, não inicia, não gera imagem. É importante observar que estes dados apenas envolvem os chamados realizados para os técnicos externos, portanto podemos supor que existiu um número maior de chamados internos para problemas que não necessitaram a presença de um técnico externo para realizar a manutenção e inferir que os equipamentos de diagnóstico por imagens necessitam de um nível médio a extensivo de manutenção de acordo com ranking da Organização Mundial de Saúde (Souza de Medeiros, 2015).

O segundo indicador calcula o número de ordens de serviços finalizadas em cada mês (Figura 2), como uma medida indireta da eficiência das empresas prestadoras de serviços. A comparação entre as Figuras 1 e 2 mostra uma semelhança em termos quantitativos de ordens de serviços abertas e finalizadas no mesmo mês. Nos meses de dezembro e junho os números de chamados abertos foram maiores dos que finalizados. A análise dos resultados mostra que os chamados são atendidos e concluídos de forma resolutiva em um prazo menor que um mês, o que demonstra uma boa eficiência em atendimento, tendo em vista que os números de chamados que ficaram pendentes são pequenos e não se estendem por mais de um mês.

A fim de avaliar as empresas que fornecem serviços de manutenção aos equipamentos de diagnóstico por imagens - GE, Philips, AGFA, Siemens e Toshiba, o terceiro indicador mostra o tempo médio que as empresas demoram para realizar o atendimento. As empresas GE, Philips, AGFA e Toshiba possuem contratos de manutenção preventiva e corretiva com o hospital enquanto que a Siemens só realiza atendimentos de demanda. De forma geral, todas empresas prestaram o serviço de forma satisfatória, porém a demora para o atendimento do chamado pela GE e a demora para a realização do serviço pela Philips, ambas em fevereiro de 2015, resultaram em uma imagem negativa das empresas diante a realização de atendimentos junto ao hospital. Entretanto, devido à falta de acesso aos contratos entre o hospital e empresas externas, não conseguimos saber se as mesmas respeitaram integralmente o que foi acordado, apesar da demora na prestação do serviço.

Devido às diferentes características e finalidades dos equipamentos de imagem, utilizamos um quarto indicador para avaliar a demanda de manutenção por tipo de equipamento específico, em termos de número de chamados abertos (Figura 4). Os equipamentos com maior número de chamados - angiografia digital, Raio-X e Tomógrafo Computadorizado, utilizam radiação ionizante para a realização de seus procedimentos, sendo necessário bombas de contraste para o tomógrafo e angiografia,

seguidos de aparelhos de Raio-X, que apresentam alta demanda. Através deste indicador, observamos que os equipamentos que possuem radiação para a realização do exame e os de maior rotatividade de atendimentos possuem maior número de chamados de manutenção.

O quinto e último indicador avaliou o tempo em que os equipamentos de diagnóstico por imagem ficaram parados sem utilização. Correlacionando a figura 5 com a figura 3 em tempo de atendimento, podemos inferir que o tempo de atendimento influencia diretamente na paralisação das máquinas, pois as duas empresas apresentaram a necessidade de um maior tempo de atendimento. Além disso, a análise dos indicadores MTTR e MTBF (figuras 3 e 4) mostram que os equipamentos que tiveram maior tempo de máquina parada são os mesmos que receberam maior número de chamados durante o período. O resultado da quantidade de tempo de máquina parada do equipamento de Raio-X, por exemplo, engloba um tempo maior que dois meses, compreendendo mais que 16% do período total analisado. Estes dados mostram a necessidade da realização de inspeções periódicas de manutenções preventivas.

5 | CONCLUSÃO

Este trabalho apresentou um estudo sobre as manutenções realizadas nos equipamentos de diagnóstico de imagem, a fim de avaliar a eficiência e qualidade destes procedimentos no setor de Engenharia Clínica.

Os resultados obtidos mostraram que os indicadores de engenharia clínica são uma ferramenta extremamente importante, pois permitem avaliar os processos que envolvem o setor gerando informações importantes para a gestão da tecnologia médica. Em relação à manutenção dos equipamentos de diagnóstico por imagens, observou-se que o bom funcionamento e desempenho está diretamente relacionado aos serviços prestados pelas empresas junto ao hospital. Devido à complexidade operacional, a maior parte dos equipamentos de diagnóstico por imagem necessitam de uma demanda extensiva de manutenções preventivas e/ou corretivas realizadas no próprio hospital, o que nos permitiu adequar melhor o organograma de manutenções e contratos para estes equipamentos para garantir um funcionamento contínuo do mesmo.

Desta forma os resultados demonstraram que a utilização de uma plataforma de gerenciamento e a análise de seus indicadores são essenciais para se obter um melhor controle de qualidade e eficiência dos processos que envolvem o setor de Engenharia Clínica, como atestado pelos próprios profissionais que dependem diretamente do bom funcionamento destes equipamentos para executarem suas funções. Apesar desta percepção/avaliação positiva, estes resultados ainda devem ser comparados com indicadores de outros hospitais do município, em análise que se encontra atualmente em andamento, para que se possa ter uma real dimensão da eficiência do setor de Engenharia Clínica do HUOL.

REFERÊNCIAS

- Antunes, E., Vale, M., Mordelet, P., Grabois, V. **A engenharia clínica como estratégia na gestão hospitalar.** In: Gestão da tecnologia biomédica: tecnovigilância e engenharia clínica. Paris: ACODESS, 2002. Cap. 4.
- Contreras, R.C. **Manual de gestão e procedimentos operacionais.** Setor de Engenharia Clínica HUOL/EBSERH. Natal; 2015.
- EBSERH. **Manual de Boas Práticas para Inventário de Engenharia Clínica.** EBSERH, 1^a edição, 2015.
- Hegarty, F.J., et al. **The Role of Clinical Engineers in Hospitals.** In: A. Taktak, editor. Clinical Engineering: A handbook for Clinical and Biomedical Engineers. London: Elsevier, 2014. cap. 7.
- Ministério da Saúde. **Equipamentos médico-hospitalares e o gerenciamento da manutenção.** Capacitação a distância. Brasília: Editora MS; 2002.
- Souza de Medeiros, C. B. **A engenharia clínica e seus indicadores no Hospital Universitário Onofre Lopes [Monografia].** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2015.
- WHO – World Health Organization. **Computerized maintenance management system.** WHO Medical Device Technical Series; 2011a.
- WHO – World Health Organization. **Introduction to medical equipment inventory system.** WHO Medical Device Technical Series; 2011b.
- WHO – World Health Organization. **Medical equipment maintenance programme overview.** WHO Medical Device Technical Series; 2011c.

AUTOMAÇÃO DE BAIXO CUSTO PARA UMA CADEIRA DE RODAS

Samuel Roberto Marcondes

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Curitiba - Paraná

Aline Camile Stelf

Faculdade Campo Real

Guarapuava - Paraná

a autonomia de uma carga completa das baterias. Também apresentou um custo consideravelmente menor que o modelo mais comum de cadeira de rodas motorizadas e disponível comercialmente.

PALAVRAS-CHAVE: Tecnologia Assistiva, Automação, Cadeira de Rodas.

RESUMO: O desenvolvimento de tecnologias assistivas tem se tornado cada vez mais importante, sendo até mesmo objeto de políticas públicas que buscam promover uma maior participação através de medidas de acessibilidade. Partindo dessa premissa, esse trabalho realizou a automação de uma cadeira de rodas comercial, através da execução de um projeto eletrônico e mecânico. Para isso, foram utilizados materiais como: motores de corrente contínua, microcontrolador, placa de potência, baterias, etc. Na concepção inicial do projeto, buscou-se oferecer o menor custo possível, aumentando assim a acessibilidade implícita nesse desenvolvimento tecnológico, que tem como um de seus principais objetivos a inclusão de um maior número possível de pessoas. Os resultados de funcionamento do protótipo foram satisfatórios, pois o mesmo foi capaz de obter parâmetros similares (distância percorrida e velocidade média) de uma cadeira de rodas motorizada disponível comercialmente, com

ABSTRACT: The assistive technologies development becomes more and more importance, being even object of public politics which promote a larger involvement through assistive actions. This work accomplished the commercial wheelchair automation through an implementation an electronic and mechanical project. To realize it was used materials such as DC motors, microcontrollers, power board, batteries, etc. The initial conception of this project was offering the lowest cost as possible, increasing the implicit accessibility of this technological development, which has as of the main objectives, the inclusion a bigger number of users. The operational prototype results were satisfactory, because similar parameters (final distance and mean velocity) found in a commercial wheelchair were obtained in this model with fully charged batteries. Also a lower construction cost compared to commercial wheelchair was achieved.

KEYWORDS: Assistive Technology,

1 | INTRODUÇÃO

A Tecnologia Assistiva é uma expressão utilizada para identificar todos os recursos e serviços que contribuem para proporcionar ou ampliar habilidades funcionais de pessoas com deficiências e, consequentemente, promover vida independente e inclusão. Os recursos são produtos ou equipamentos fabricados em larga ou baixa escala utilizados para otimizar as capacidades funcionais de pessoas que possuem alguma deficiência. Já os serviços, são definidos como ações que auxiliam diretamente uma pessoa com deficiência a selecionar, comprar ou usar os recursos acima definidos, eles são oriundos de diferentes áreas e envolvem muitas pessoas (SCHIRMER, 2007).

Devido a diferentes causas, a grande maioria dos recursos de tecnologia assistiva são inacessíveis a grande maioria das pessoas em nosso país. Quando se fala em um processo real de inclusão, refere-se ao fato de oferecer recursos, possibilidades e oportunidades para todos os cidadãos, mesmo diante de soluções que não sejam viabilizadas com a amplitude, velocidade e profundidade necessárias (FILHO, 2009).

A concepção e desenvolvimento de dispositivos de tecnologia assistiva têm características específicas quando são comparados aos projetos de produtos que usam o conceito da normalidade. Os itens produzidos em larga escala apresentam diversas conjunturas de mercado que conduzem para uma padronização e uma produção em linha, o que favorece diretamente no custo final do produto. O contrário ocorre quando a produção é voltada para a tecnologia assistiva, pois o público alvo desses recursos apresentam condições únicas que exigem novas soluções específicas, com projetos voltados para a sua utilidade e inclusão de um maior número de pessoas (DONG, 2007).

A cadeira de rodas é um recurso da tecnologia assistiva direcionado para a mobilidade do usuário, composto por uma estrutura de postura e rodas móveis, que somadas formam um conjunto dinâmico de assento (ALVARENGA, 2002). O que diferencia as cadeiras de rodas motorizadas das cadeiras de rodas convencionais é o fato de que elas são constituídas por uma estrutura, um assento, além de toda a eletrônica embarcada. Esse último fator eleva o seu custo final, o que acaba inviabilizando esse recurso às pessoas que não tem condições físicas para utilizar uma cadeira de rodas convencional.

O presente trabalho visa desenvolver a automação de baixo custo de uma cadeira de rodas manual que atenda às necessidades de locomoção de seu futuro utilizador, almejando ter parâmetros de velocidade média e distância percorrida, satisfatórios para o seu deslocamento no período diário, colaborando dessa forma com o processo de inclusão na área de tecnologia assistiva.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O diagrama em blocos do projeto eletrônico desenvolvido é apresentado na figura 1.

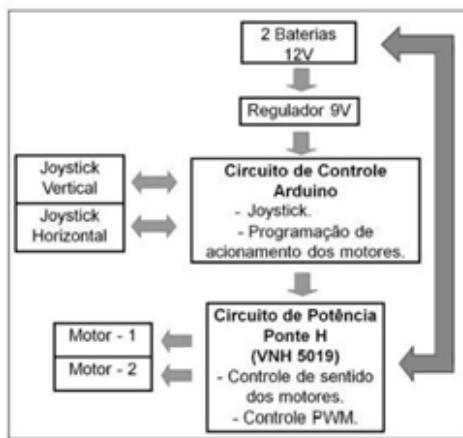


Figura 1: Diagrama em blocos do projeto eletrônico.

Círculo de Controle - O circuito de controle estabelece uma relação com um conjunto de entradas e saídas do sistema, ou seja, as entradas presentes para o controle do sistema caracterizam-se pelos sinais vindos do joystick (é a partir dele que são gerados os sinais analógicos de entrada), e as saídas são as conexões com a placa de acionamento dos motores, a VNH5019. Todas as entradas e saídas são interpretadas por um microcontrolador, que é responsável por desenvolver todas as lógicas através de uma programação em linguagem C elaborada em um ambiente de *software* livre. Conforme o diagrama do projeto eletrônico, existe a necessidade de implementar um regulador de tensão para estabilizar o nível de tensão de 24 VCC para 9 VCC, tendo em vista que a tensão nominal da placa do microcontrolador opera entre a faixa de 5 VCC e 12 VCC. O microcontrolador utilizado no sistema foi a plataforma Arduino UNO R3, que ofereceu a mais eficiente comunicação com os demais circuitos, além de sua fácil implementação e seu reduzido custo.

O Arduino UNO R3 possui um microcontrolador ATmega328 com memória flash de 32 kB, 14 entradas e saídas digitais das quais 6 podem ser utilizadas para controle PWM e 6 entradas analógicas, além dessas entradas existem algumas saídas para alimentação de algum dispositivo externo desejado, como as saídas de 5 VCC e 3,3 VCC junto a um GND para fechamento do circuito. Como exemplo, foi a saída de 3,3 VCC a responsável por alimentar o joystick para seu funcionamento. O circuito de controle é responsável pelo controle de movimento da cadeira, assim ele realiza consecutivas leituras dos sinais analógicos enviados pelo joystick para inseri-los na lógica de programação. O joystick utilizado possui em sua placa quatro pinos para conexão, dos quais dois são para sua alimentação com uma tensão de até 5 VCC, e os outros dois pinos são responsáveis pelo envio dos sinais analógicos, um pino para a saída da posição horizontal (X) e o outro pino para a saída da posição vertical (Y). A ligação do joystick ao Circuito de Controle e Potência na fase de testes é apresentada na figura 2.

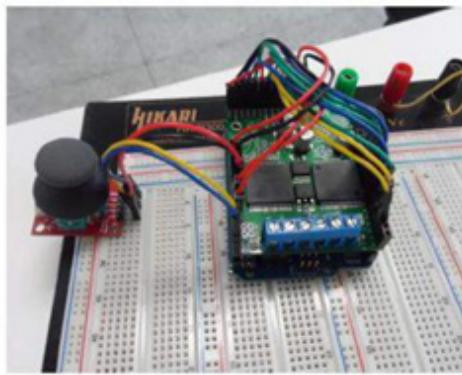


Figura 2: Comunicação do joystick com o Circuito de Controle e Potência.

Círculo de Potência - O circuito de potência é composto pela placa de potência VNH5019, essa alimentada por duas baterias de chumbo-ácido de 12 VCC - 45 Ah, ligadas em série totalizando um conjunto de 24 VCC, que irão alimentar o projeto eletrônico como um todo. Essa é uma bateria amplamente difundida e assim confere um melhor custo-benefício ao protótipo. Conforme a equação 1, as baterias fornecem a seguinte potência instantânea para o projeto eletrônico.

$$P = U \cdot i = (12.45) + (12.45) = 1080 \text{ Wh} \quad (1)$$

onde P representa a potência instantânea das baterias, U representa a tensão de alimentação das baterias e i representa a quantidade de energia armazenada pela bateria em ampère-hora - Ah.

A placa de potência utilizada no circuito possui duas pontes H responsáveis pelo controle do sentido de giro dos motores e pelo controle de suas velocidades. A ponte H tem a função de inverter o sentido da corrente que chega ao motor, e dependendo do ciclo de fechamento, é caracterizado o sentido de rotação dos motores. As pontes H utilizadas no circuito são as VNH5019 da marca ST, que operam na faixa de 5,5 VCC a 24 VCC e suportam até 12 A por entrada, com picos de 30 A por um pequeno período de tempo. A figura 3 apresenta o esquema de ligação da placa de potência.

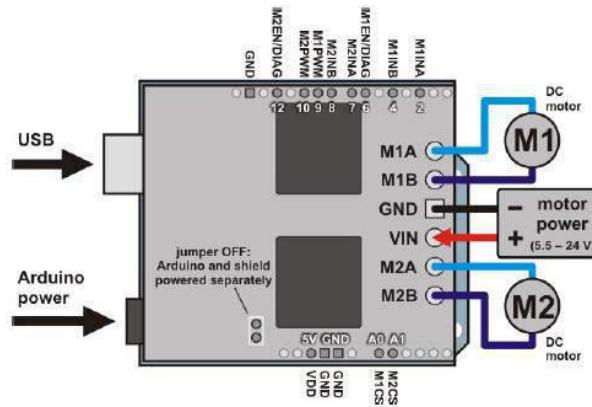


Figura 3: Esquema de ligação da placa de potência VNH5019.

A placa de potência possui as conexões de alimentação em sua região central, e conexões de saídas para o comando das pontes H em suas laterais. A placa VNH5019

opera com a energia fornecida para os motores, dessa forma não é necessário alimentá-la individualmente. Todo projeto eletrônico foi instalado em uma carcaça de fonte de alimentação ATX, amplamente utilizada em desktops.

Segundo o *datasheet* dos motores utilizados, os mesmos possuem um torque de 506 Ncm, corrente nominal de 12,5 A trabalhando a uma tensão de 24 VCC e uma rotação de 2.600 RPM. A massa aproximada do conjunto (cadeira e pessoa) é de 130 kg (90 kg do usuário e 40 kg da cadeira), assim, calcula-se a força normal exercida sobre os pneus, conforme a equação 2.

$$N = m \cdot g = (130,9, 81) = 1275,3 \text{ N} \quad (2)$$

onde N representa o peso normal da cadeira, m representa a massa do conjunto (cadeira e pessoa) e g representa a aceleração da gravidade.

Com a cadeira em equilíbrio vertical (Normal = Peso), calcula-se a força de atrito, conforme a equação 3.

$$Fat = \mu \cdot N = (0,03 \cdot 1275,3) = 38,26 \text{ N} \quad (3)$$

onde Fat representa a força de atrito do conjunto, μ representa o coeficiente de atrito estático e N representa a força normal da cadeira.

Desse modo, a equação 4 apresenta o torque mínimo para o movimento do conjunto (cadeira e pessoa).

$$T = Fat \cdot r = (38,26 \cdot 25) = 956,5 \text{ Ncm} \quad (4)$$

onde T representa o torque mínimo, Fat representa a força de atrito do conjunto e r representa o raio (em cm) da roda da cadeira.

Logo, o torque mínimo será de 956,5 Ncm / 2 (número de motores) = 478,25 Ncm. Dessa forma, o torque mínimo de cada motor em angulações retas é de 478,25 Ncm, visto que o torque nominal dos motores segundo o seu *datasheet* é de 506 Ncm, os mesmos atendem a demanda necessária de torque.

Sistema de Transmissão - A relação de transmissão escolhida para um bom desempenho do conjunto se trata de uma transmissão utilizada em bicicletas motorizadas, ou seja, é acessível, além de oferecer uma fácil instalação e manutenção. A mesma possui um conjunto de coroa e catraca, sendo acionada por uma corrente dentada, que pode ser facilmente regulada e alinhada. A coroa é acoplada diretamente ao eixo do motor, sendo responsável por transmitir o torque gerado pelo motor através da catraca. A relação utilizada foi de 1:5, diminuindo dessa forma a rotação do eixo do motor de 2.600 RPM para respectivos 520 RPM no eixo da roda da cadeira. A figura 4 apresenta o Sistema de Transmissão da Cadeira de Rodas Automatizada.



Figura 4: Sistema de Transmissão da Cadeira de Rodas Automatizada.

Suporte de Baterias - Para garantir a autonomia das baterias, o posicionamento correto das mesmas não poderia interferir diretamente na movimentação da cadeira, além de ser fundamental que as mesmas estivessem centralizadas para uma melhor distribuição de peso. Dessa forma, o local escolhido foi abaixo do acento, o que também garantiu uma maior sustentação, da estrutura. Para que o suporte de baterias fosse resistente e suficiente e oferecesse a maior segurança para o usuário da cadeira de rodas, o mesmo foi colocado com auxílio de duas barras paralelas entre si e uma chapa de pequena espessura para melhor sustentação. As barras de sustentação da chapa têm o comprimento de 440 mm x 40 mm de largura, e a chapa tem o comprimento de 420 mm x 20 mm de largura.

Materiais Utilizados - Considerando que o presente trabalho se trata de uma aplicação tecnológica de baixo custo, a tabela 1 apresenta a relação de materiais utilizados, bem como o custo total (material e frete) apresentado pelos mesmos. O item mão-de-obra foi inserido na lista de materiais, devido ao trabalho de usinagem que foi realizado por terceiro na implementação.

Material	Custo
Plataforma Arduino UNO R3	R\$ 126,93
2 Motores CC - Modelo F006KM060N	R\$ 481,00
Ponte H - Modelo VNH 5019	R\$ 274,72
Joystick	R\$ 33,15
2 Baterias 12V - 45Ah	R\$ 320,00
Terminal de Conexão para Baterias	R\$ 20,00
Cabos de Conexão para Baterias	R\$ 150,00
2 Correntes	R\$ 110,00
2 Coroas	R\$ 40,00
2 Cubos de Rodas	R\$ 60,00
2 Câmaras de Pneu	R\$ 30,00
Pintura e Acabamento	R\$ 97,00
Mão-de-obra	R\$ 180,00
TOTAL	R\$ 1.922,80

Tabela 1: Materiais Utilizados e Tabela de Custos.

3 | RESULTADOS

Acadeira de rodas foi submetida a testes objetivando verificar o seu funcionamento. Para isso foram considerados dois usuários com massas distintas, escolha essa visando encontrar diferenças nos resultados. Os testes foram feitos sob o plano, pois essa foi à concepção inicial do projeto, e ambos os testes foram realizados com a carga completa das baterias para não oferecer comprometimento aos resultados. Os resultados dos testes para as variáveis analisadas são apresentados na tabela 2.

Usuário	Distância Percorrida	Velocidade Média
Mulher - 75 kg	15.230 m	2,6 m/s
Homem - 85 kg	14.590 m	2,4 m/s

Tabela 2: Resultados dos Testes da Cadeira de Rodas.

4 | DISCUSSÃO

As variáveis analisadas nos testes da cadeira foram escolhidas com o objetivo de comparação com modelo disponível comercialmente. Nos dois testes realizados, o conjunto manteve uma velocidade média aproximada de 2,5 m/s, o que demonstra que os 10 Kg existentes na diferença entre a massa dos usuários, não são suficientes para alterar significativamente a velocidade média do conjunto.

Quanto à variável distância percorrida, os resultados também não apresentaram diferenças relevantes, indicando que, para usuários dentro da faixa de peso (75 kg e 85 kg), a cadeira de rodas é capaz de percorrer uma distância satisfatória no período de 24 horas. Quanto ao custo final do protótipo, o mesmo apresentou um valor consideravelmente menor (R\$ 2.000,00) quando comparado ao valor de venda de um modelo comercial de uma cadeira de rodas motorizada (em torno de R\$ 8.000,00).

5 | CONCLUSÃO

Desde o início do projeto, foi observado que o mesmo seria uma oportunidade de contribuição ao tema tecnologia assistiva, pois um projeto capaz de controlar os motores de uma cadeira de rodas com um custo menor quando comparado ao modelo comercial, é tido como um projeto viável financeiramente. Os resultados obtidos mostram que, para a concepção inicial do projeto, o protótipo elaborado atendeu às expectativas iniciais, pois os resultados apresentaram parâmetros próximos quando comparados a uma cadeira de rodas motorizada disponível no mercado. Surge como oportunidade futura, adaptações para que a cadeira de rodas seja capaz de transitar em terrenos com inclinação, nesse caso um circuito de potência mais robusto (com uma maior capacidade de drenagem de corrente) precisaria ser implementado em substituição ao atual.

REFERÊNCIAS

ALVARENGA, F. B. **Desenvolvimento de sistemas de motorização alternativa para cadeira de rodas convencionais.** Dissertação. (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

Catálogo de Motores Elétricos BOSCH. Modelo F006KM060N. Disponível em: <http://www.kalatec.com.br/Motor_Bosch/catalago2011_Bosch_ktc.pdf> Acesso em: 20 ago. 2018.

DONG, H. **Shifting Paradigms in Universal Design.** Universal Acess in Human Computer Interaction. 2007. p. 66-74.

FILHO, T. A. G. **Tecnologia Assistiva para uma Escola Inclusiva: Apropriação, Demandas e Perspectivas.** Tese. (Doutorado em Educação) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.

Manual do Proprietário. Cadeira de Rodas Motorizadas. Disponível em: <http://www.freedom.ind.br/arquivos/produto/manual_br/cadeiras_motorizadas.pdf> Acesso em: 16 ago. 2018.

Pololu Dual VNH5019 Motor Driver Shield User's Guide. Disponível em: <https://www.pololu.com/docs/pdf/0J49/dual_vnh5019_motor_driver_shield.pdf> Acesso em: 19 ago. 2018.

SCHIRMER, C. R. *et al.* **Atendimento Educacional Especializado: Deficiência Física.** Editora Cosmos: Brasília; 2007.

CLASSIFICAÇÃO DE EEG COM REDES NEURAIS ARTIFICIAIS UTILIZANDO ALGORITMOS DE TREINAMENTO DO TIPO *EXTREME LEARNING MACHINE E BACK- PROPAGATION*

Tatiana Saldanha Tavares

Universidade de Brasília, Departamento de
Engenharia Elétrica
Brasília, DF

Francisco Assis de Oliveira Nascimento

Universidade de Brasília, Departamento de
Engenharia Elétrica
Brasília, DF

Cristiano Jacques Miosso

Universidade de Brasília, Pós-Graduação em
Engenharia Biomédica
Gama, DF

ao BP, alcançando 94,90% de acurácia no teste em 0,0079 segundos de treinamento.

Palavras-chave: redes neurais artificiais, máquina de aprendizado extremo, rede neural sem realimentação, retropropagação.

ABSTRACT: This article presents the classification of electroencephalographic signals (EEG) using artificial neural networks (ANN). They will be evaluated the results in grading tests the signs of two groups of patients, a healthy group and another group with epilepsy. The evaluation is intended to assist in medical diagnosis for epilepsy detection and analyze the performance of neural classifiers. For this purpose were implemented two algorithms, extreme learning machine (ELM, extreme learning machine) and back propagation (BP, backpropagation) for training of RNA. The input signals are presented to the network with or without prior extraction characteristics. The ELM algorithm showed better performance in relation to BP, reaching 94.90% accuracy in test 0.0079 seconds training.

KEYWORDS: artificial neural networks, extreme learning machine, feedforward neural networks, back-propagation.

RESUMO: Este artigo apresenta a classificação de sinais eletroencefalográficos (EEG) utilizando redes neurais artificiais (RNA). Serão avaliados os resultados obtidos nos testes de classificação dos sinais de dois grupos de pacientes, um grupo saudável e outro grupo com epilepsia. A avaliação tem o intuito de auxiliar em diagnóstico médico para a detecção de epilepsia e analisar o desempenho dos classificadores neurais. Para tal propósito foram implementados dois algoritmos, máquina de aprendizado extremo (ELM, *Extreme Learning Machine*) e retropropagação (BP, *Back-Propagation*) para o treinamento da RNA. Os sinais de entrada são apresentados à rede com e sem a extração prévia de características. O algoritmo ELM mostrou um melhor desempenho em relação

1 | INTRODUÇÃO

O eletroencefalograma (EEG) é uma importante ferramenta para o diagnóstico e tratamento de pacientes com doenças neurológicas, tais como crises epilépticas (Verma,2010; Chisci,2010), depressão (Niemiec,2005), doença de Parkinson (Handojoseno,2015; Handojoseno,2012) e deficiências motoras (Shedeed,2013; Victorino,2015; Pfurtscheller,1998).

O EEG tem sido cada vez mais utilizado em diferentes contextos, no estudo (Sarah,2015) é realizada uma análise comparativa entre os sistemas de classificação análise discriminante linear (LDA, *Linear Discriminant analysis*), máquina de vetor de suporte (SVM, *Support Vector Machine*) e máquina de aprendizado extremo (ELM, *Extreme Learning Machine*) aplicados a interface cérebro máquina (BCI, *Brain Computer Interface*). O ELM é proposto por (Li-Chen Shi,2013) para estimar a vigilância de operadores de máquina e seu desempenho é comparado com SVM e ELM modificado. Em (Yohanes,2012) os autores propõem duas técnicas de classificação, ELM e SVM para o reconhecimento de emoções a partir de sinais de EEG. O ELM é também abordado por (Yuan,2012) para a detecção de epilepsia, onde a extração prévia de características é realizada pela transformada wavelet. No trabalho (Yuan,2011) os classificadores ELM, SVM e retropropagação (BP, *Back-propagation*) são comparados na realização da tarefa de detecção de epilepsia.

Neste trabalho é proposta uma rede neural artificial RNA (Haykin,2001), sem realimentação com uma camada oculta e sobre tal arquitetura é aplicado os algoritmos de treinamento ELM e BP, com o propósito de classificação de sinais de EEG de um grupo de pacientes saudáveis e outro grupo com epilepsia. A acurácia e o tempo de resposta de cada classificador foram analisados. Nesta abordagem destacamos o fato de que os dados de entrada são apresentados à RNA com e sem a extração prévia de características. Três configurações, para os dados de entrada, serão apresentadas à RNA, uma configuração com extração prévia de características, havendo uma redução na dimensionalidade dos dados de entrada e duas configurações sem a extração prévia de característica, nas quais o tamanho das amostras apresentadas à entrada da rede é o mesmo, diferenciando-se apenas quanto à informação espectral.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Todo o desenvolvimento dos algoritmos foi realizado em linguagem e plataforma *Matlab*. Para uso de BP foram utilizadas as funções existentes na *toolbox* de redes neurais e para o ELM fez-se necessária a implementação do algoritmo conforme proposto por (Huang,2006).

2.1 Banco de dados

No início deste trabalho já se dispunha de um banco de dados da Universidade de Bonn (Andrzejak,2001). Cada arquivo é composto de 100 séries temporais com duração de 23,6 segundos e frequência amostral de 173,61 Hz. A base de dados original é dividida em cinco conjuntos: Z, O, N, F, S. Os conjuntos Z e O correspondem a séries de EEG extra cranial, de cinco voluntários saudáveis (com olhos abertos e fechados, respectivamente). As outras três séries são de pacientes epilépticos, com a série S obtida durante um período de crise, e as séries F e N (com eletrodos localizados na zona epileptogênica e hipocampo oposto, respectivamente) durante períodos livres de crise.

Neste estudo, foram utilizados dois conjuntos; O e S, correspondendo às classes saudável e doente, respectivamente.

Todas as séries devem pertencer a uma classe saudável ou doente. Para este problema 75% e 25% das amostras são escolhidas aleatoriamente para o treino e para o teste em cada ensaio, respectivamente.

A seguir são apresentadas as configurações do banco de dados para a realização da classificação;

Configuração 1: Características - Neste estudo foi feita a extração de um conjunto de 72 características relevantes, energia e valor *RMS*, de cada série temporal em janelas de 4 segundos, antes da aplicação do algoritmo classificador. Há uma redução na dimensionalidade dos dados de entrada, sendo necessário 72 neurônios de entrada da rede.

Configuração 2: Sinal Completo - São as 100 séries temporais com duração de 23,6 segundos e frequência amostral de 173,61 Hz, sendo 4097 neurônios de entrada da rede.

Configuração 3: Sinal Completo FFT - Para esta simulação foi calculado o módulo da transformada rápida de Fourier (FFT, *Fast Fourier Transform*), detalhada em (Oppenheim,2009), do sinal de entrada completo, sendo 4097 neurônios de entrada da rede. Nesta configuração é apresentada à rede as informações de amplitudes do sinal.

Nas configurações 2 e 3 o sinal de entrada tem o mesmo tamanho, e o número de exemplos apresentados às redes é o mesmo para todas as configurações.

2.2 Feedforward neural network

Uma Feedforward Neural Network é uma RNA na qual a informação se move em uma única direção, para frente, a partir dos nós (neurônios) de entrada, através de nós ocultos (se houver) e para os nós de saída. Não há ciclos ou loops na rede, o que a torna mais simples sendo um dos primeiros tipos de RNA's criadas. Não possuindo, pois, realimentação da saída para a entrada, tais redes são consideradas sem memória, estes são, provavelmente, os tipos mais populares de redes (Srinivasan,2007).

Uma rede neural sem realimentação com uma camada oculta (SLFN, Single-hidden Layer Feedforward Network) se trata de uma RNA sem loops, contendo apenas uma camada oculta, é a arquitetura sobre a qual se pretende aplicar o algoritmo de ELM e o BP para o propósito deste trabalho.

2.3 Back-propagation

O processo de treinamento de uma rede neural consiste basicamente em apresentar pares entrada-saída à rede, calcular as saídas da rede em função das entradas, calcular o erro entre a saída desejada e a saída calculada e alterar os valores sinápticos por algum tipo de algoritmo. À medida que os pares entrada-saída vão sendo apresentados e os pesos das sinapses atualizados, o erro médio quadrático (MSE, *Mean Square Error*) da saída da rede tende a diminuir (Srinivasan, 1994). Existem alguns tipos mais importantes de algoritmos, dentre os quais o mais utilizado e eficiente é o chamado de BP. O processo de treinamento da rede neural pelo método de BP realiza, como o próprio nome diz, a retro propagação dos erros calculados das saídas em direção às entradas. O erro calculado na saída de um neurônio é multiplicado pela derivada da função de ativação daquele neurônio e propagado para a sua entrada. Este valor então é enviado para todos os neurônios da camada anterior pesado pelas respectivas sinapses (Purnamasari, 2015). Neste trabalho o algoritmo de BP utiliza o método do gradiente descendente para corrigir os valores sinápticos.

A taxa de aprendizagem é uma constante que controla a velocidade de convergência do algoritmo, ou seja, a rapidez com que os valores sinápticos levam o MSE para um mínimo local ou global na superfície de erro do problema. Para pequenos valores de taxa de aprendizagem a atualização das sinapses é mais lenta, fazendo com que se percorra com maior precisão a superfície de erro do problema. Para valores altos de taxa de aprendizagem, apesar da convergência ocorrer de maneira mais rápida, pode acontecer oscilações no treinamento, podendo às vezes até impossibilitar a convergência para um mínimo local ou global. O BP é um algoritmo fortemente sensível à variação do número de neurônios da camada oculta.

Para a implementação do BP foi realizada a validação cruzada, que busca obter a melhor generalização da rede. Um conjunto de 75% das amostras são escolhidas aleatoriamente para encontrar os melhores valores da taxa de aprendizagem e do número de neurônios da camada oculta, na validação cruzada. Foram testados diversos valores de épocas para o treinamento da rede tendo como objetivo a melhor eficiência nos resultados.

2.4 Extreme learning machine

Foram originalmente desenvolvidas para SLFN's. Sua essência é de que, diferentemente do entendimento de aprendizagem, a camada oculta de uma SLFN não precisa ser ajustada. A implementação típica de uma ELM aplica nós de computação aleatória, que devem ser independentes dos dados de treinamento. De acordo com a

teoria tanto o erro de treinamento quanto a norma dos pesos precisam ser minimizados. Uma vez que para as ELM's os pesos das camadas ocultas não precisam ser ajustados e seus parâmetros podem ser fixos, os pesos das saídas podem ser resolvidos pelo método dos quadrados mínimos (Huang,2006).

A SLFN com K nós ocultos, com função de ativação pode aproximar N amostras com erro zero. Uma SLFN pode ser representada matricialmente por

$$\mathbf{H}\beta = \mathbf{T} \quad (1)$$

$$\mathbf{H}_{N \times K} = \begin{bmatrix} g(\mathbf{w}_1 \cdot \mathbf{x}_1 + b_1) & \cdots & g(\mathbf{w}_K \cdot \mathbf{x}_1 + b_K) \\ \vdots & \cdots & \vdots \\ g(\mathbf{w}_1 \cdot \mathbf{x}_N + b_1) & \cdots & g(\mathbf{w}_K \cdot \mathbf{x}_N + b_K) \end{bmatrix} \quad (2)$$

$$\beta = \begin{bmatrix} \beta_1^T \\ \vdots \\ \beta_K^T \end{bmatrix}_{K \times m} \quad \mathbf{T} = \begin{bmatrix} \mathbf{t}_1^T \\ \vdots \\ \mathbf{t}_N^T \end{bmatrix}_{N \times m} \quad (3)$$

onde \mathbf{w} é um vetor de pesos que conecta os nós ocultos e os nós de entrada, β é o vetor de pesos que conecta os nós ocultos com os nós de saída e b (*bias*) é o limiar dos nós ocultos (Huang,2006; Zhu,2004).

\mathbf{H} é a matriz de saída da camada oculta. Se $K=N$, então a matriz \mathbf{H} é quadrada e inversível quando o vetor de pesos \mathbf{w} e os *bias* são escolhidos aleatoriamente. Nesta condição, a SLFN pode aproximar as amostras de treinamento com o erro zero.

Na prática, $K \ll N$, fazendo com que \mathbf{H} não seja uma matriz quadrada e possa ser que não exista \mathbf{w} , *bias* e β que satisfaça $\mathbf{H}\beta = \mathbf{T}$. Dessa forma, a solução para esse problema é calcular:

$$\hat{\beta} = \mathbf{H}^{\dagger} \mathbf{T} \quad (4)$$

onde \mathbf{H}^{\dagger} é a matriz inversa generalizada de Moore-Penrose (Huang,2006).

Treinamento da SLFN utilizando ELM:

Dado: um conjunto de treinamento $N = \{(\mathbf{x}_i, \mathbf{t}_i) | \mathbf{x}_i \in \mathbf{R}^n, \mathbf{t}_i \in \mathbf{R}^m, i = 1, \dots, N\}$, a função de ativação $g(x)$, infinitamente diferenciável, e o número de nós na camada oculta K .

Passo 1: Gerar aleatoriamente os pesos \mathbf{w} e os *bias*

Passo 2: Calcular a matriz de saída da camada oculta (\mathbf{H});

Passo 3: Calcular os pesos da camada de saída $\hat{\beta} = \mathbf{H}^{\dagger} \mathbf{T}$

Onde $\mathbf{T} = [\mathbf{t}_1, \dots, \mathbf{t}_N]^T$

2.5 Métricas

Para a realização experimental dos algoritmos, utilizou-se como base as seguintes métricas: acurácia no treinamento e no teste e o tempo de treinamento e de teste.

3 | RESULTADOS

Mil ensaios foram realizados e os resultados da classificação dos sinais de EEG para um grupo de pacientes saudáveis e epilépticos são apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3. A função de ativação para os dois algoritmos é sigmoide e o ELM é implementado com 20 neurônios na camada oculta. O número de neurônios da camada oculta do BP e a taxa de aprendizagem são selecionados na validação cruzada com o objetivo de alcançar o menor MSE.

Algoritmo	Treino		Teste	
	Time (s)	Acurácia (%)	Time (s)	Acurácia (%)
ELM	0.0022	94,73	2,5e-4	90,62
BP	13,5	99,32	0,047	100

Tabela 1: Performance da configuração 1 –Características. BP com 25 neurônios na camada oculta e taxa de aprendizagem 0,01.

Algoritmo	Treino		Teste	
	Time (s)	Acurácia (%)	Time (s)	Acurácia (%)
ELM	0.0079	77,40	0,022	74,01
BP	5,516	53,02	0,078	54

Tabela 2: Performance da configuração 2 – Sinal Completo. BP com 25 neurônios na camada oculta e taxa de aprendizagem 0,02.

Algoritmo	Treino		Teste	
	Time (s)	Acurácia (%)	Time (s)	Acurácia (%)
ELM	0.0079	97,04	0,002	94,90
BP	48,656	99,33	0,047	98

Tabela 3: Performance da configuração 3 – Sinal Completo com FFT. BP com 21 neurônios na camada oculta e taxa de aprendizagem 0,015.

4 | DISCUSSÃO

Na Tabela 1 observamos que com a extração prévia de características o BP alcançou 100% de acurácia no teste em 13,5 segundos de treinamento. O ELM se destaca, nesta configuração quanto a sua rapidez na classificação, realizando o treinamento em 0.0022 segundos para uma acurácia no teste de 90,62%.

Os resultados apresentados na Tabela 2 foram gerados com o intuito de avaliar os algoritmos sem a extração prévia de características. O ELM alcançou uma maior acurácia, mas inferior aos resultados da Tabela 1.

A fim de melhorar os resultados sem a extração prévia de característica, foram levantados os resultados da Tabela 3. Os dois algoritmos apresentam acurácia no teste acima de 90%, sendo o ELM mais rápido no treinamento.

Considerando as três configurações propostas para os dados de entrada, o algoritmo BP teve acurácia no teste que alcançou 100%, mas com o tempo de

treinamento longo em comparação ao ELM. O ELM se mostrou capaz de realizar a classificação do EEG com uma acurácia de 94,90% no teste, em um tempo de treinamento de 0,0079 segundos, sendo assim uma importante ferramenta no auxílio a diagnóstico médico.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo fomento financeiro a esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Andrzejak, R. et al., 2001. **Indications of nonlinear deterministic and finite-dimensional structures in time series of brain electrical activity: Dependence on recording region and brain state.** Physical Review E, 64(6), p.061907.
- Chisci, L. et al. **Real-time epileptic seizure prediction using ar models and support vector machines.**
- Handojoseno, A. M. A. et al. **An eeg study of turning freeze in parkinson's disease patients: The alteration of brain dynamic on the motor and visual cortex.** In: 2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC). [S.I.: s.n.], 2015. p. 6618?6621. ISSN 1094-687X.
- Handojoseno, A. M. A. et al. **The detection of freezing of gait in parkinson's disease patients using eeg signals based on wavelet decomposition.** In: 2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. [S.I.: s.n.], 2012. p. 6972. ISSN 1094-687X.
- Haykin, S. **Redes neurais principios e prática.** [S.I.]: Porto Alegre: Bookman, 2001. (900p).
- Huang, G.-B.; Zhu, Q.-Y.; Siew, C.-K. **Extreme learning machine: Theory and applications.** Neurocomputing, v. 70, n. 1â3, p. 489-501, 2006. ISSN 0925-2312. Neural Networks Selected Papers from the 7th Brazilian Symposium on Neural Networks (SBRN ,04)7th Brazilian Symposium on Neural Networks.
- Li-Chen Shi, Bao-Liang Lu, **EEG-based vigilance estimation using extreme learning machines,** Neurocomputing, Volume 102, 15 February 2013, Pages 135-143, ISSN 0925-2312.
- Niemiec, A. J.; Lithgow, B. J. **Alpha-band characteristics in eeg spectrum indicate reliability of frontal brain asymmetry measures in diagnosis of depression.** In: 2005 IEEE Engineering in Medicine and Biology 27th Annual Conference. [S.I.: s.n.], 2005. p. 75177520. ISSN 1094-687X.
- Oppenheim, A. V.; Schafer, R. W., **Discrete-Time Signal Processing**, Prentice Hall, [1989, 1999, 2009]
- Pfurtscheller, G. et al. **Separability of eeg signals recorded during right and left motor imagery using adaptive autoregressive parameters.** IEEE Transactions on Rehabilitation Engineering, v. 6, n. 3, p. 316325, Sep 1998. ISSN 1063-6528.
- Purnamasari, P. D.; Ratna, A. A. P.; Kusumoputro, B. **EEG based patient emotion monitoring using relative wavelet energy feature and back propagation neural network.** In: 2015 37th Annual

International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC). [S.I.: s.n.], 2015. p. 28202823. ISSN 1094-687X.

Sarah N. Carvalho, Thiago B.S. Costa, Luisa F.S. Uribe, Diogo C. Soriano, Glauco F.G. Yared, Luis C. Coradine, Romis Attux, **Comparative analysis of strategies for feature extraction and classification** in SSVEP BCIs, Biomedical Signal Processing and Control, Volume 21, August 2015, Pages 34-42, ISSN 1746-8094.

Shedeed, H. A.; Issa, M. F.; El-Sayed, S. M. **Brain eeg signal processing for controlling a robotic arm.** In: Computer Engineering Systems (ICCES), 2013 8th International Conference on. [S.I.: s.n.], 2013. p. 152157.

Srinivasan, B.; Prasad, U. R.; Rao, N. J. **Back propagation through adjoints for the identification of nonlinear dynamic systems using recurrent neural models.** IEEE Transactions on Neural Networks, v. 5, n. 2, p. 213?228, Mar 1994. ISSN 1045-9227.

Srinivasan, V.; Eswaran, C.; Sriraam, N. **Approximate entropy-based epileptic eeg detection using artificial neural networks.** IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine, v. 11, n. 3, p. 288?295, May 2007. ISSN 1089-7771.

Verma, N. et al. **A micro-power eeg acquisition soc with integrated feature extraction processor for a chronic seizure detection system.** IEEE Journal of Solid-State Circuits, v. 45, n. 4, p. 804816, April 2010. ISSN 0018-9200.

Victorino, J. et al. **Improving eeg-bci analysis for low certainty subjects by using dictionary learning.** In: Signal Processing, Images and Computer Vision (STSIVA), 2015 20th Symposium on. [S.I.: s.n.], 2015. p. 17.

Yohanes R. E. J., W. Ser and G. b. Huang, **Discrete Wavelet Transform coefficients for emotion recognition from EEG signals,** 2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, San Diego, CA, 2012, pp. 2251-2254.

Yuan Q, Zhou W, Zhang J, Li S, Cai D, Zeng Y. **EEG classification approach based on the extreme learning machine and wavelet transform.** Clin EEG Neurosci. 2012 Apr;43(2):127-32.

Yuan Q, Zhou W, Li S, Cai D. **Epileptic EEG classification based on extreme learning machine and nonlinear features.** Epilepsy Res. 2011 Sep;96(1-2):29-38.

Zhu Q.; Siew, C. **Extreme learning machine: a new learning scheme of feedforward neural networks.** 2004.

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA WEB PARA GESTÃO DE EQUIPAMENTOS MÉDICO- HOSPITALARES

Antonio Domingues Neto

Universidade de Brasília (UnB), Faculdade Gama (FGA), Programa de Pós Graduação em Engenharia Biomédica

Brasília – DF

José Felício da Silva

Universidade de Brasília (UnB), Faculdade Gama (FGA), Programa de Pós Graduação em Engenharia Biomédica

Brasília – DF

js como servidor de requisições e JavaScript para o desenvolvimento da lógica de controle do serviço. A implementação de um sistema de gestão de EMH como um serviço WEB, se mostra viável e acessível para os mais diversos EAS.

PALAVRAS-CHAVE: Equipamentos Médico-Hospitalares, Engenharia Clínica, Gestão de Equipamento, Sistema WEB.

ABSTRACT: Based on the great challenges that the Health Care Facilities (HCF) have in the management of Medical Equipments (ME), a Web system was proposed that would enable and simplify the deployment of control mechanisms in these institutions. The system is a platform to register the information about medical equipment of a HCF, and it can be accessed from any terminal connected to the internet. The system follows the same principles of a Web service, such as the webmails, allowing the Health Care Facility create an account and have access to all management resources. The system was developed using HTML, CSS and JavaScript technologies to implement the client's interface. It is used PostgreSQL database, Node.js for server requests and JavaScript to control logic development of the service. The implementation of a System Management of Medical Equipments as a Web service is feasible and accessible for all different

RESUMO: Com base nos grandes desafios que os Estabelecimentos Assistenciais de Saúde (EAS) encontram na gestão do parque de Equipamentos Médico-Hospitalares (EMH), é proposto um sistema WEB que viabiliza e simplifica a implantação de procedimentos de controle nas instituições. O sistema é uma plataforma na qual os EAS registram as informações do parque tecnológico de equipamentos médico-hospitalares, que pode ser acessada de qualquer terminal conectado à internet. O sistema seguirá os mesmos princípios de um serviço WEB, como os webmails, onde a instituição cria uma conta e passa a ter acesso a todos os recursos de gestão. O sistema foi desenvolvido utilizando as tecnologias HTML, CSS e JavaScript, para implementação da interface do cliente. É utilizado o banco de dados PostgreSQL, Node.

types Health Care Facilities.

KEYWORDS: Medical Equipments, Clinical Engineering, Equipments Management, WEB System.

1 | INTRODUÇÃO

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da RDC n. 02, de 25 de janeiro de 2010, define que todos os estabelecimentos de saúde devem realizar o gerenciamento das tecnologias em saúde utilizadas na prestação de seus serviços, desde sua entrada no estabelecimento até seu destino final, incluindo o planejamento dos recursos físicos, materiais e humanos [1].

O departamento de engenharia tem papel importante na gestão das tecnologias de saúde dentro das instituições, sendo que a sua atuação não se limita somente às intervenções das instalações ou reparo dos equipamentos, abrangendo funções de inventário, monitoramento do parque, treinamento, controle das manutenções, reposição de materiais e peças, incorporação de novas tecnologias, controle das calibrações, entre outras [2].

Segundo o Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES), o Brasil possuía em março de 2016 a quantidade de 287.750 estabelecimentos cadastrados [3]. Essa significativa quantidade de estabelecimentos levanta a questão de como é feita a gestão do parque tecnológico dos Equipamentos Médico-Hospitalares (EMH) no país, principalmente ao se imaginar o diferente perfil dos diversos tipos Estabelecimentos Assistenciais de Saúde (EAS) existentes.

Um parâmetro que descreve bem a dimensão e importância do mercado de equipamentos e produtos médico-hospitalares é a estimativa de movimentação financeira em torno de US\$ 11 bilhões no ano de 2014, entre importações e exportações, segundo dados da Associação Brasileira de Indústria de Alta Tecnologia de Produtos para Saúde (ABIMED) [4].

Durante a elaboração deste trabalho foi possível observar algumas iniciativas isoladas de desenvolvimento de sistemas de apoio à gestão de EMH, principalmente em algumas instituições de maior porte, como por exemplo, o Sistema de Gerenciamento de Equipamentos (SGE) do Hospital de Clínicas de Uberlândia da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFG) [5] e o Sistema de Gerenciamento de Informações de Equipamentos Médico-Hospitalares (GEM-HOS) desenvolvido no Hospital Universitário de Brasília (HUB) [6], além de algumas soluções comerciais, como o *Philips TasySistema de Gestão em Saúde* e o *TOTVS Hospitais*, que englobam a gestão do ambiente hospitalar e apresentam módulos de apoio para gestão de equipamentos médico-hospitalares. Existem ainda alguns softwares de código aberto para a gestão da manutenção de equipamentos em geral, como o GLPI, que mesmo não sendo específico para a gestão de equipamentos médico-hospitalares e não contemplando todas as características desse tipo de equipamento, mesmo assim é utilizado por alguns

EAS. Estes sistemas nem sempre se mostram acessíveis ou adequados, principalmente para os EAS de menor porte, pois geralmente necessitam a aquisição e implantação de recursos de infraestrutura dedicados e que podem apresentar um custo elevado.

Neste contexto, a motivação deste trabalho foi desenvolver um sistema que permita a gestão dos EMH que possa ser utilizado pelos profissionais de engenharia clínicas dos mais diversos tipos de EAS, de pequenos a grandes, que esteja disponível via internet, sem a necessidade da implantação de qualquer infraestrutura auxiliar, que mantenha a segurança e integridade dos dados e seja de fácil operação.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento do sistema foi dividido basicamente em duas partes: cliente *WEB* (com a interface do usuário) e o servidor (que recebe todas as requisições do serviço e armazena os dados).

Cliente WEB – A interface do cliente *WEB* foi desenvolvida utilizando-se *HTML*, *CSS* e a linguagem *JavaScript*. A adoção dessas tecnologias permite que o sistema seja utilizado da mesma forma a partir de qualquer navegador internet, nos vários sistemas operacionais como: *Microsoft Windows*, *Android*, *Linux*, *iOS* e *Mac OSX*.

Um recurso importante da interface cliente é a capacidade de adaptação automática às características dos dispositivos a partir dos quais o sistema está sendo acessado, isso permite a mesma experiência quando se opera o sistema a partir de computadores *desktop*, *tablets* ou *smartphones*.

Servidor – O servidor de aplicação utiliza como sistema gerenciador de banco de dados (SGBD) o *PostgreSQL*, que é um projeto de código aberto multiplataforma, que apresenta como principais características: segurança, flexibilidade, escalabilidade e alta performance [7].

Para atendimento das requisições foi utilizado o *Node.js*, que é um interpretador *JavaScript* capaz de manipular dezenas de milhares de conexões simultâneas. O *Node.js* é baseado no interpretador V8, desenvolvido e mantido pelo Google, e está disponível para vários sistemas operacionais [8]. Uma vantagem na opção do *Node.js*, como servidor de requisições, é utilizar *JavaScript* para desenvolvimento do cliente e do servidor, padronizando a escrita de código e permitindo que uma parte dele seja compartilhada entre os dois lados.

O armazenamento dos dados pode ser dividido em grupos funcionais, que descrevem informações relacionadas. A Tabela 1 apresenta os grupos funcionais básicos que compõem o sistema.

Grupo	Funcionalidade
Grupo 01 – Controle de Acesso	Instituição e Usuário.
Grupo 02 – Estrutura das instituições	Unidade, Setor, Sala e Centro de Custo.
Grupo 03 – Fabricantes e Prestadores	Fabricante, Modelo, Princípio de funcionamento e Prestadores de Serviço.
Grupo 04 – Detalhes dos Equipamentos	Equipamento, Forma de Aquisição, Tipo de Manutenção, Ordem de Serviço.

Tabela 1: Detalhes dos grupos funcionais de armazenamento de dados.

O projeto do banco de dados seguiu a modelagem relacional, sendo aplicadas todas as regras inerentes, além da implementação de todas as integridades referenciais, de forma a evitar qualquer inconsistência no armazenamento e recuperação das informações [9].

Arquitetura – A arquitetura do sistema seguiu o padrão de desenvolvimento MVC, que consiste em separar a estrutura dos programas em três camadas, conforme a Figura 1, que são: *Model* – camada de manipulação de dados, responsável pela escrita, leitura e validação dos dados; *View* – camada de interação com o usuário, responsável pela exibição dos dados; e *Controller* – camada que recebe as requisições do usuário e estabelece a ligação entre o *Model* e o *View* [10].

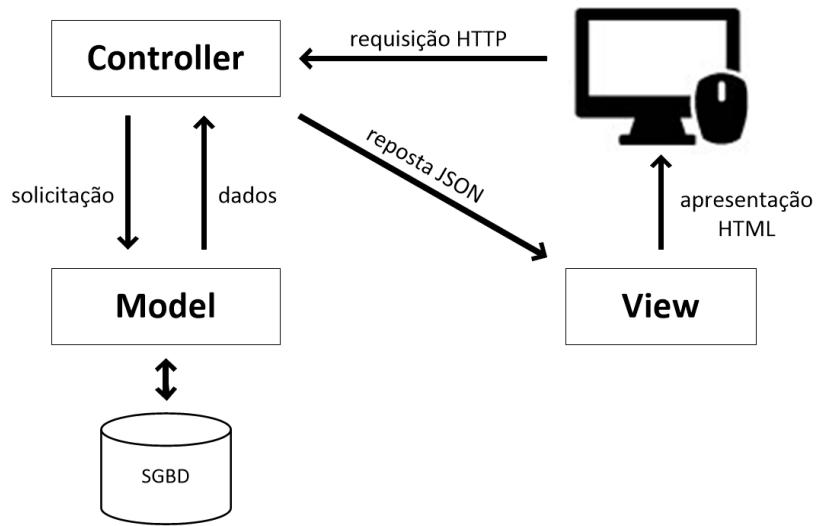


Figura 1: Arquitetura MVC adotada pelo sistema.

Fonte: Adaptado de Broski, C. [10]

3 | RESULTADOS

O sistema foi implantado em fase de teste em uma EAS de médio porte, com cerca de dois mil aparelhos geridos. Esta instituição utilizava o *software* livre GLPI, com algumas adaptações, para gestão do parque de equipamentos médico-hospitalares.

Durante os testes foram verificadas algumas diferenças cruciais entre o sistema proposto e o GLPI, tais como: obrigatoriedade de um cadastro detalhado dos

equipamentos (com dados dos fabricantes e modelos), controles sobre calibração e manutenções preventivas, alertas para término da vida útil e descarte dos equipamentos, conforme descrito na legislação estabelecida pela ANVISA. Outra característica importante foi o acesso ao sistema a partir de dispositivos móveis, que agilizou o atendimento das ordens de serviços, reduziu a utilização de formulário impressos e permitiu que os gestores pudessem acompanhar as atividades da engenharia clínica, mesmo quando não estão presentes no EAS.

O sistema proposto disponibiliza um conjunto de recursos para cadastrar as informações necessárias para gestão dos EMH. Inicialmente é necessário criar uma conta no serviço, a partir dessa conta são cadastrados os dados que descrevem a estrutura da instituição, como: usuários, unidades que compõem a instituição, setores das unidades, salas dos setores e centro de custos. A interface de cadastramento segue o padrão conforme Figura 2 (*smartphones*) e Figura 3 (*desktop e tablets*).



A interface de usuário para smartphones exibe o seguinte formulário:

- Cabeçalho: GEMH - ADN com ícone de menu.
- Título: Unidade (Novo Item).
- Botões: Salvar (verde) e Cancelar (vermelho).
- Campos:
 - Nome: Entrada de texto com placeholder "Nome".
 - Sigla: Entrada de texto com placeholder "Sigla".
 - CNPJ: Entrada de texto com placeholder "_____ / ____ - ____".
 - Inscrição Estadual: Entrada de texto com placeholder "Inscrição Estadual".
 - Endereço: Entrada de texto com placeholder "Endereço".

Figura 2: Interface de cadastramento de Unidade para *smartphones*.

The screenshot shows a software application window titled "HSPT - Hospital ADN". At the top left is a logo with a cross inside a circle. To its right, the text "Unidade: Brasília" and "Usuário: Antonio Domingues Neto" are displayed. On the far right, the acronym "GEMH" is visible. Below the header, there is a navigation bar with four tabs: "Início" (Home), "Opções" (Options), "Relatórios" (Reports), and "Configurações" (Configurations). The "Configurações" tab is highlighted with a red underline. On the right side of the header, there is a "Usuário" dropdown menu. The main content area is titled "Unidade (Novo Item)". It contains several input fields: "Nome" (Name) with placeholder "Nome", "Sigla" (Abbreviation) with placeholder "Sigla", "CNPJ" with placeholder "_____ / _____", "Inscrição Estadual" (State Registration) with placeholder "Inscrição Estadual", and "Endereço" (Address) with placeholder "Endereço". At the top right of this section are two buttons: a green "Salvar" (Save) button and a red "Cancelar" (Cancel) button.

Figura 3: Interface de cadastramento de Unidade para *desktop* e *tablets*.

Para o cadastramento dos equipamentos é necessário informar os dados dos fabricantes e dos modelos. Após o registro de todas as informações básicas é possível cadastrar os equipamentos e a localização dos mesmos dentro da estrutura da instituição. A partir do cadastro de equipamentos torna-se disponível a abertura das ordens de serviço, onde são informadas as intervenções técnicas que podem ocorrer para cada equipamento.

Existe um conjunto de relatórios, que permite que o departamento de engenharia clínica da instituição extrair diversas informações, que vão desde o histórico de cada um dos equipamentos a uma visão geral da quantidade de manutenção, quantidades de equipamentos por setor, equipamentos que apresentam maior índice de defeito por fabricante e modelo, entre outros.

Outra possibilidade é a visualização sumarizada das informações em gráficos, conforme Figura 4 e Figura 5, que oferece uma visão geral de forma rápida.

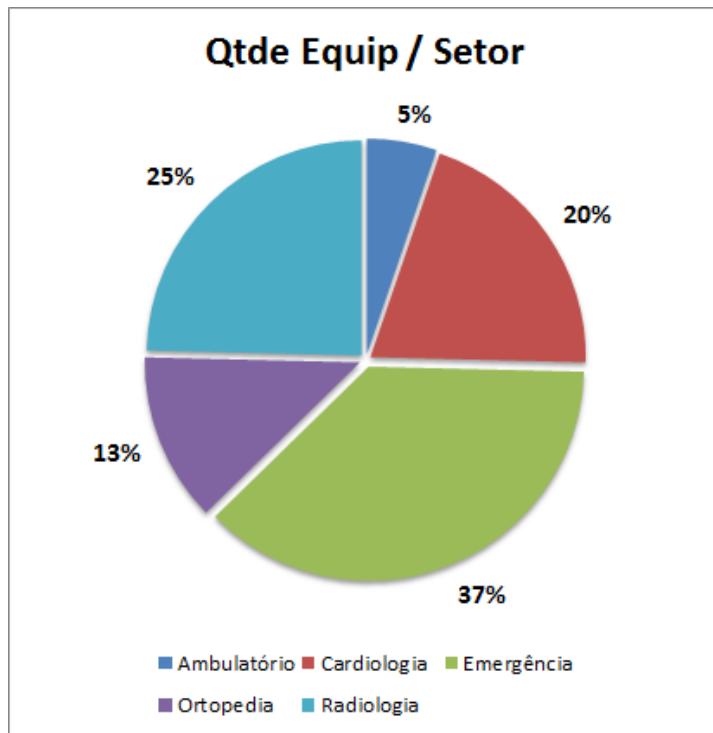


Figura 4: Gráfico da quantidade de equipamentos por setor.

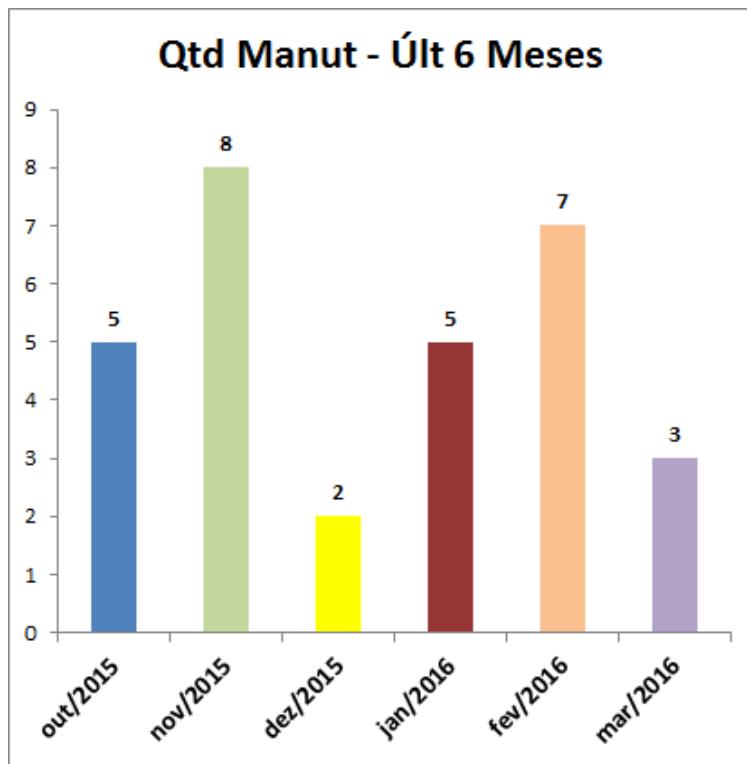


Figura 5: Gráfico da quantidade de manutenções nos últimos seis meses.

4 | DISCUSSÃO

A gestão do parque tecnológico dos equipamentos médico-hospitalares é uma necessidade dos EAS, estabelecida pela legislação em vigor. Com isso, sistemas de gestão informatizados se revelam uma ferramenta importante para implementação desta gestão.

Atualmente sistemas *WEB* têm se consolidados como uma opção viável para implementação de sistemas informatizados, reduzindo os custos de implantação e infraestrutura, além de permitir o acesso a partir de qualquer dispositivo conectado a internet, se adaptando automaticamente as características dos dispositivos.

Neste trabalho é proposto um sistema que oferece uma ferramenta para a gestão dos EMH, onde qualquer instituição, independente do seu porte e sem a necessidade de investimento em infraestrutura, pode controlar seu parque tecnológico.

Para o desenvolvimento do sistema foi gerada uma base de dados de teste com: 250 instituições, cada instituição com 10 unidades e cada unidade com 300 equipamentos cadastrados, gerando uma base de dados com o total de 1.250.000 equipamentos. Para esse volume de dados os tempos de resposta do servidor se mantiveram abaixo de 1s, para uma velocidade de conexão 15 MB/s no cliente, o que demonstra que é viável o desenvolvimento do sistema como um serviço *WEB*.

Com a possibilidade do uso do sistema a partir de dispositivos móveis os departamentos de engenharia clínica ganham agilidade e mobilidade na manipulação das informações dos EMH, como no processo de inventário do parque tecnológico e na consulta de relatórios e dados estatísticos.

O sistema está em fase de teste fechado, para validar as funcionalidades e o desempenho do sistema, sendo que poderá se proposta melhorias e novas características. Após a fase de teste a intenção é liberar o sistema para o uso das instituições de saúde em geral.

Uma das novas funcionalidades que estão sendo avaliada para futura implementação é o uso de etiquetas RFID (Identificação por Radiofrequência), conforme proposto por Cavalcante et.al. [11], simplificar e automatizar a localização dos equipamentos no ambiente hospitalar.

5 | CONCLUSÃO

Considerando a importância da gestão dos EMH para as instituições de saúde, constata-se a necessidade de se automatizar este processo, principalmente devido ao grande volume de dados envolvidos e a agilidade que um sistema pode proporcionar aos departamentos de engenharia clínica dos EAS. Com o uso e validação do sistema, por algumas instituições, uma visão mais abrangente do impacto da automatização da gestão dos EMH estará disponível em publicações futuras.

REFERÊNCIAS

ANVISA, 2010. Disponível em: <<http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/legislacao/item/rdc-2-de-25-de-janeiro-de-2010>>. Acesso em: 01 março 2016.

ANTUNES, E. et al. **Gestão da Tecnologia Biomédica:** Tecnovigilância e Engenharia Clínica. Paris:

Acodess, 2002.

CNES, 2016. Disponível em: <http://cnes2.datasus.gov.br/Lista_Tot_Es_Estado.asp>. Acesso em: 02 abril 2016.

ABIMED, 2015. Disponível em: <<http://intranet.abimed.org.br/noticia.asp?id=435>>. Acesso em: 01 março 2016.

FARIA, V. et al. **Desenvolvimento de software auxiliar à gestão de Equipamentos Médico-Hospitalares utilizando Indicadores de Desempenho**. IN: XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica - CBEB 2014. Uberlândia: Anais do CBEB 2014. v. 1. 2014. p. 2353-2356.

LIMA, E. **GEM-HOS - Sistema de Gerenciamento de Informações de Equipamentos Médico-Hospitalares. O caso do Hospital Universitário de Brasília (HUB)**. Brasília: ENE/FT/UnB, 2008. 99 p. Dissertação de Mestrado - Universidade de Brasília, Faculdade de Tecnologia. Departamento de Engenharia Elétrica.

DAR, U. et al. **PostgreSQL Server Programming**. 2nd Revised. ed. [S.I.]: Packt Publishing, 2015.

HERRON, D. **Node.JS Web Development**. 3rd Revised. ed. [S.I.]: Packt Publishing, 2016.

DATE, C. J. **Projeto de Banco de Dados e Teoria Relacional**. 1^a. ed. São Paulo: Novatec Editora, 2015.

BROSKI, C. **RESTful MVC**. Berkley: Apress, 2016.

CAVALCANTE, E. L. et al. **Sistema de Localização Informatizada de Equipamentos Médico-Hospitalares**. IN: XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica - CBEB 2014. Uberlândia: Anais do CBEB 2014. v. 1. 2014. p. 2432-2435.

DETECÇÃO DE ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO AGUDO/SUBAGUDO BASEADA NA POSIÇÃO VENTRICULAR

Cecília Burle de Aguiar

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia da Paraíba (IFPB)

João Pessoa - Paraíba

Walisson da Silva Soares

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia da Paraíba (IFPB)

João Pessoa - Paraíba

Severino Aires Araújo Neto

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

Carlos Danilo Miranda Regis

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia da Paraíba (IFPB)

João Pessoa - Paraíba

ventricular cerebral para sinalização em verde da área do provável AVCi agudo/subagudo, para facilitar a sua detecção pelos profissionais da saúde. A eficiência ou acurácia obtida com esse algoritmo foi de 86,4%, a sensibilidade de 80% e a especificidade de 86,6%.

PALAVRAS-CHAVE: Limiarização, AVCi agudo/subagudo, Tomografia Computadorizada.

ABSTRACT: Ischemic stroke accounts for about 80% of all strokes. An early diagnosis of the stroke is critical for providing patients with proper treatment, because when the blood flow in the affected area is restored quickly enough, at the acute or subacute stage of ischemic stroke, the tissue damage can be recovered. This work presents a new approach for the automated detection of a probable acute or subacute ischemic stroke in a given area, which is considerably fast, at low computational cost, and aims to aid medical diagnosis. The method is based on simple thresholding and in ventricular position, highlighting the area in green to facilitate the detection by a professional. The efficiency and the accuracy obtained with the aforementioned algorithm was about 86.4%, the sensitivity was 80%, and the specificity 86.6%.

KEYWORDS: Thresholding, Acute and Subacute Ischemic Stroke, Computerized Tomography.

RESUMO: O AVC isquêmico representa 80% de todos AVCs. Um diagnóstico rápido e em estágio inicial dessa patologia é importante para o tratamento adequado dos pacientes, quando o fluxo sanguíneo é restaurado rápido o suficiente para a área do AVCi agudo/subagudo, o tecido afetado pela isquemia pode se recuperar. Este trabalho apresenta um novo algoritmo de detecção da provável área de AVCi agudo/subagudo, visando auxiliar o diagnóstico, apresentando um algoritmo rápido e de baixo custo computacional. São utilizados no processamento métodos baseados em limiarização simples, baseados na posição

1 | INTRODUÇÃO

O acidente vascular cerebral (AVC) é a doença neurológica mais frequente e responsável pelo maior número de mortes no Brasil (Carvalho *et al.*, 2011). E essa doença pode ser classificada em dois tipos: hemorrágica (AVCh), decorrente da ruptura de vasos sanguíneos que causa um extravasamento de sangue para o cérebro; e isquêmica (AVCi), ocasionada pela insuficiência no fluxo sanguíneo cerebral. Cerca de 80% de todos os AVCs são do tipo isquêmico (Latchaw *et al.*, 2009), que podem ser classificados em três classes, segundo o tempo de evolução do quadro: agudo, subagudo e crônico (Tomura *et al.*, 1988). O tratamento ainda na fase aguda, que compreende as primeiras 24 horas, é indispensável para aumentar as chances de reversão do quadro ou de atenuação dos déficits futuros, ao restabelecer o fluxo sanguíneo para a área afetada que pode ter suas funções recuperadas (Tomura *et al.*, 1988). Pesquisas demonstraram que os melhores resultados são obtidos quando isso ocorre nas primeiras 3 horas.

Contudo, o diagnóstico diferencial entre AVCi e AVCh deve ser feito anteriormente ao tratamento adequado, posto que cada um deles demanda condutas extremamente diferentes. Assim, medidas indicadas para o AVCi se aplicadas equivocadamente em um paciente com AVCh podem ter consequências desastrosas, agravando o seu sangramento (Tomura *et al.*, 1988). Infelizmente, a diferenciação clínica entre o AVCh e AVCi dificilmente pode ser feita, pois suas manifestações são muito semelhantes, sendo necessária a utilização de exames de imagem (Hudyma e Terlikowski, 2008).

A tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) são as duas modalidades que são utilizadas regularmente para visualização cerebral (Rajini e Bhavani, 2013). Na maioria dos casos, a TC é utilizada para fornecer informações necessárias nas decisões durante os atendimentos de emergência (Latchaw *et al.*, 2009). Em relação à RM, a TC é mais acessível, mais comum, de menor custo e mais rápida. A TC sem utilização de contraste é comumente o primeiro exame radiológico a ser feito em uma pessoa com suspeita de AVC (Rajini & Bhavani, 2013).

A detecção de sinais de AVCi e da área de tecido atingido pela isquemia na fase aguda dessa patologia em imagens de tomografia computadorizada (TC) sem contraste é baixa, em alguns estudos com especialistas em radiologia esses conseguem uma sensibilidade de 45% a 55% nessa detecção (Kloska *et al.*, 2004). As ferramentas CAD (*Computer-aided detection/diagnosis*) foram e estão sendo desenvolvidas visando auxiliar o médico, prestando um suporte necessário à decisão médica, bem como na detecção e interpretação de doenças de vários órgãos. A aplicabilidade das ferramentas CAD está bem estabelecida clinicamente em exames como mamografia, colonoscopia e imagens torácicas, pois vários estudos relatam e comprovam a eficácia destas ferramentas (Nowinski, Qian e Hanley, 2014).

Uma detecção automática por um CAD da região hiperdensa pode reduzir o tempo de delineação, remover a variabilidade na detecção em relação ao operador

(Gillebert et al., 2014). Como ainda existem muitos serviços de saúde no interior do Brasil que não possuem especialistas em radiologia, a identificação automática e rápida das áreas de isquemia e hemorragia pode auxiliar os profissionais de saúde a fazer o diagnóstico e intervirem com um tratamento adequado, melhorando o prognóstico dos pacientes (Binotto et al., 2006).

Assim, a segmentação de imagens desenvolve um papel importante no processamento de imagem e no reconhecimento de padrões, e é parte integrante do CAD desenvolvido na segmentação das áreas de isquemia e hemorragia. O objetivo é separar áreas não superpostas e selecionar um objeto de interesse na imagem. Durante os anos, inúmeros algoritmos para segmentação de imagens foram propostos. Uma técnica popular de segmentação é a limiarização, por razão de sua simplicidade e eficiência. Porém, na maioria das imagens reais e nas imagens de TC, por vezes a diferença entre o objeto de interesse e o fundo da imagem não é distinguível (Huang et al., 2008)

A elaboração de um algoritmo para detectar as áreas de isquemia cerebral causadas por AVCi na sua fase aguda/subaguda utilizando técnicas de limiarização simples e baseado no posicionamento do ventrículo cerebral. E assim, auxiliando o profissional da saúde a chegar ao diagnóstico do AVCi da forma mais rápida possível, e dessa maneira, prezando pela diminuição do tempo de processamento e do custo computacional.

$$g(x, y) = \begin{cases} a, & \text{se } i(x, y) > T_2 \\ b, & \text{se } T_1 < i(x, y) \leq T_2 \\ c, & \text{se } i(x, y) \leq T_1 \end{cases}$$

2 | SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS POR LIMIARIAZAÇÃO

A segmentação de imagens é uma técnica de processamento utilizada para classificar ou agrupar uma imagem em diversas partes separadas, realizando o agrupamento de pixels que formam uma região homogênea e uniforme. Esse método é baseado nas características dos pixels, como nível de cinza apresentado, cor, textura, intensidade, entre outras (Sumi, 2010).

A divisão da imagem em estruturas de significado é normalmente uma etapa essencial para análise de imagem, representação de objetos, visualização, e outras tarefas de processamento de imagem. A segmentação de imagens visa a divisão independente de domínios, das regiões visualmente distintas e homogêneas relativas a certas propriedades. O objetivo principal da segmentação é diferenciar claramente o objeto em estudo e o fundo na imagem, e consiste em uma das tarefas mais difíceis no processamento. A precisão dessa divisão determina a eficácia final dos procedimentos de análise computadorizada (Khan e Ravi, 2013; Muñoz et al., 2003; Gonzalez & Woods, 2010).

A segmentação por intensidade ou limiarização (threshold) é uma das técnicas mais simples e uma das mais utilizadas na segmentação, devido a sua facilidade de

implementação e sua velocidade de processamento. A divisão da imagem em regiões é feita diretamente com base no valor da intensidade do pixel e ou propriedades desse valor (Gonzalez & Woods, 2010).

A limiarização é uma técnica que classifica a imagem em duas classes, e funciona pela definição que pixels que possuem uma faixa de valores representam uma classe, e o resto dos pixels representam outra. O limiar pode ser aplicado de forma global ou local. A limiarização global identifica o objeto e o fundo comparando os pixels com um limiar definido (threshold) e utiliza a binarização para segmentar a imagem.

Os pixels que apresentam maiores intensidades do que o limiar são considerados objeto e atribuídos a eles o valor binário 1, e aos outros, são atribuídos valor binário 0, e são definidos como fundo da imagem. Essa técnica é extremamente rápida, possui baixo custo computacional, podendo ser usada em aplicações em tempo real (Nagabhushana, 2005) e é dado por:

$$g(x, y) = \begin{cases} 1, & \text{se } i(x, y) \geq T \\ 0, & \text{se } i(x, y) < T \end{cases}$$

em que $g(x, y)$ é a imagem de saída, $i(x, y)$ a imagem de entrada e T o limiar definido. Quando o valor de T é uma constante aplicada a toda imagem, o processo recebe o nome de limiarização global. Se o valor de T não permanece igual em toda imagem, trata-se de uma limiarização variável. Se o valor do limiar depender das propriedades da vizinhança (x, y) , ocorre uma limiarização local (Gonzalez & Woods, 2010).

Se por acaso houver um histograma com três modos, ou picos dominantes de difícil limiarização, pode-se optar pela limiarização múltipla que classifica ponto (x, y) em três classes, e de acordo com a equação abaixo a imagem segmentada é obtida (Gonzalez & Woods, 2010), com valores diferentes de intensidade para a, b e c. Em que T_1 e T_2 representam os dois valores de limiar utilizados para a divisão em três classes.

3 | ALGORITMO DESENVOLVIDO

Nesta seção é apresentada a base de dados utilizada, o detalhamento do algoritmo desenvolvido, e ainda é descrita como foi realizada a avaliação estatística desse algoritmo. Foi realizada uma abordagem para a detecção das áreas de isquemia nas imagens de TC, o algoritmo foi desenvolvido na linguagem C++, utilizando-se a biblioteca OpenCV. Este algoritmo baseia-se na simples utilização de limiares para a localização dos ventrículos e para posterior detecção das áreas que apresentam isquemia, visando o minimizar o tempo de processamento.

Base de dados – A base de dados é composta por imagens de TC do crânio de 293 pacientes disponibilizadas pelo Núcleo de Estudos e Pesquisa em Imaginologia

(NEPI) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), as quais são provenientes da base de dados de um serviço privado ambulatorial de diagnóstico por imagem do interior do estado, dessa forma, o número de casos de AVCi agudo/subagudo não é tão grande pois esse não é um centro de referência de emergência, e sim, de exames de rotina. Esses exames foram colhidos de forma aleatória e consecutiva.

Dentro das amostras da base de dados existem 166 pacientes que estão dentro da variabilidade normal, 10 que apresentam o acometimento do AVCi agudo/subagudo, 5 pacientes com AVCi subagudo/crônico ou crônico, 47 aparições da patologia leucoaraiose, 5 pacientes com tumor de diversas etiologias, e os outros 60 possuem outras doenças pontuais. Alguns desses pacientes possuem mais de uma patologia identificável na TC.

Todas as imagens seguem o padrão DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*) de imagens médicas e possuem dimensões de 512x512 originalmente. Em todos os exames foram usados cortes sequenciais (não helicoidais) axiais, com espessura de 8mm entre os cortes. Tal técnica costuma resultar em 19 a 21 cortes para cada um dos pacientes analisados.

As imagens utilizadas neste trabalho, só foram obtidas após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do IFPB, cujo número de registro é: 1.293.095.

Algoritmo desenvolvido – O algoritmo de detecção de AVCi agudo ou subagudo baseado na sua posição em relação ao ventrículo cerebral utiliza conceitos de limiarização. E ainda, para excluir a detecção da leucoaraiose, utiliza-se do fato que, diferentemente do AVCi, a leucoaraiose localiza-se periventricularmente e é bilateral. Esse algoritmo consiste em abrir a imagem da tomografia, e a partir da análise de cada pixel em relação a sua posição e a sua intensidade de nível de cinza, é realizada uma decisão se ele pertence ou não a uma região de isquemia.

O fluxograma generalizado do algoritmo, desenvolvido e utilizado para o processamento das imagens de TC de crânio, é ilustrado na Figura 1.

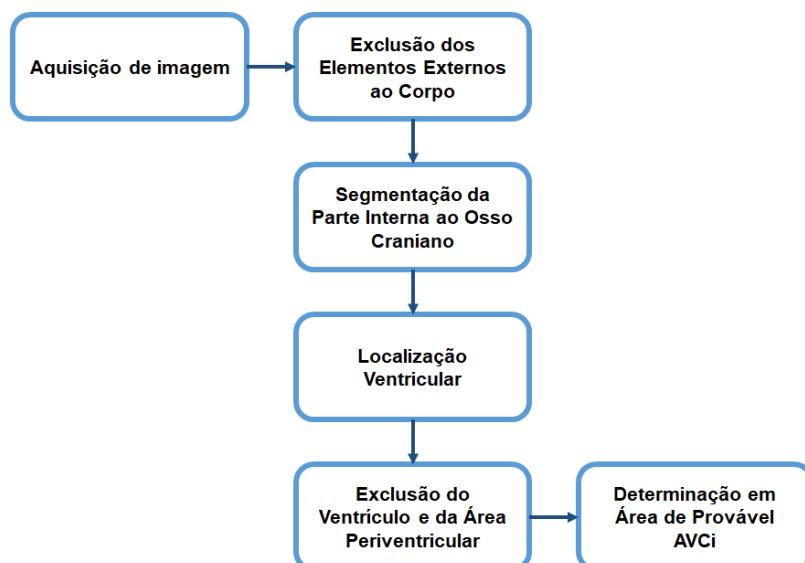


Figura 1: Fluxograma generalizado do algoritmo desenvolvido.

A exclusão dos elementos externos é iniciado com uma limiarização, utilizando método de Otsu, aplicada na imagem original, como mostrado na Figura 2.



Figura 2 : Imagem resultante após aplicação da limiarização por Otsu.

A limiarização por Otsu é seguida da aplicação do operador de Sobel para detecção de bordas (Figura 3a). Após a utilização de Otsu e da detecção de bordas (Figura 3b), uma imagem que contém apenas os contornos internos e externos à estrutura óssea do crânio é obtida. A região contida no interior do contorno interno é preenchida com o valor 255, branco, a partir do ponto central, e o contorno externo é excluído com a aplicação da erosão, que é um operador morfológico que reduz elementos de uma imagem (Figura 3c). A segmentação da parte interna ao osso craniano, que corresponde apenas aos tecidos cerebrais, é realizada pela multiplicação entre a imagem que possui o contorno interno preenchido e a imagem original da TC.

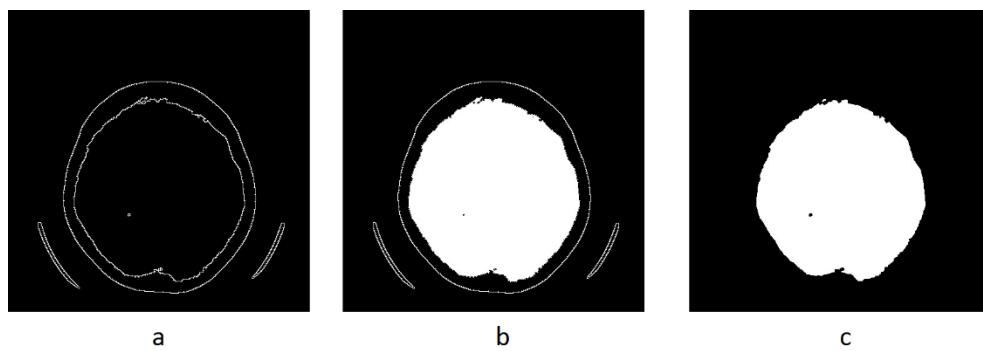


Figura 3 : Imagem resultantes durante o processamento para segmentação da parte interna ao osso.

Posteriormente, é realizada a localização do ventrículo e a exclusão da área periventricular. Isso se faz necessário porque o AVCi é a diminuição do fluxo sanguíneo apenas na região do cérebro em que estão os corpos celulares dos neurônios (substância cinzenta).

A área mais próxima aos ventrículos cerebrais é chamada de substância branca, e não contém esses corpos celulares, a patologia que é resultante da diminuição do fluxo nessa área é chamada leucoaraiose e ela é semelhante ao AVCi em relação aos tons de cinza que apresenta. Além de que o valor de atenuação da própria

substância branca é bem semelhante ao da substância cinzenta com início de isquemia, como mencionado anteriormente. Dessa forma, ao se eliminar a área periventricular, é diminuída a possibilidade de se identificar erroneamente como AVCi agudo/subagudo, a leucoaraiose e a própria substância branca.

A detecção do ventrículo foi realizada, inicialmente, criando-se uma máscara 5×5 , composta apenas pelo valor 255, ou seja, branco. Tal máscara é aplicada em todos os pixels da imagem para obtenção da média das intensidades dos pixels para que seja realizada uma consideração de um padrão e não apenas a observação de pixels isolados.

Se a média dos valores de intensidade de cinza obtida em cada pixel pela máscara for menor que o limiar de 12 (obtido empiricamente), esse pixel é definido como pertencente ao ventrículo cerebral, pois como essa estrutura é preenchida por líquido cefalorraquidiano cuja composição é basicamente água, o seu valor de atenuação é bastante baixo. Na Figura 4 está ilustrada a área detectada do ventrículo.



Figura 4 : Imagem da área de ventrículo detectada utilizando limiarização.

Depois de obtidos todos pixels referentes ao ventrículo, é aplicado um operador morfológico de erosão (Figura 5a), para a eliminação de alguns pixels dispersos identificados, e posteriormente uma dilatação (Figura 5b), para inclusão de uma maior área de substância branca próxima ao ventrículo que será eliminada e para a definição do menor retângulo, em que área do ventrículo e a área periventricular estão contidas. Esse retângulo é definido como zero na imagem resultante após a exclusão do crânio. Dessa forma, a imagem ao final desse processamento apresenta apenas a parte da substância cinzenta, a área em que ocorre o AVCi.

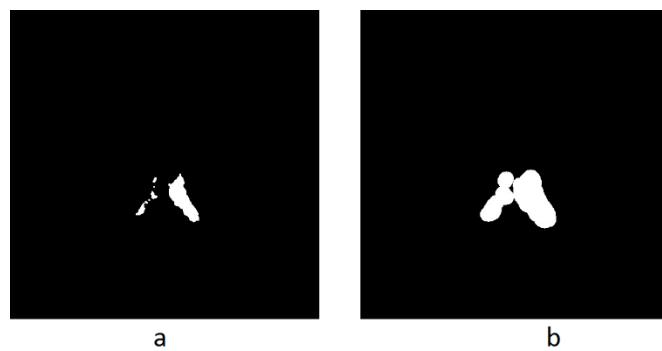


Figura 5 : Imagem resultando do processamento da área de ventrículo detectada.

A mesma máscara 5×5 é utilizada na determinação da área do provável AVCi agudo/subagudo, e aplicada a média resultante de intensidade dos níveis de cinza uma limiarização de três classes, em que a média de intensidade dos níveis de cinza da área características do AVCi deve estar acima de 15 e abaixo de 25, essa faixa de valores foi obtida com o auxílio do médico radiologista e utilizando as informações dos valores de atenuação de uma área isquemiada de substância cinzenta.

A máscara é aplicada apenas nos pixels da imagem após a exclusão do osso craniano e do menor retângulo que contém o ventrículo e área periventricular, o resultado pode ser observado na Figura 6.

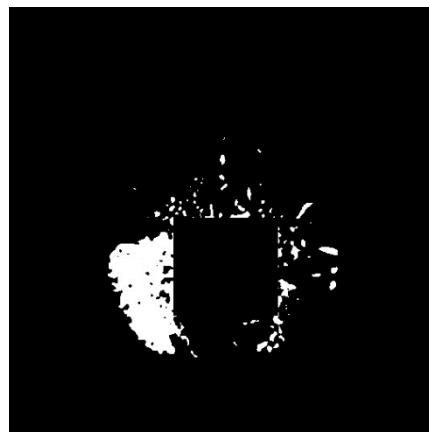


Figura 6: Imagem resultante binarizada da detecção da área de AVCi.

Essa imagem resultante é erodida para que sejam eliminados os pontos dispersos detectados e depois dilatada. E dessa forma, os pixels que se encaixam nesse padrão são coloridos em verde e determinados como a área de provável AVCi agudo/subagudo, como ilustrado na Figura 7.

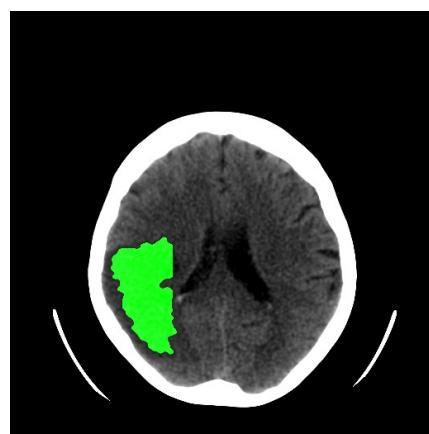


Figura 7: Imagem resultante da detecção da área de AVCi.

Análise estatística do algoritmo – A análise do desempenho do algoritmo desenvolvido foi realizada, utilizando três medidas: a sensibilidade, a especificidade, e a acurácia (Parikh et al., 2008; Almeida Costa et al., 2013): A sensibilidade (Sens) indica o quanto o algoritmo identifica corretamente a patologia quando ela realmente

está presente, ou seja, o quanto sensível ele é.

Ela é calculada pela relação entre o número de pacientes com AVCi agudo/subagudo corretamente identificados pelo algoritmo e o número total de pacientes com essa patologia identificados pelo padrão ouro, que é o laudo médico, dada na equação 1.

$$Sens = \frac{VP}{VP + FN} \quad (1)$$

Em que VP represente o número de verdadeiros positivos, ou seja, os pacientes identificados corretamente pelo algoritmo. E FN, os falsos negativos, que são os pacientes que possuem a patologia em questão, mas esta não foi detectada pelo algoritmo.

A especificidade (Esp) determina a capacidade do algoritmo de excluir corretamente os pacientes que realmente não apresentam a patologia. É a relação entre os pacientes que o algoritmo não detectou o AVCi agudo/subagudo e o número de pacientes que realmente não possuem essa doença, seu cálculo é feito pela equação 2.

$$Esp = \frac{VN}{VN + FP} \quad (2)$$

Em que VN identifica os verdadeiros negativos, ou seja, quando não há detecção da patologia e ela realmente não está presente. E FP, os falsos positivos, ou quando há a detecção da patologia, mas ela não está presente.

A acurácia (Ac) determina a taxa global de correta classificação da detecção de AVCi agudo/subagudo do algoritmo, ou seja, a competência do algoritmo de detectar corretamente quando há e quando não há a presença da patologia. A equação 3 define como se dá o cálculo da acurácia, que é a proporção de tudo que foi corretamente detectado e o número total de pacientes avaliados.

$$Ac = \frac{VP + VN}{VP + VN + FP + FN} \quad (3)$$

O padrão-ouro utilizado neste trabalho, como já mencionado anteriormente, foi o laudo fornecido por um radiologista especialista.

4 | RESULTADOS

Para todos os conjuntos de imagens de cada paciente foi realizado o processamento pelo algoritmo desenvolvido e o resultado desse processamento em imagens de TC de crânios de pacientes dentro da variabilidade normal é mostrado na Figura 8.

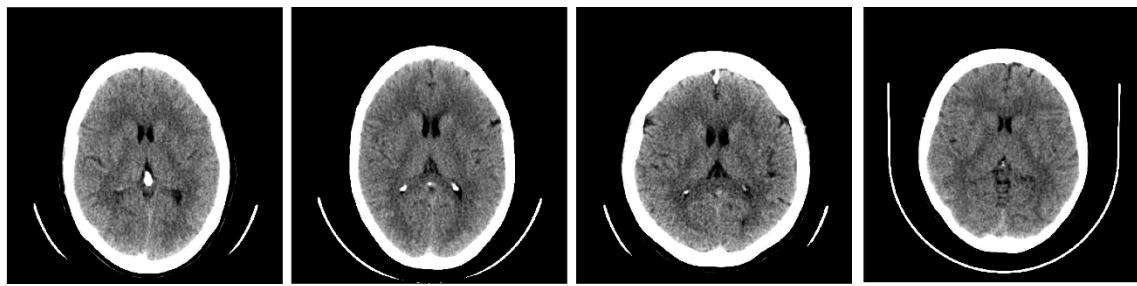


Figura 8: Exemplos de TCs de um mesmo corte de 4 pacientes considerados normais pelo algoritmo.

Nas Figuras 9 e 10 estão mostrados os resultados do processamento digital de algumas imagens das TCs de crânio em que houve a detecção de forma correta das áreas de AVCi agudo ou subagudo, segundo a correlação com o laudo médico. Os pixels que faziam parte dessa área foram coloridos em verde.

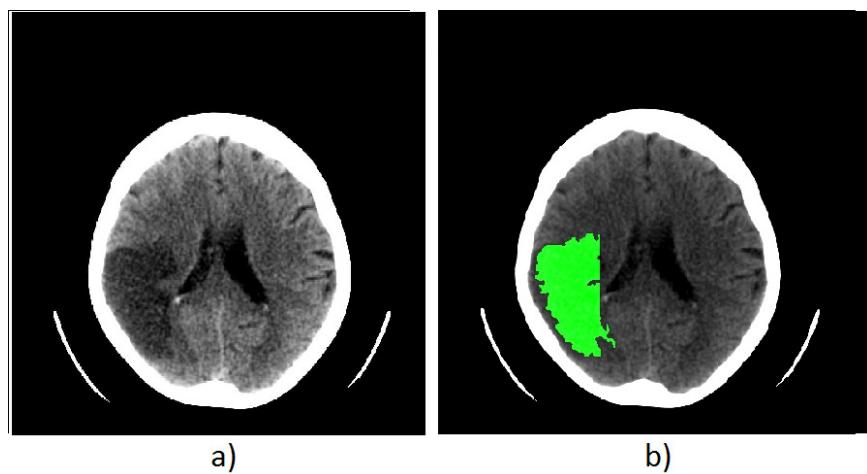


Figura 9: Imagem original (a) e após o processamento (b), com a identificação da área de provável AVCi agudo/subagudo do Paciente 151.

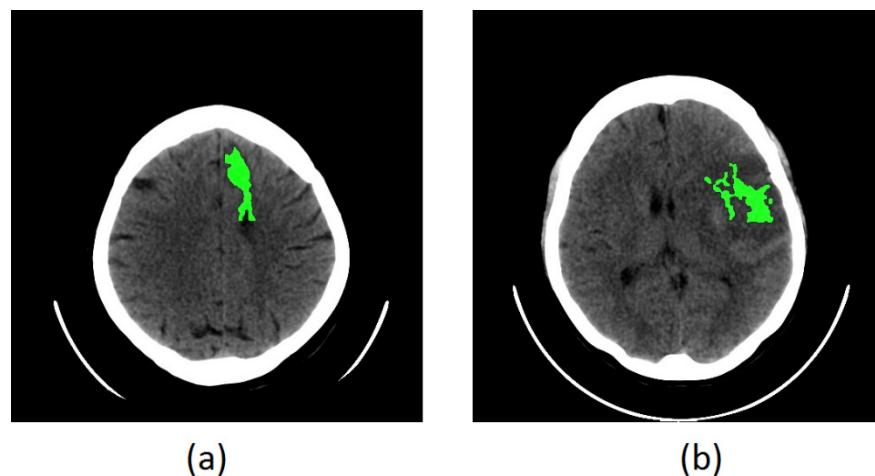


Figura 10: Imagem após o processamento com a identificação da área de provável AVCi agudo/ subagudo do Paciente 229 (a) e 93 (b).

Apesar da utilização dessa detecção baseada na posição ventricular, ainda existem alguns erros pela identificação da leucoaraiose como região de AVCi, como falso positivo. Na Figura 11 é ilustrada uma TC após o processamento que se encaixa

no que foi descrito.

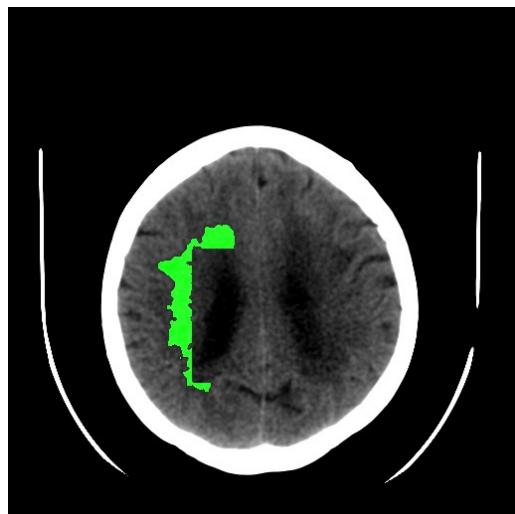


Figura 11: Detecção errada da área de leucoaraiose como área de provável AVCi agudo/subagudo.

As técnicas de limiarização foram testadas em imagens de TC de cérebro e é possível observar na Tabela 1 que o algoritmo desenvolvido apresentou uma acurácia de 84,4%, uma especificidade de 85,77% e uma sensibilidade de 54,54% na detecção de áreas de AVCi agudo/subagudo nas imagens de TC por pacientes.

Sensibilidade	Especificidade	Acurácia
80,0%	86,6%	86,4%

Tabela 1: Avaliação de desempenho do algoritmo de detecção de AVCi por paciente.

5 | DISCUSSÃO

As técnicas de limiarização foram testadas em imagens de TC de cérebro e é possível observar na Tabela 1 que o algoritmo desenvolvido apresentou uma acurácia de 86,4%, uma especificidade de 86,6% e uma sensibilidade de 80% na detecção de áreas de AVCi agudo ou subagudo nas imagens de TC dos pacientes da base de dados.

Apesar da localização e exclusão da área ventricular e periventricular, ainda existiram 14 falsos positivos encontrados pela semelhança da intensidade de cinza da leucoaraiose com a área de AVCi agudo/subagudo, ou porque a localização do ventrículo não foi realizada de maneira adequada, ou ainda porque a área periventricular excluída foi muito pequena para eliminar toda a leucoaraiose na imagem.

A sensibilidade alcançada pelo algoritmo desenvolvido foi de 80%, e a área detectada foi cerca de 70% a 80% da área isquemiada real. Apesar de existirem 2 imagens em que existe a falsa rejeição da patologia, nessas imagens o acometimento da doença tinha acontecido há de menos de 2h, então ainda não havia quase nenhuma mudança na densidade cerebral.

6 | CONCLUSÃO

O algoritmo desenvolvido utilizando limiarização simples baseado na posição ventricular para a detecção de áreas de AVCi agudo/subagudo satisfez os objetivos, apresentando uma acurácia de 86,4%. Esse algoritmo foi implementado de forma fácil e simples e apresenta, no processamento do conjunto de imagens (20) de cada paciente, um tempo de duração de seis segundos. Dessa forma, esse algoritmo pode ser uma ferramenta útil de auxílio em diagnóstico médico. Assim, podendo auxiliar médicos generalistas e paramédicos que não tem especialidade na área da radiologia, ao chamar atenção para uma área de provável AVC isquêmico.

Como trabalhos futuros, é ainda necessário um maior aperfeiçoamento da segmentação da região de isquemia característica do AVCi agudo ou subagudo. É necessário realizar não só a comparação do laudo com o resultado do algoritmo, mas adicionando também uma correspondência topográfica que determine o quanto da área isquemizada e está sendo realmente detectada. E ainda é necessário um aumento do número de casos dentro da base de dados de pacientes acometidos pelo AVCi agudo/subagudo, além da utilização de outras bases de dados para testar o algoritmo desenvolvido.

REFERÊNCIAS

- Almeida Costa W.C., Costa S.L.D.N.C., Assis F.M., Neto B.G.A. **Classificação de sinais de vozes saudáveis e patológicas por meio da combinação entre medidas da análise dinâmica não linear e codificação preditiva linear.** Rev. Bras. Eng. Biom. 2013, 29(1): 3-14.
- Binotto, A. P. D., Torres, M. S., Sachpazidis, I., Gomes, R., & Pereira, C. E. **Telemed: Um Estudo de Caso de Tele-saúde Baseado em Imagens de Ultra-som.** Pages 1273–1277 of: X Congresso Brasileiro de Informática em Saúde. 2006.
- Carvalho J.J.F., Alves M.B., Viana G.Á.A., Machado C.B., Santos B.F.C., Kanamura A.H., Silva G.S. **Stroke Epidemiology, Patterns of Management, and Outcomes in Fortaleza, Brazil A Hospital-Based Multicenter Prospective Study. Stroke.** 2011.
- Gillebert, C. R., Humphreys, G. W., & Mantini, D. **Automated delineation of stroke lesions using brain CT images.** NeurolImage: Clinical, 2014, 4, 540–548
- Gonzalez, R. C., & Woods, R. E. 2010. Processamento de Imagens Digitais. 3 edn. São Paulo: Pearson Prentice Hall
- Huang, P., Cao, H., & Luo, S. **An artificial Ant Colonies Approach to Medical Image Segmentation.** Computer Methods and Programs in Biomedicine, 92(3), 267–273, 2008.
- Hudyma, E, Terlikowski G. **Computer-aided detecting of early strokes and its evaluation on the base of CT images.** In Computer Science and Information Technology, 2008. IMCSIT 2008.
- Khan, A.M., Ravi. S. 2013. **Image Segmentation Methods: A Comparative Study.** International Journal of Soft Computing and Engineering, 3(4), 84–92.
- Kloska S.P., Nabavi D.G., Gaus C., Nam E.M., Klotz E., Ringelstein E.B., Heindel W. **Acute Stroke**

Assessment with CT: Do We Need Multimodal Evaluation? 1. In: Radiology. 2004, 233(1): 79-86.
Disponível em: <http://pubs.rsna.org/doi/full/10.1148/radiol.2331030028>.

Latchaw R.E., Alberts M.J., Lev M.H., Connors J.J., Harbaugh R.E., Higashida R.T., Villablanca P. **Recommendations for Imaging of Acute Ischemic Stroke A Scientific Statement From the American Heart Association.** Stroke. 2009, 40(11): 3646-3678.

Muñoz, X., Freixenet, J., Cufí, X., & Martí, J. 2003. **Strategies for Image Segmentation Combining Region and Boundary Information.** Pattern Recognition Letters, 24(1), 375–392.

Nagabhushana, S. 2005. **Computer Vision and Image Processing.** New Age International.

Nowinski W.L., Qian G., Hanley D.F. **A CAD System for Hemorrhagic Stroke.** The neuroradiology jornal. 2014, 27(4): 409-416.

Parikh R, Mathai A, Parikh S, Sekhar G.C., Thomas R. **Understanding and using sensitivity, specificity and predictive values.** Indian journal of ophthalmology. 2008, 56(1), 45.

Rajini, N. H., & Bhavani, R. **Computer Aided Detection of Ischemic Stroke Using Segmentation and Texture Features. Measurement.** 2013, 46(6), 1865–1874.

Tomura N, Uemura K, Inugami A, Fujita H, Higano S, Shishido F. **Early CT finding in cerebral infarction: obscuration of the lentiform nucleus.** Radiology. 1988, 168(2): 463-467.

DETECÇÃO DE MELANOMA UTILIZANDO DESCRIPTORES DE HARALICK

Marília Gabriela Alves Rodrigues Santos

Grupo de Processamento Digital de Sinais,
Instituto Federal da Paraíba
João Pessoa – PB

Marina de Oliveira Alencar

Grupo de Processamento Digital de Sinais,
Instituto Federal da Paraíba
João Pessoa – PB

Walisson da Silva Soares

Grupo de Processamento Digital de Sinais,
Instituto Federal da Paraíba
João Pessoa – PB

Cecília Burle Aguiar

Grupo de Processamento Digital de Sinais,
Instituto Federal da Paraíba
João Pessoa – PB

Carlos Danilo Miranda Regis

Grupo de Processamento Digital de Sinais,
Instituto Federal da Paraíba
João Pessoa – PB

de Haralick. Serão analisados doze dos Descritores e selecionados os que identificam melhor a região da patologia. O algoritmo desenvolvido apresentou bons resultados, como uma sensibilidade de 88% e uma acurácia na detecção do melanoma de 83%.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer de pele, Descritores de Haralick, Textura, Processamento de Imagens.

ABSTRACT: Melanoma is a type of skin cancer that is hardly detected in its initial state, thus difficulting the treatment. Due to the importance of a prognosis for the disease, computational techniques were developed to help identify this pathology. This article aims to identify melanoma in skin images using Haralick's Descriptors. Twelve of Descriptors will be analyzed, and then those that better identify the area of pathology will be selected. The developed algorithm presents good results, as a sensitivity of 88% and an accuracy at melanoma detection of 83%.

KEYWORDS: Skin cancer, Haralick's features, Texture, Image Processing.

1 | INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano e corresponde a 15% do peso total do homem. É o órgão que reveste e delimita o organismo, protegendo-o e interagindo com o meio externo.

RESUMO: O melanoma é um dos tipos de câncer de pele, que dificilmente tem a detecção no seu estado inicial, dificultando assim o tratamento. Devido a importância de um prognóstico da doença, têm-se desenvolvidos técnicas computacionais para auxiliar na identificação dessa patologia. Este artigo tem como finalidade a identificação do melanoma em imagens da pele, através dos Descritores

A pele também protege o corpo contra o calor, a luz e as infecções, além de ser responsável pela regulação da temperatura corpórea e de auxiliar como reserva de água, vitamina D e gordura. Esse órgão está sujeito a um crescimento desordenado das suas células que podem resultar em um câncer de pele (BARDINI, LOURENÇO, FISSMER; 2012).

Dentre os tipos de câncer de pele existe o melanoma que é o tipo menos frequente, porém tem o pior prognóstico e o maior índice de mortalidade. Nesse tipo de câncer pode haver metástase, havendo espalhamento rápido pelo corpo, com grande potencial de letalidade. Um diagnóstico precoce seria um dos principais fatores de sucesso ao tratamento, segundo o INCA (Instituto Nacional de Câncer) (INCA, 2015). O câncer de pele corresponde a 29% dos tumores malignos registrados no Brasil, sendo o de maior incidência. Isso tem motivado o desenvolvimento de sistemas computadorizados para auxiliar dermatologistas no diagnóstico de lesões de pele, esses sistemas têm como objetivo identificar lesões e classificá-las em maligna ou benigna. Esses sistemas são úteis para aumentar a acurácia no diagnóstico, assim como aumentar a rapidez nesse diagnóstico. Pois, com o auxílio de um computador existe a capacidade de extração, de várias informações de imagens dessas lesões, como variação de cor, assimetria, descritores de textura, que não são rapidamente perceptíveis para os humanos (JAIN, JAGTAP, PISE; 2015).

Existem diversos sistemas e algoritmos propostos que são baseados em sete pontos da lista de verificação, no método de Menzies, nas regras ABCD, entre outros métodos. As regras ABCD são quatro características dermatoscópicas utilizadas para análise de uma lesão de pele para o diagnóstico do melanoma, são elas: assimetria, bordas irregulares, cor e diâmetro. As características extraídas das imagens de muitos sistemas de detecção computadorizada de melanomas são baseadas nessa regra ABCD (JAIN, JAGTAP, PISE; 2015), porém os aspectos extraídos neste trabalho para a detecção do melanoma na análise da pele foram os descritores de textura de Haralick.

Esse projeto tem como objetivo o desenvolvimento de um algoritmo de detecção de melanoma utilizando informações de textura da imagem, a partir dos descritores de Haralick.

2 | DESCRIPTORES DE HARALICK

Segundo Haralick, a textura é um relevante atributo aplicado na identificação de objetos ou regiões de interesse em uma imagem (HARALICK, SHANMUGAM, DINSTEIN; 1973). A textura é uma propriedade que dimensiona características da superfície de uma imagem, como a variação dos tons de cinza ou de cor; são aspectos relacionados a qualidade de uma imagem (RAO, 1990).

Os descritores de Haralick são uma das medidas existentes para o cálculo da textura de uma imagem. Essas medidas fundamentam-se na utilização de matrizes

de co-ocorrência, que são desenvolvidas com base nos níveis de cinza dos pixels da imagem, e tem como finalidade definir as texturas presentes. A análise é feita com um par de pixel por vez, na qual um é chamado de pixel de referência e o outro de pixel vizinho, que são escolhidos a partir dos seguintes elementos $P(i,j,d,\theta)$, sendo i e j as localizações dos pixels, θ a direção e d a distância entre eles. A matriz de co-ocorrência tem o número de linhas e de colunas iguais ao número de tons de cinza da imagem. Para iniciar a matriz de ocorrência simultânea define-se a direção e a distância, cada posição (i,j) terá a quantidade de vezes que o par de pixels com os tons de cinza (i,j) aparecer na imagem (HARALICK, SHANMUGAM, DINSTEIN; 1973).

Uma imagem possuirá quatro matrizes de co-ocorrência, uma para cada $\theta = \{0, 45, 90, 135\}$. Essas matrizes precisam estar normalizadas, assim, deve-se dividir o valor que contém em cada posição pela soma de todos os valores da matriz de co-ocorrência. A principal desvantagem na aplicação dessas medidas baseadas em matrizes de co-ocorrência é o grande tempo de processamento e a alta requisição de memória (HARALICK, SHANMUGAM, DINSTEIN; 1973).

Os descritores de Haralick são constituídos por 14 medidas, no entanto, as mais utilizadas são: energia, entropia, homogeneidade, correlação e contraste (HARALICK, SHANMUGAM, DINSTEIN; 1973). Nesse trabalho foram utilizados doze descritores: Segundo Momento Angular, Contraste, Correlação, Variância, Homogeneidade, Soma das Médias, Soma das Variâncias, Soma das Entropias, Entropia, Diferença das Variâncias e Diferença das Entropias, além da Energia.

3 | MATERIAIS E METÓDOS

Nesta seção é apresentada a base de dados utilizada e a metodologia aplicada neste trabalho. É realizada a descrição das etapas do processamento digital aplicado nas imagens da pele disponíveis.

Base de dados – A base de dados utilizada neste trabalho é composta por 41 imagens de fotografias de pele de 41 pacientes diferentes, todas no formato JPEG ou JPG (*Joint Photographic Experts Group*). As imagens utilizadas para o processamento fazem parte de um atlas dermatológico interativo disponibilizado online, pela Dermatlas (DERMATLAS; 2016). Esse atlas possui mais de 1000 fotografias de pacientes das últimas duas décadas com diversas patologias, as pesquisas nessa base de dados podem ser realizadas de acordo com o diagnóstico, características das lesões, localização demográfica dos pacientes e o tratamento utilizado.

Das 41 imagens obtidas na base de dados, 11 delas foram utilizadas apenas para treinamento, de cada uma delas foram obtidas 5 amostras de tecido normal e 5 de tecido alterado, apresentando o melanoma. Nessas 11 imagens utilizadas para o treinamento havia a presença da patologia na pele, de onde foram coletadas as amostras do tecido alterado, mas também apresentavam pele sem alteração, de onde

foram coletadas as amostras do tecido normal.

A validação do algoritmo foi realizada nas outras 30 imagens que não foram utilizadas para testes, nas quais haviam 26 imagens que apresentavam o melanoma e 4 de pele sem alteração. Nessas imagens existiam alguns ruídos inseridos pela qualidade das fotografias, como sombreamento de acordo com a posição em que a lesão estava na pele, áreas com pelo, brilho e contraste ruins, além de sinais benignos, outras manchas, além de artefatos introduzidos pela própria compressão do formato JPEG entre outros tipos de ruídos.

Metodologia – A realização deste trabalho é subdividida em duas partes, uma que é referente ao processamento propriamente dito das imagens de pele, e a outra parte que é a obtenção dos descritores de Haralick que serão utilizados efetivamente no processamento para se realizar a detecção da lesão do melanoma nas imagens da base de dados. Depois da detecção ou não da área do provável melanoma de todas as imagens processadas é realizada a análise estatística do desempenho do algoritmo. Na Figura 1 está ilustrado o fluxograma do trabalho desenvolvido.

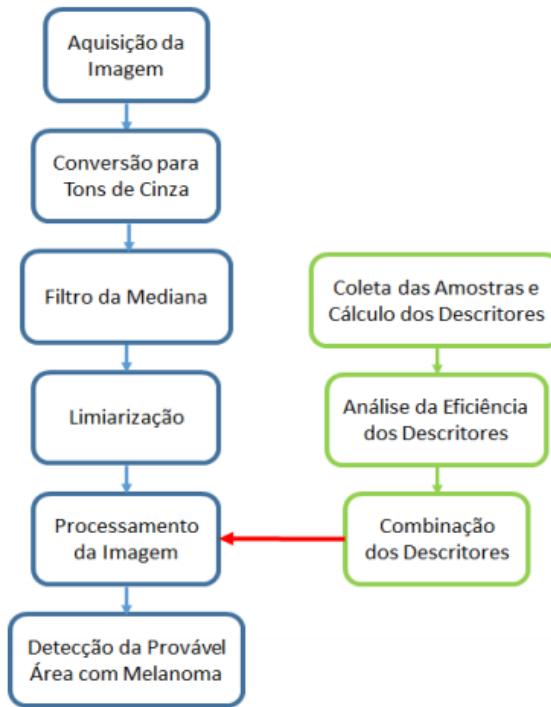


Figura 1 - Fluxograma do projeto.

A parte do projeto que se refere à obtenção dos descritores de Haralick que serão utilizados efetivamente no processamento é iniciada com a etapa de coleta, seguida do cálculo dos descritores de Haralick para cada um dos pontos coletados, tanto de tecido normal quanto alterado. A coleta de amostras foi realizada nas 11 imagens separadas da base de dados utilizadas apenas para treinamento. Como todas essas imagens para treinamento possuíam uma lesão na pele característica do melanoma, de cada uma delas coletadas 10 amostras, sendo 5 da parte de pele normal e 5 da pele com a lesão característica.

Depois de obtidos todos os descritores de Haralick tanto para a pele normal quanto

para pele com melanoma, foi realizada uma análise da eficiência dos descritores, ou seja, foi verificado qual deles possuía valores mais diferentes do tecido normal para o com a lesão. Dessa forma, facilitando separação da faixa de valores que descrevem a região de pele normal da faixa, que descreve a região da lesão característica do melanoma.

Após a análise de quais descritores adequavam-se melhor para a segmentação da região com a lesão característica do melanoma, é realizada a combinação entre os dois descritores que melhor realizavam essa separação para identificar com maior precisão a doença na pele.

A parte referente ao processamento propriamente dito das imagens da pele para detecção do melanoma é iniciada com um pré-processamento, que é utilizado para gerar uma melhoria na qualidade da imagem para as próximas etapas. Trabalhando com os valores de intensidades dos pixels, as operações efetuadas nessa etapa são ditas de baixo nível.

Inicialmente é realizada a aquisição da imagem da base de dados no formato JPG, seguida de uma conversão de uma imagem com três componentes de cor para tons de cinza, para, em seguida, aplicar o filtro da mediana em todos os pixels da imagem. Esse filtro é utilizado para a eliminação de ruídos pontuais na imagem, mantendo, assim, uma maior homogeneidade. A escolha desse filtro foi realizada para se manter os principais detalhes da imagem, mantendo-se a resolução espacial.

Para que seja eliminado o fundo da imagem, o que contém informações que não são importantes, foi utilizada uma limiarização. O valor do limiar utilizado foi obtido a partir do histograma, que apresenta as intensidades dos pixels da imagem e a quantidade de pixels com cada intensidade. Após o limiar ter sido determinado, a imagem pode ser segmentada em dois grupos: o grupo de pixels com níveis de cinza abaixo do limiar e o grupo de pixels com níveis de cinza acima do limiar.

Depois da limiarização da imagem, é iniciada a etapa do processamento que consiste em processar as imagens, anteriormente pré-processadas, com o intuito de gerar uma nova imagem que destaca a região que o algoritmo desenvolvido detecta como sendo melanoma, se esse realmente existir.

O cálculo de textura é realizado em cada pixel juntamente com sua vizinhança, formando uma máscara 5x5. Essa detecção é realizada a partir dos valores que foram definidos na etapa da combinação dos dois descritores que melhor separam a pele da região de lesão característica do melanoma. Na próxima Seção serão apresentados os descritores utilizados e a faixa de valores que melhor determina o melanoma.

Uma imagem completamente branca foi criada, e a medida que o valor dos descritores de um determinado pixel enquadra-se na faixa de valores que foram definidos como melanoma, esse mesmo pixel, na imagem em branco, assume o valor 0, ou tom preto.

Análise estatística do resultado do algoritmo – A análise de desempenho do algoritmo desenvolvido foi realizada inicialmente classificando os resultados obtidos

em correta aceitação, correta rejeição, falsa aceitação e falsa rejeição, para que seja calculada a acurácia do algoritmo com a Equação 1 (PARIKH, MATHAI, SEKHAR, THOMAS; 2008).

- Correta Aceitação (CA): A detecção da patologia ocorre quando ela realmente está presente;
- Correta Rejeição (CR): Não há detecção da patologia quando ela realmente não está presente;
- Falsa Aceitação (FA): A detecção da patologia ocorre quando ela não está presente;
- Falsa Rejeição (FR): Não há detecção da patologia quando ela na verdade está presente;
- Acurácia (A): Desempenho global do algoritmo, representa a porcentagem total de imagens em que a detecção do melanoma é feita de maneira correta.

$$A = \frac{CA + CR}{CA + CR + FA + FR} \quad (1)$$

E depois realizado o cálculo da sensibilidade e especificidade, para utilizá-los como medida de análise do desempenho do algoritmo desenvolvido.

Sensibilidade: é a proporção de pessoas com a doença que terá um resultado positivo, remete à capacidade do teste de identificar as pessoas com a doença quando ela está presente.

$$S = \frac{CA}{CA + FR} \quad (2)$$

Especificidade: é a proporção de pessoas sem a doença que terá um resultado negativo, remete à capacidade do teste de identificar pessoas sem a doença quando ela realmente não está presente.

$$Esp = \frac{CR}{CR + FA} \quad (3)$$

4 | RESULTADO

Os valores dos dois descritores de Haralick obtidos após a coleta das amostras que possuíam valores bem distintos para as amostras de tecido de pele saudável em relação as amostras das lesões características de melanoma foram a Soma das Médias e a Soma das Variâncias. A utilização desses dois descritores foi realizada

por estes obterem faixas de valores que melhor diferem o tecido normal do tecido com melanoma. Essa avaliação de distinção foi feita visualmente em relação aos resultados apresentados. Esses descritores foram definidos por Haralick como f_6 e f_7 , respectivamente e são dados por:

$$f_6 = \sum_{i=2}^{2N_g} ip_{x+y} \quad (6)$$

$$f_7 = \sum_{i=2}^{2N_g} (i - f_8)^2 p_{x+y} \quad (7)$$

Na Tabela 1 é mostrado exatamente as faixas de valores para os dois descritores de soma das médias e das variâncias diferentes para o tecido normal e com a patologia. Dessa forma, fazendo-se possível a detecção da lesão característica do melanoma na pele.

Descriptor	Tecido Normal	Melanoma
Soma das Médias	350 a 450	150 a 300
Soma das Variâncias	120000 a 200000	20000 a 80000

Tabela 1 - Faixa de valores dos descritores de Haralick para tecido normal e o melanoma.

As amostras que representam o tecido com câncer se concentram em uma faixa de 150 a 300 para o descritor soma das médias, e 20000 a 80000 para a soma das variâncias. De acordo com a Tabela 1, que apresenta os valores dos descritores para as amostras coletadas, é possível com a combinação de f_6 com f_7 uma diferenciação entre os dois tecidos avaliados, com câncer e normal, mesmo havendo algumas amostras que não estão na faixa de valores determinada.

A Figura 2 e 3 apresentam dois exemplos das imagens retornadas do processamento com os Descritores de Haralick. Nas imagens de saída foram detectados a maioria dos pixels que correspondem a região com melanoma. Assim, os objetivos desse algoritmo foram alcançados.



Figura 2 - Resultado: imagem de entrada mais à direita; imagem de saída mais à esquerda.



Figura 3 - Resultado: imagem de entrada mais à direita; imagem de saída mais à esquerda.

É possível observar na Tabela 2 que existem 2 imagens que foram classificadas com falsos positivos, ou seja, que há a detecção da patologia quando essa não está presente. Nessas imagens haviam sinais (nevos melanocíticos), que são tumores benignos que se originam dos melanócitos, porém eles foram detectados erroneamente. Apesar de existirem imagens com pêlos, com alguns sombreamentos devido a posição, alguns ruídos decorrentes de contraste e brilho, as áreas detectadas pelo algoritmo como correta aceitação foram apenas as que correspondiam à lesão característica do melanoma.

CA	CR	FA	FR	A
22	3	2	3	83,33%

Tabela 2 - Classificação das imagens e a acurácia do teste.

É possível observar a partir da análise estatística do desempenho do algoritmo desenvolvido que a sensibilidade do algoritmo é de 88%, além de uma acurácia de 83%, dessa forma, esse algoritmo possui uma boa taxa de sensibilidade e acurácia, sendo possível sua utilização no auxílio da detecção de melanomas por especialistas. Porém a especificidade encontrada foi de 60%, pois, como já foi comentado anteriormente, há a detecção inadequada dos nevos melanocíticos.

5 | CONCLUSÃO

O algoritmo desenvolvido utilizando descritores de textura para a detecção do melanoma obteve uma sensibilidade de 88% e uma acurácia de 83%, porém uma especificidade de 60%. Dessa forma, obtiveram-se resultados rápidos e satisfatórios para a grande maioria das imagens processadas, sendo assim possível a sua utilização para auxiliar no diagnóstico dessa patologia.

Para haver uma melhora da detecção é preciso realizar a inclusão dos protocolos de ABCD (assimetria, bordas irregulares, cor e diâmetro) na detecção e identificação das lesões. Além de adicionar outros tipos de câncer de pele para detecção e diferenciação entre eles. Para realizar uma validação mais apropriada do algoritmo desenvolvido são necessários testes com outras bases de dados e ainda com mais representatividade do melanoma presente.

Outra análise extremamente importante a ser realizada é a da escolha dos descritores para a elaboração do algoritmo de detecção do melanoma, devendo-se utilizar testes estatísticos para escolha de quais deles obtêm os resultados mais concretos e objetivos na distinção das amostras sadias e patológicas.

REFERÊNCIAS

- Bardini, G.; Lourenço, D.; Fissmer, M. C. **Avaliação do conhecimento e hábitos de pacientes dermatológicos em relação ao câncer da pele.** ACM Arq Catarin Med, 2012. cap. 41, p. 56-63.
- Instituto Nacional de Câncer - INCA. **Tipos de câncer: pele melanoma.** Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em: 22 de dezembro de 2015.
- Jain, S.; Jagtap, V.; Pise, N. **Computer aided Melanoma skin cancer detection using Image Processing.** Procedia Computer Science, 2015. cap. 48, p.735 – 740.
- Haralick, R. M.; Shanmugam, K.; Dinstein, I. H. **Textural features for image classification.** Systems, Man and Cybernetics, IEEE Transactions on, 1973. cap. 6, p. 610- 621.
- Rao, A. R. **A Taxonomy for texture description and identification.** Nova York: Springer-Verlag, 1990.
- “**Interactive Dermatology Atlas**”. Disponível: <<http://www.dermatlas.net/atlas/index.cfm>>. Acesso em: 30 de maio de 2016.
- Parikh, R.; Mathai, A.; Parikh, S.; Sekhar, G. C.; Thomas, R. **Understanding and using sensitivity, specificity and predictive values.** Indian journal of ophthalmology, 2008. cap. 1, p. 45 e 56.

HUMAN KNEE SIMULATION USING MULTILAYER PERCEPTRON ARTIFICIAL NEURAL NETWORK

Ithallo Junior Alves Guimarães

Universidade de Brasília (UnB), Faculdade Gama
(FGA)

Brasília – Distrito Federal

Roberto Aguiar Lima

Universidade de Brasília (UnB), Faculdade Gama

(FGA)

Brasília – Distrito Federal

Vera Regina Fernandes da Silva Marães

Universidade de Brasília (UnB), Faculdade Gama
(FGA)

Universidade de Brasília (UnB), Faculdade
Ceilândia (FCE)

Brasília – Distrito Federal

Lourdes Mattos Brasil

Universidade de Brasília (UnB), Faculdade Gama
(FGA).

Brasília – Distrito Federal

ABSTRACT: This work intends to show the usage of a Multilayer Perceptron Artificial Neural Network (MLP ANN) to simulate the human knee, more precisely, its angular velocities. The MLP was chosen due to its ability to converge in non-linear problems and, so, form more complex separating boundaries for the problems. This is an open source project and its source code is available at https://github.com/rob-nn/mlp_knee.

KEYWORDS: MLP, ANN, Back-propagation.

1 | INTRODUCTION

Artificial intelligence techniques are very common in modern days, and are even invisible most of time. They are used from websites, prediction making, cellphones up to medical purposes.

This paper is based on a previous paper (LIMA et al., 2015), which discusses about the use of a Cerebellar Model Articulation Control artificial neural network (CMAC ANN) in order to predict and simulate the behavior of the human knee. Here, the use of Multilayer Perceptron Artificial Neural Network (MLP ANN) is shown in order to simulate its angular velocities. As it suggests, the MLP comes from the perceptron, which, according to Begg; Lai; Palaniswami (2008), mimics the basics of mammalian visual system and is an example of the simplest feedforward network, consisting of a single neuron. MLPs consist of at least three different layers of perceptrons, input layer, hidden layer and output layer.

The MLP is used due to the fact that the single perceptron cannot converge for non-linearly separable problems (BEGG; LAI; PALANISWAMI, 2008). It has some features that, according to Haykin (2008) should be highlighted, such as: the existence of one or more hidden layers from both input and output

nodes; the fact that all the neurons contain a non-linear differentiable function and the high degree of connectivity present in this network (“fully connected”, each node in all the layers is connected to all nodes in the next layer (BEGG; LAI; PALANISWAMI, 2008)). The MLP shown in this paper uses the back-propagation algorithm to set the weights of its nodes accordingly to the data fed into the network. This algorithm has its name because the computation of the error goes from the output layer back to the first hidden layer (NG, 2016), the input does not enter in the calculation as it is just the features observed on the training set (NG, 2016).

Thus, it can be seen as a very important machine learning technique which may be used in applications of biomedical engineering, such as developing better and more precise active prostheses that would improve life quality for the ones that depend on them.

2 | MATERIALS AND METHODS

The methods and materials for this paper were based in Lima et al. (2015) and it comes as modified version of it. The Figure 1 was modified from Lima et al. (2015) and shows the steps for the simulation suggested.

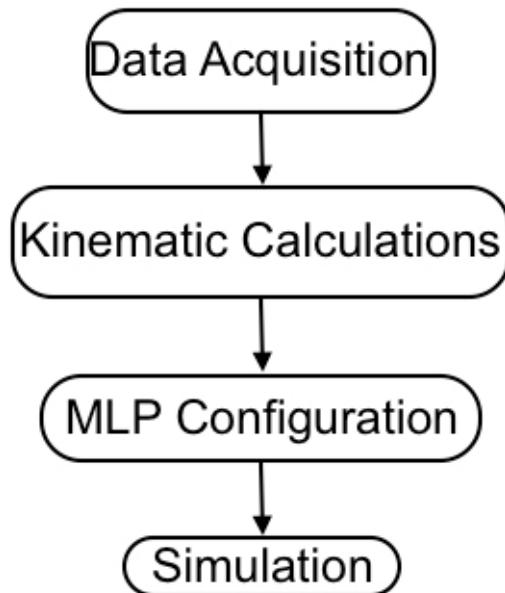


Figure 1: Steps for the simulation process.

Data Acquisition – The data used to train the MLP was obtained from a subject in the Human Performance Laboratory at Faculty UnB-Ceilândia. According to Lima et al. (2015), the data was acquired using twelve cameras (Qualisys Oqus MRI), passive body markers and the Qualisys QTM 3.2 software package. Motion capture techniques were used here to obtain the data. A healthy female subject was selected and she repeated a walk of about five second for five times. The markers used were distributed along 40 positions on the inferior limbs of the subject. The data generated comes

from one of the walks and had its beginning and ending cut in order to constitute a comfortable gait cycle (LIMA et al., 2015).

The data acquisition process was approved by the Health Faculty Ethics Committee from UnB, protocol N11911/12 (LIMA et al., 2015).

Kinematic Calculations – Octave was used on the computation processes. The data from the Qualisys QTM was exported to the MATLAB format, as it is possible (QUALISYS, 2016). MATLAB files can be read by Octave, as they are mostly compatible (GNU OCTAVE, 2016).

Equation (1) shows how to obtain the angles (LARSON and EDWARDS, 2010).

$$\theta = \cos^{-1} \left(\frac{\mathbf{u} \cdot \mathbf{v}}{\|\mathbf{u}\| \|\mathbf{v}\|} \right) \quad (1)$$

The angles came from malleolus, knee and trochanter from both legs. Then, the knee was set as origin of the system and the relative positions of the other elements were calculated. After this, the angles could be calculated using (1). Calculations were done separately for each limb.

The velocities and angular velocities were calculated, respectively, by the difference of an angle and its predecessor and the position in the space and its predecessor divided by a time t . The time t is fixed and given by the time between samples. For this case, as the sampling rate was 60 frames per second, so, t is about 17 milliseconds.

Angular accelerations were calculated using a similar fashion.

MPL Configuration – Nine input signals were used in order to predict one output signal. The used signals were the angular velocities, angles and angular accelerations from the left knee and the velocities from both knees (composed of three velocities for the planes x, y and z each).

The output signal (predicted one) was the angular velocities from the right knee. The implemented MLP use biases and is composed of two hidden layers of forty elements each, one input layer and one output layer, summing up four layers, these parameters were set based on a trial and error basis. This is a feedforward trained using the back-propagation algorithm. It used the hyperbolical tangent function, shown in (2), as activation function (BRASIL; AZEVEDO; LIMÃO, 2000).

$$\tanh x = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}} \quad (2)$$

The learning parameters (learning rate and momentum constant (HAYKIN, S., 2008)) were set using an external code to generate random number in a range between 0 and 1. Then the numbers were passed to the network and tried, the best fitted ones (the ones with the least error) were selected. This process was repeated

for several times and resulted in the following values for learning rate and momentum (respectively) 0.043142 and 0.0033804.

The error function for this problem is given by the cost function. The cost function is said by Ng (2016) to be a generalization of the one used for linear regression.

Simulation Details – In order to implement this simulation, the Octave software was used. Octave is a high-level interpreted language primed for numerical computations and it comes as free software (GNU OCTAVE, 2016).

A MacBook Pro (mid 2014) running OS X El Capitan (version 10.11.5), processor 2.8 GHz Intel Core i5, RAM 8 GB was used to run the code, using Octave 4.0.0.

The data gotten from the subject is depicted below on Figure 2. This figure was generated from the data obtained from the subject by the software developed by Lima (2015). Its parameters and separations were based on the work of Perry and Burnfield (2010).

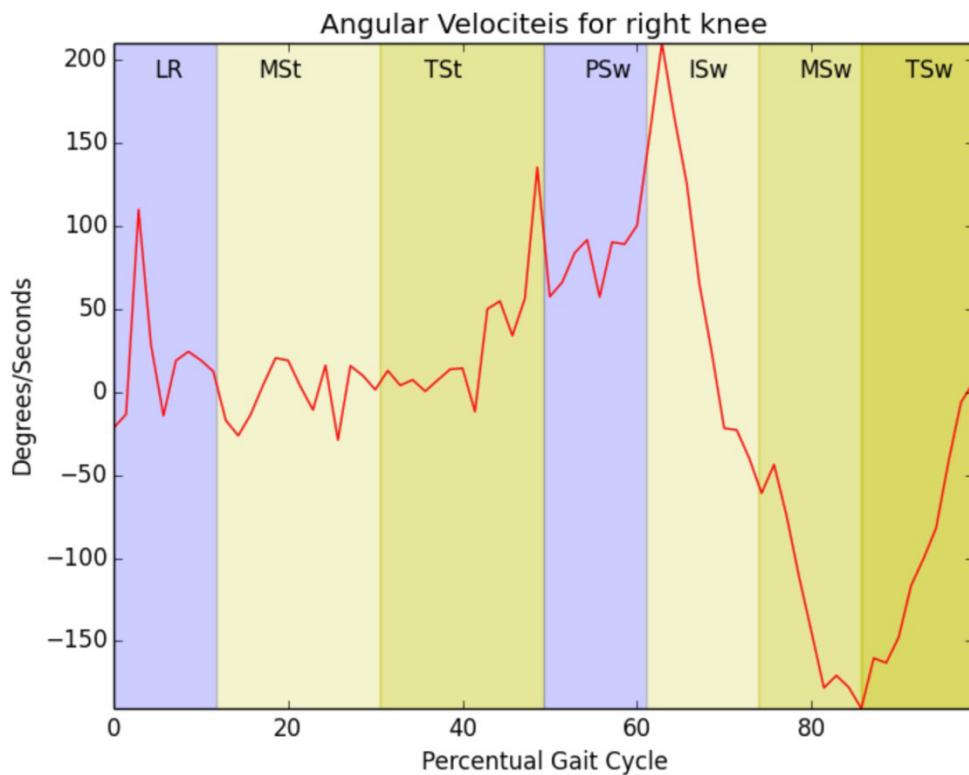


Figure 2: Angular velocities for the right knee of the subject.

Not all data gotten were used to train the network. After filtering the data that would be used as input (nine signals that were mentioned before), a process samples randomly about sixty percent of the original data and passes it to the network for training. After the training, the remaining forty percent is passed to the network to plot the results and it is plotted alongside with that. Therefore, each time the network is trained it uses different data. Results shown here were made using this procedure.

The initial weights were set randomly in a range from -0.2 to 0.2.

The code was set to run for 200 iterations before its results were plotted. Two

plots were generated; one that shows the error decreasing across the iterations and another for results, showing the predicted data (output of the neural network) and the randomly sampled data.

3 | RESULTS

The code developed was used to predict the angular velocities of a knee, based on its velocities and the data from the contralateral knee. The Figure 3 shows how the error decreases across the generations for the MLP. Figure 4 shows the desired output compared to the obtained one. The results were obtained for one patient and came from a small amount of initial data, considering that the original data were separated into two parts, one for training and another to get the results shown, these results can be considered relevant.

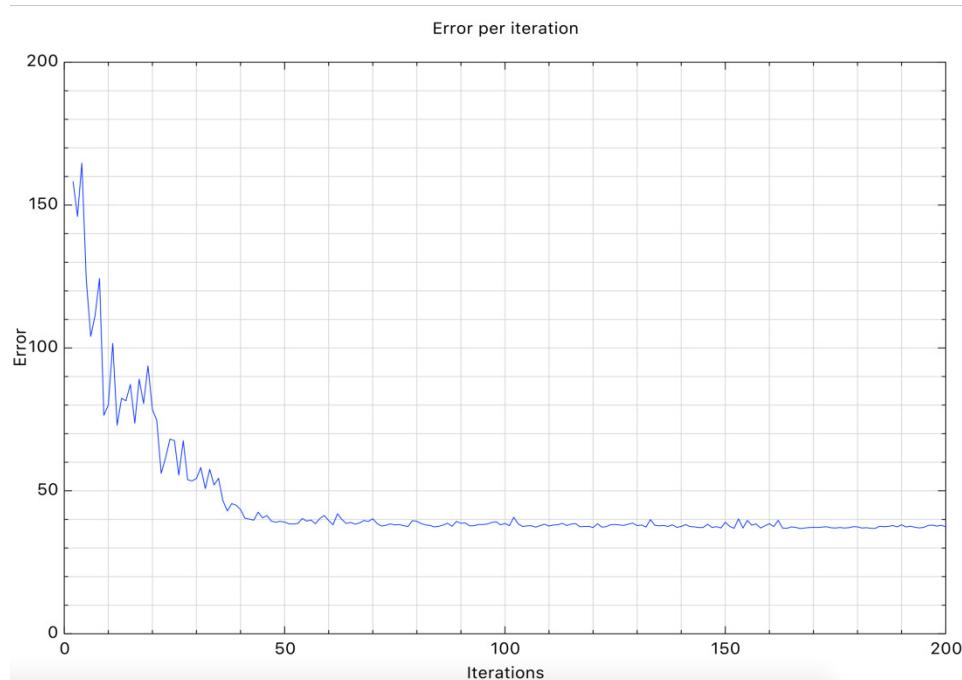


Figure 3: Error decreasing as the number of iterations increase.

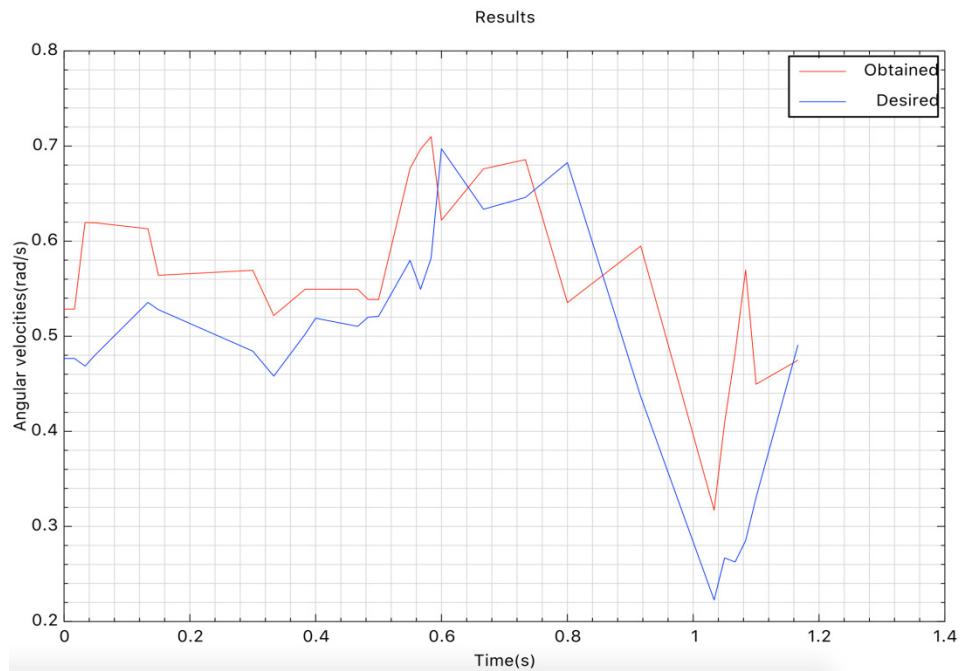


Figure 4: Results from the network.

4 | DISCUSSION

Figure 2, which shows the plot for angular velocities from the right knee of the subject using all the data can be compared to the plot on Figure 4. They show to be, somehow, different, it happens due to the fact that the training set of the network was a sample of the data gotten from the patient, as afore mentioned.

The results could be improved using bigger amounts of data (for instance, a greater sampling rate, a greater number of subjects, etc.) and it should be done for future works. Convergence of the ANN can be seen as it uses different data for training and obtaining results.

This work opens up possibilities for real world applications such as powered prosthesis and software for gait analysis. The technique could be used in order to get similar results as the ones gotten by MIT on its world's first powered ankle-foot prosthesis (MIT MEDIA LABORATORY, 2016).

There is a current project on developing a powered transfemoral prosthesis which the authors take part and it has MLP ANN as one of possible techniques to be used.

In practical perspective of building prosthesis, the usage of the data afore mentioned implies in putting sensors on the knees, which might have a high level of annoyance for the patient. Data from others inputs, such as from electromyography or from pressure sensors for instance, could have been used in order to achieve the obtained results, but they were not available at the time this paper was written.

5 | CONCLUSION

This paper showed the usage of MLP ANN in order to predict the angular velocities of a human knee. The results obtained from the ANN are alike the real ones, although, many differences can be seen.

The software developed while this paper was written is open source and given under the terms of the MIT License (MIT) (OPEN SOURCE INITIATIVE, 2016) to anyone who wishes to use it. The source code is available at https://github.com/robnn/mlp_knee.

This work has to continue in order to improve its results, getting closer to the real signal, using less input signals, using another input signals or even developing a real world application such as software for gait analysis or even powered prosthesis with this model of ANN.

6 | ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank LIS from FGA-UnB, the Human Movement Laboratory of FCE-UnB for the resources given and also the Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF), the Coordenadação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and the Universidade de Brasília (UnB) for the financial support.

REFERENCES

- LIMA, R.A. et al. **Human Knee Simulation Using CMAM ANN**. In: Jaffray D. (eds) World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, June 7-12, 2015, Toronto, Canada. *IFMBE Proceedings...*, vol 51. Springer, 2015.p.1159-1162.
- BEGG, R.; LAI, T.H.D.; PALANISWAMI, M. **Computational Intelligence in Biomedical Engineering**. New York: CRC Press, 2008.
- HAYKIN, S. **Neural Networks and Learning Machines**. 3rd ed. New York: Pearson Prentice Hall, 2008.
- NG, A. **Machine learning by Stanford University**. Available on: <<https://www.coursera.org/learn/machine-learning/home/week/5>>. Access on April 2016.
- QUALISYS. **Qualisys Track Manager: User friendly mocap software**. Available on: <<http://www.qualisys.com/software/qualisys-track-manager/>>. Access on April 2016.
- GNU OCTAVE. **About GNU Octave**. Available on: <<https://www.gnu.org/software/octave/about.html>>. Access on April 2016.
- LARSON, R.; EDWARDS, B.H. **Multivariable Calculus**. 9th ed. Belmont: Brooks/cole, 2010.
- BRASIL, L.M.; AZEVEDO, F.M. de ; LIMÃO, R.C.O. **Redes Neurais com Aplicações em Controle e em Sistemas Especialistas**. 1. ed. Florianópolis - SC: Bookstore Livraria Ltda., 2000.

LIMA, R.A. ***Implementando Um Software Como Serviço Para Análise E Simulação De Marcha Humana.*** 2015. 101p. MSc dissertation - University of Brasilia (UnB), Gama, 2015.

PERRY J.; BURNFIELD J.M. **Gait Analysis: Normal and Pathological Function.** 2nd ed. Thorofare: SLACK Incorporated, 2010.

OPEN SOURCE INITIATIVE. **The MIT License (MIT).** Available on: <<https://opensource.org/licenses/MIT>>. Access on April 2016.

MIT MEDIA LABORATORY. **World's First Powered Ankle-Foot Prosthesis Developed by the MIT Media Lab.** Available on: <<http://www.media.mit.edu/press/ankle/anklefoot-bg.pdf>>. Access on July 2016.

INFLUÊNCIA DO FILTRO DE WIENER NO REALCE DE CONTRASTE DE IMAGENS MAMOGRÁFICAS USANDO FUNÇÃO SIGMOID

Michele Fúlia Angelo

Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Exatas
Feira de Santana – Bahia

Thalita Villaron Lima

Universidade Federal de Uberlândia (UFU),
Faculdade de Engenharia Elétrica
Uberlândia – Minas Gerais

Talita Conte Granado

Universidade Federal de Uberlândia (UFU),
Faculdade de Engenharia Elétrica
Uberlândia – Minas Gerais

Ana Claudia Patrocínio

Universidade Federal de Uberlândia (UFU),
Faculdade de Engenharia Elétrica
Uberlândia – Minas Gerais

de *phantom* e utilizada como resultado, além da avaliação visual. Os resultados mostraram que o filtro de *Wiener* aumenta a razão contraste ruído, resultando em melhor visualização de detalhes nas imagens. Através da análise das imagens mamográficas, por inspeção visual, foi possível observar um aumento de contraste significante e a filtragem contribuiu para a remoção de ruídos, melhorando a visualização dos detalhes.

PALAVRAS-CHAVE: Filtro de *Wiener*, Função Sigmóide, Realce de Contraste, Mamografia, CNR

ABSTRACT: The interpretation of mammographic images may be affected by factors such as the density of the breast tissue and the limitations of mammography equipment, so this paper proposes the Wiener filter combination with the sigmoid function in order to improve the quality of images. Furthermore, it is proposed to automation of the sigmoid function parameters by histogram image attributes. To development of this work were used 410 mammographic images and 12 phantom images. In order to evaluate the resulting images, the contrast ratio noise was measured in the phantom images, in addition to visual evaluation. The results showed that the Wiener filter noise increases the contrast ratio, resulting in better images in the detail view.

RESUMO: A interpretação das imagens mamográficas pode ser afetada por fatores como a densidade do tecido mamário e as limitações do equipamento mamográfico, assim, este trabalho propõe a combinação do filtro de *Wiener* com a função sigmoide a fim de melhorar a qualidade das imagens. Além disso, é proposta uma automatização dos parâmetros da função sigmoide através de atributos da imagem. Para este trabalho foram utilizadas 12 imagens de *phantom* e 410 imagens mamográficas. Com o objetivo de avaliar as imagens resultantes, a razão contraste ruído foi medida nas imagens

Through analysis of mammographic images by visual inspection, it was possible to observe a significant contrast enhancement and filtering contributed to the removal of noise, improving the visualization of details.

KEYWORDS: Wiener Filter, Sigmoid Function, Contrast Enhancement, Mammography, CNR.

1 | INTRODUÇÃO

A mamografia é o principal método para detecção precoce do câncer de mama, no entanto, a interpretação das imagens pode ser afetada por alguns fatores, como a densidade do tecido mamário e as limitações do equipamento mamográfico (JACKSON *et al*, 1993; MULLER, 1997).

A densidade do tecido está relacionada à qualidade da imagem radiológica. Tecidos mais densos (ossos e fibras) absorvem maior quantidade de raios X e aparecem mais claros nas imagens, enquanto tecidos moles (gordura) absorvem uma menor quantidade de radiação, mostrando-se mais escuros (BOYD *et al*, 1995). Nas imagens mamográficas, estruturas que podem estar associadas ao câncer de mama aparecem mais claras e a diferença de contraste com os demais tecidos é de extrema importância para a sua detecção. Porém, quando a mama é densa (composta por uma grande quantidade de tecidos fibroglandulares), o contraste entre as estruturas é baixo, dificultando a detecção precoce (RIZZI; D'ALOIA; CASTAGNOLO, 2009).

A diferença de contraste também pode ser prejudicada por fatores relacionados ao processo de aquisição da imagem, o que inclui a energia do feixe, quantidade de radiação aplicada, compressão, sistema de registro (sistema digital) e condições de processamento (CARLTON; ADLER, 2012; HAUS; YAFFE, 2000). Esses aspectos podem prejudicar a análise das imagens e contribuir para o aumento de resultados falso-positivos e falso-negativos (MAJID *et al*, 2003).

Diante desse contexto, percebe-se a importância da utilização de técnicas de pré-processamento de imagem para melhorar o aspecto de estruturas por meio do realce de contraste e redução de ruído, contribuindo para que as informações sejam extraídas e interpretadas corretamente (UCHIYAMA, 2012).

Assim, o objetivo deste trabalho é combinar filtragem digital com técnica de realce de contraste, a fim de diminuir o ruído e melhorar o contraste das imagens mamográficas digitais.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho seis etapas foram realizadas, conforme apresentado a seguir.

2.1 Escolha das Imagens Utilizadas

Foram utilizadas 410 imagens mamográficas do Banco de Imagens INBreast (MOREIRA *et al*, 2012) e 12 imagens de *phantom*. Todas as imagens possuem uma resolução de contraste de 12bits e estão no formato DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*).

As imagens de *phantom* foram adquiridas em um mamógrafo digital da marca General Electric (GE), com resolução espacial de 1914x2294, variando-se o tempo de exposição e tensão de 26 a 32 kVp (Tabela 1). Estas imagens foram adquiridas utilizando o *Phantom CIRS 11A*, composto internamente por várias estruturas glandulares, de formato realístico, que simulam espessura comprimida de 45 e 60 mm.

Imagen	Tensão(kVp)	Corrente (mAs)	Temp. Exp (mm)	Espessura (mm)
CIRS 42	31	72	1249	60
CIRS 43	31	72	1213	60
CIRS 44	31	72	1114	60
CIRS 45	28	95	844	45
CIRS 46	31	96	545	45
CIRS 47	26	90	1625	45
CIRS 50	31	72	1277	60
CIRS 51	28	94	841	45
CIRS 52	31	96	548	45
CIRS 53	26	89	1641	45
CIRS XX	32	70	1115	60
CIRS XY	32	70	1093	60

Tabela 1: Modos de aquisição das imagens de *phantom*.

2.2 Implementação da Filtragem de Wiener

Para a implementação da filtragem de *Wiener* optou-se pela função *Wiener2* do *toolbox* do MATLAB. A função *Wiener2* realiza um filtro passa baixa na imagem para filtrar a intensidade que foi degradada por um ruído de potência aditiva constante e usa um método adaptativo, pixel a pixel, baseado em estatísticas estimadas através de vizinhanças locais de cada pixel para filtrar os ruídos. A filtragem foi implementada para quatro tamanhos de janelamentos diferentes (3x3, 5x5, 7x7 e 9x9).

2.3 Implementação da Função Sigmoidal

Depois de aplicada a filtragem de *Wiener*, todas as imagens, tanto as originais quanto as filtradas, foram submetidas a função sigmoidal (equação 1).

$$s = \frac{1}{1 + e^{(ganho \cdot (cutoff - r))}} \quad (1)$$

onde r e s representam os pixels de entrada e saída, respectivamente, o parâmetro *ganho* determina o contraste real da imagem e o *cutoff* (normalizado)

representa o nível de intensidade sobre o qual o contraste é reduzido ou aumentado. Neste trabalho, num primeiro momento, os parâmetros *ganho* e *cutoff* assumiram os valores 7 e 0,68, respectivamente. Tais valores foram definidos como ótimos através de testes empíricos, em seguida foi implementada a automatização destes parâmetros, que variam de acordo com a imagem a ser processada.

2.4 Automatização dos Parâmetros da Função Sigmoidal

Para automatizar os parâmetros da função sigmoidal foram extraídos 5 atributos dos histogramas das imagens: moda, média, gradiente, máximo e mínimo.

O cálculo da moda, que é representado pelo pico do histograma, tanto nas imagens mamográficas como nas imagens de *phantom*, a moda representa o fundo da imagem, e assim, é preciso rejeitar os valores abaixo de um dado limiar de maneira a obter uma moda que represente apenas a glândula mamária. Neste trabalho foi utilizado um valor de limiar igual a 100, uma vez que nas imagens em *rawdata*, a região de fundo variava de 0 a 80 em níveis de cinza.

Também foram calculados a média, o gradiente (máximo – mínimo), o máximo e o mínimo do histograma imagem.

Para a automatização do parâmetro *ganho* da função sigmoidal foram testadas diversas combinações, como: razão da média do histograma pela moda do histograma e razão do gradiente pela média. Em seguida, através da visualização das imagens processadas com os parâmetros fixos e com os parâmetros automatizados neste trabalho, foi possível escolher a melhor combinação que foi o valor máximo da escala dividido pela média, ou seja, 4095/média.

Para a automatização do parâmetro *cutoff* da função sigmoidal, vários testes foram realizados, como: razão da moda do histograma por 10000 e razão da média do histograma por 1000, novamente após várias combinações e testes foi possível perceber, através da visualização das imagens, que a melhor combinação era a porcentagem da moda dentro da escala de cinza, obtendo-se assim moda/4095.

A distribuição dos valores de intensidade, observada através de histogramas, varia consideravelmente entre diferentes imagens mamográficas e, principalmente, entre imagens mamográficas em comparação com as imagens de *phantom*.

2.5 Cálculo da CNR

Para corroborar com os resultados visuais, foi utilizado o cálculo de CNR (*Contrast-to-noise-ratio*), equação 2, de acordo com o protocolo EUREF (PERRY et al, 2008). Para tal cálculo foram utilizadas apenas as imagens de *phantom* por possuírem regiões limitadas e específicas, como uma região de interesse (RI) pré-definida como *offset* para o fundo e RIs para a escala de contraste, onde cada uma representa uma porcentagem de tecido fibroglandular e de tecido adiposo.

$$CNR = \frac{Média do sinal - Média do Fundo}{\sqrt{\frac{(Desvio padrão do sinal)^2 + (Desvio padrão do fundo)^2}{2}}}$$

A partir de tal definição, foi necessário amostrar regiões de sinal e de fundo (*offset*). Como sinal, foi utilizada a região mais clara da escala de contraste presente no *phantom*. Para o fundo, utilizou-se a região de referência de *offset* do *phantom*. Utilizando o *software* ImageJ, RIs foram recortadas e calculadas a média e o desvio padrão de cada RI.

2.6 Avaliação dos Resultados

Imagens de Phantom

Para as 12 imagens de *phantom* foi realizada uma avaliação através do cálculo do CNR e também uma avaliação através da inspeção visual.

Utilizando os valores de média e desvio padrão calculados para as regiões de interesse, o CNR foi calculado e em seguida foi realizado o cálculo do CNR relativo, ou seja, o valor absoluto de CNR encontrado foi colocado em relação a um valor de referência, conforme o protocolo EUREF. Para isso, foi utilizado como referência o valor de CNR de uma mama comprimida com espessura de 50 mm equivalente a 10,06 (PERRY et al, 2008). Como referência para a análise dos resultados utilizou-se a faixa de espessura de 40 mm a 60 mm, ou seja, valores de CNR relativos recomendados de 95 a 105, com uma margem de mais 20%, sendo considerado assim CNR relativo como satisfatório entre 95 e 126.

Os resultados do CNR e do CNR relativo foram avaliados através da comparação dos valores obtidos para a imagem original, as imagens após a filtragem de Wiener com janelamentos 3x3, 5x5, 7x7 e 9x9, e imagens filtradas com realce de contraste por função sigmoide (com valores fixos e valores automatizados).

Imagens Mamográficas

Para as 410 imagens mamográficas do INbreast foi realizada uma avaliação através da inspeção visual dos resultados gerados. Um especialista auxiliou neste processo de inspeção visual, analisando 10 imagens de cada padrão de densidade. Assim como nas imagens de *phantom*, foi feita a comparação entre a imagem original, a imagem após as filtragens de *Wiener* e processamentos com função sigmoide.

3 | RESULTADOS

Para as imagens de *phantom* de 60 mm adquiridas com 31 kVp e 72 mAs, (CIRS 42, CIRS 43, CIRS 44 e CIRS 50) e as adquiridas com 32 kVp e 70 mAs (CIRSXX e CIRSSXY), a medida que variou-se o tempo de exposição, foram obtidos CNR diferentes também. As Tabelas 2 e 3 mostram estes resultados.

Para as imagens de *phantom* de 45 mm de espessura (CIRS45, CIRS46, CIRS47,

CIRS51, CIRS52 e CIRS53) o CNR variou de acordo com o modo de aquisição e tempo de exposição, uma vez que para esta espessura foram adquiridas imagens variando-se a tensão de 26, 28 e 31 kVp. Além disso, as imagens utilizadas para este processamento foram as imagens pós processadas pelo equipamento e não as rawdata. As Tabelas 4, 5 e 6 apresentam estes resultados.

Considerando que a densidade mamária é dividida em quatro categorias segundo o Bi-RADS (D'ORSI et al., 2013): A, B, C e D, sendo que A representa tecido predominantemente adiposo e D um tecido predominantemente fibroglandular, na Figura 1 é apresentado um exemplo dos resultados obtidos para uma mamografia da categoria D.

Imagen	Cutoff	Ganho	Média sinal	Média Fundo	stddev sinal	stddev fundo	CNR	cnr- relativo
CIRS44			2632,405	2553,316	12,110	10,920	6,859	68,183
CIRS44-sigmoide	0,680	7,000	2581,862	2499,701	12,528	11,450	6,846	68,053
CIRS44-sig-auto	0,622	3,701	2648,052	2493,630	23,067	21,831	6,876	68,352
CIRS44-w3			2632,106	2553,748	6,861	5,500	12,602	125,269
CIRS44-w3-sigmoide	0,680	7,000	2591,869	2510,184	7,182	5,907	12,423	123,486
CIRS44-w3-sig-auto	0,622	3,701	2668,007	2515,494	13,080	10,994	12,623	125,478
CIRS44-w5			2631,930	2554,236	5,794	4,789	14,617	145,299
CIRS44-w5-sigmoide	0,680	7,000	2592,918	2512,252	5,846	4,945	14,899	148,099
CIRS44-w5-sig-auto	0,623	3,701	2673,504	2522,466	11,022	9,549	14,647	145,597
CIRS44-w7			2631,741	2555,094	5,585	6,086	13,123	130,443
CIRS44-w7-sigmoide	0,680	7,000	2587,423	2507,307	5,946	6,460	12,905	128,276
CIRS44-w7-sig-auto	0,623	3,701	2662,924	2514,109	10,640	11,937	13,161	130,827
CIRS44-w9			2631,511	2556,361	5,698	8,470	10,411	103,489
CIRS44-w9-sigmoide	0,680	7,000	2582,435	2504,388	5,904	8,786	10,427	103,649
CIRS44-w9-sig-auto	0,623	3,701	2653,690	2507,622	10,844	16,659	10,392	103,302

Tabela 2: Resultados obtidos para a Imagem CIRS44.

Imagen	Cutoff	Ganho	Média sinal	Média Fundo	stddev sinal	stddev fundo	CNR	cnr- relativo
CIRS50			2517,064	2438,473	11,287	10,607	7,176	71,330
CIRS50-sigmoide	0,680	7,000	2710,525	2624,036	12,232	11,827	7,189	71,458
CIRS50-sig-auto	0,594	3,883	2653,123	2493,159	22,559	22,045	7,172	71,294
CIRS50-w3			2516,737	2438,516	6,484	5,808	12,708	126,321
CIRS50-w3-sigmoide	0,680	7,000	2718,501	2632,395	7,037	6,500	12,712	126,358
CIRS50-w3-sig-auto	0,594	3,883	2668,375	2508,779	12,823	12,069	12,817	127,408
CIRS50-w5			2516,529	2438,951	5,623	5,529	13,912	138,294
CIRS50-w5-sigmoide	0,680	7,000	2719,956	2634,611	6,150	6,177	13,847	137,642
CIRS50-w5-sig-auto	0,594	3,883	2671,050	2512,887	11,239	11,399	13,973	138,895
CIRS50-w7			2516,300	2439,800	5,528	6,895	12,242	121,690
CIRS50-w7-sigmoide	0,680	7,000	2713,822	2629,563	6,066	7,702	12,154	120,818
CIRS50-w7-sig-auto	0,595	3,883	2662,600	2506,759	11,056	14,233	12,229	121,557
CIRS50-w9			2516,021	2441,008	5,719	9,033	9,923	98,634
CIRS50-w9-sigmoide	0,680	7,000	2712,701	2630,076	6,246	10,064	9,865	98,063
CIRS50-w9-sig-auto	0,595	3,883	2660,519	2507,747	11,262	18,709	9,894	98,348

Tabela 3: Resultados obtidos para a Imagem CIRS50.

Imagen	Cutoff	Ganho	Média sinal	Média Fundo	stddev sinal	stddev fundo	CNR	cnr- relativo
CIRS45			2548,298	2431,315	11,052	10,233	10,984	109,184
CIRS45-sigmoide	0,680	7,000	2658,189	2531,896	11,703	11,262	10,997	109,311
CIRS45-sig-auto	0,585	3,898	2491,549	2253,448	22,008	21,158	11,030	109,640
CIRS45-w3			2547,815	2432,007	6,210	5,362	19,962	198,426
CIRS45-w3-sigmoide	0,680	7,000	2669,407	2544,153	6,630	5,893	19,969	198,502
CIRS45-w3-sig-auto	0,586	3,898	2515,631	2279,926	12,420	11,077	20,030	199,104
CIRS45-w5			2547,565	2432,401	5,343	4,279	23,793	236,507
CIRS45-w5-sigmoide	0,680	7,000	2664,305	2539,673	5,704	4,722	23,803	236,606
CIRS45-w5-sig-auto	0,586	3,898	2508,082	2273,389	10,608	8,959	23,904	237,614
CIRS45-w7			2547,316	2432,880	5,285	4,367	23,606	234,651
CIRS45-w7-sigmoide	0,680	7,000	2661,416	2537,755	5,575	4,792	23,789	236,470
CIRS45-w7-sig-auto	0,586	3,898	2504,630	2271,506	10,568	9,121	23,617	234,761
CIRS45-w9			2547,041	2433,689	5,524	5,556	20,461	203,385
CIRS45-w9-sigmoide	0,680	7,000	2661,049	2538,565	5,786	6,145	20,523	204,004
CIRS45-w9-sig-auto	0,586	3,898	2505,081	2274,479	11,048	11,407	20,536	204,139

Tabela 4: Resultados obtidos para a Imagem CIRS45.

Imagen	Cutoff	Ganho	Média sinal	Média Fundo	stddev sinal	stddev fundo	CNR	cnr- relativo
CIRS46			2509,934	2399,821	10,916	10,208	10,420	103,574
CIRS46-sigmoide	0,680	7,000	2654,840	2535,751	11,606	11,216	10,435	103,726
CIRS46-sig-auto	0,578	3,886	2439,699	2212,957	22,087	21,315	10,447	103,845
CIRS46-w3			2509,503	2400,340	5,653	5,501	19,572	194,552
CIRS46-w3-sigmoide	0,680	7,000	2686,478	2569,007	5,917	6,025	19,673	195,555
CIRS46-w3-sig-auto	0,572	3,886	2459,818	2234,622	11,580	11,502	19,513	193,962
CIRS46-w5			2509,277	2400,732	4,437	4,565	24,113	239,695
CIRS46-w5-sigmoide	0,680	7,000	2681,257	2564,376	4,553	5,042	24,331	241,862
CIRS46-w5-sig-auto	0,573	3,886	2454,552	2231,098	8,880	9,580	24,192	240,479
CIRS46-w7			2509,053	2401,333	4,162	4,998	23,422	232,826
CIRS46-w7-sigmoide	0,680	7,000	2673,654	2557,499	4,565	5,419	23,184	230,453
CIRS46-w7-sig-auto	0,574	3,886	2447,044	2224,912	8,475	10,432	23,372	232,331
CIRS46-w9			2508,807	2402,323	4,279	6,507	19,337	192,213
CIRS46-w9-sigmoide	0,680	7,000	2672,509	2557,552	4,666	7,090	19,154	190,400
CIRS46-w9-sig-auto	0,574	3,886	2447,612	2228,539	8,573	13,576	19,296	191,805

Tabela 5: Resultados obtidos para a Imagem CIRS46.

Imagen	Cutoff	Ganho	Média sinal	Média Fundo	stddev sinal	stddev fundo	CNR	cnr- relativo
CIRS47			2572,346	2444,213	11,395	10,039	11,932	118,610
CIRS47-sigmoide	0,680	7,000	2695,742	2555,829	12,194	11,212	11,945	118,736
CIRS47-sig-auto	0,594	3,918	2616,130	2357,315	22,273	20,821	12,005	119,332
CIRS47-w3			2572,133	2444,735	6,901	5,192	20,862	207,380
CIRS47-w3-sigmoide	0,680	7,000	2708,806	2569,699	7,364	5,780	21,015	208,892
CIRS47-w3-sig-auto	0,593	3,918	2635,194	2377,903	13,579	10,815	20,960	208,355
CIRS47-w5			2571,909	2445,057	6,251	4,148	23,913	237,703
CIRS47-w5-sigmoide	0,680	7,000	2708,617	2570,169	6,696	4,590	24,118	239,743
CIRS47-w5-sig-auto	0,593	3,918	2633,144	2377,116	12,148	8,484	24,436	242,905
CIRS47-w7			2571,590	2445,555	6,425	4,440	22,822	226,863
CIRS47-w7-sigmoide	0,680	7,000	2708,300	2570,703	6,907	4,903	22,973	228,364
CIRS47-w7-sig-auto	0,593	3,918	2632,486	2378,156	12,507	9,098	23,256	231,172
CIRS47-w9			2571,207	2446,345	6,904	5,607	19,854	197,355
CIRS47-w9-sigmoide	0,680	7,000	2707,947	2571,653	7,399	6,225	19,934	198,152
CIRS47-w9-sig-auto	0,593	3,918	2630,464	2378,209	13,634	11,724	19,839	197,210

Tabela 6: Resultados obtidos para a Imagem CIRS47.

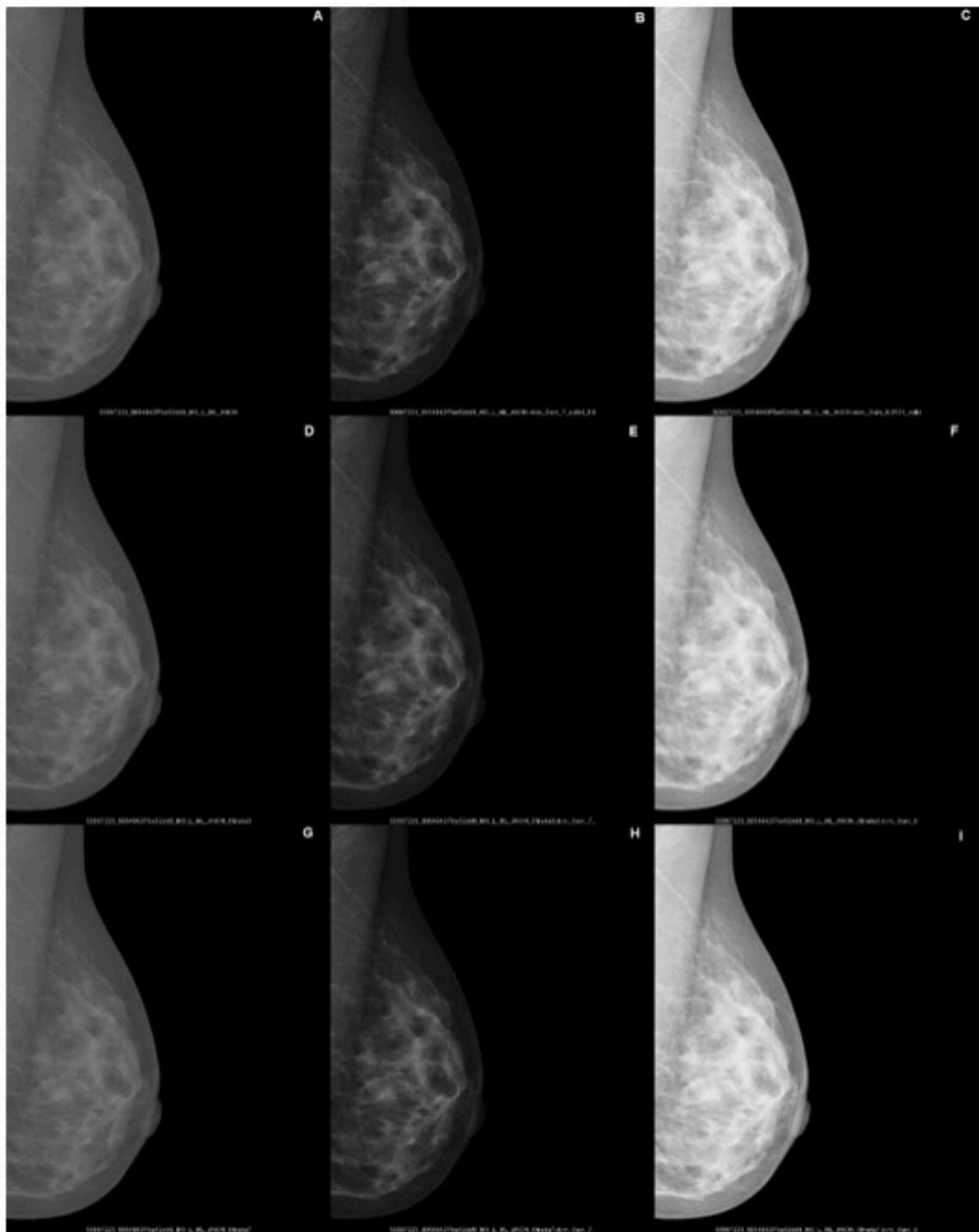


Figura 1: Imagem de densidade BI-RADS D: A) Imagem original; B) Processada com sigmoide de parâmetros fixos; C) Processada com sigmoide automatizada; D) Processada com *Wiener* 3x3; E) Processada com *Wiener* 3x3 e sigmoide fixa; F) Processada com *Wiener* 3x3 e sigmoide automatizada; G) Processada com *Wiener* 7x7; H) Processada com *Wiener* 7x7 e sigmoide fixa; I) Processada com *Wiener* 7x7 e sigmoide automatizada.

4 | DISCUSSÃO

Nas imagens CIRS42, CIRSXX e CIRSY, apesar da maioria dos valores de CNR calculados não estarem dentro da faixa satisfatória, recomendada pelo EUREF, o filtro de *Wiener* atua positivamente sobre a relação contraste ruído, aumentando a CNR significativamente. Este efeito se deve a atenuação do ruído, uma vez que o

filtro mantém o sinal enquanto o ruído é diminuído, tornando maior, assim, a relação de um para outro. Porém, após o janelamento 5x5 esta relação volta a cair, sendo isto justificado para os janelamentos 7x7 e 9x9, pois o sinal da imagem, juntamente com o ruído, é atenuado na forma de borramento.

Já nas imagens CIRS43, CIRS44 e CIRS50, os valores foram satisfatórios para a filtragem de janelamento 3x3 e 9x9, quando analisados os valores de CNR, porém, para o filtro 9x9, o CNR mais baixo se deve a suavização excessiva dos ruídos e dos sinais na imagem, conferidas pela inspeção visual.

As imagens CIRS45, CIRS46, CIRS47, CIRS51, CIRS52 e CIRS53 já apresentavam valores de CNR satisfatórios antes da filtragem, pois se trata de imagens já processadas pelo próprio equipamento e não de imagens em *rawdata*. Sendo assim, quando processadas, a CNR aumenta ainda mais, ficando acima do recomendado pelo EUREF.

As imagens mamográficas processadas pela função sigmoide apresenta um bom resultado visual para o contraste da imagem, tanto para a sigmoide de parâmetros fixos como para a automatizada, o contraste foi significantemente alterado conforme visto na Figura 1, porém, com parâmetros automatizados também foi aumentado o brilho, mostrando assim que a automatização dos parâmetros pode ser considerada uma boa técnica.

5 | CONCLUSÃO

Nas imagens de *phantom* de 60 mm, em todas as imagens, a combinação filtragem de *Wiener* com janela 3X3 e transformação de intensidade por função sigmoide de parâmetros automatizados resultaram nas melhores relações CNR.

Para as imagens mamográficas de densidades variadas, foi possível observar o aumento de contraste satisfatório na análise visual tanto para as imagens processadas com a função sigmoide de parâmetros fixos como para a de parâmetros automatizados, ainda que, a de parâmetros automatizados tenha aumentado o brilho da imagem consideravelmente. E assim, como para as outras imagens de *phantom*, a filtragem contribuiu para a remoção de ruídos, melhorando a visualização de detalhes. O que possui uma importância especial na categoria D, uma vez que, o excesso de tecido fibroglandular está associado a dificuldade de detecção de possíveis lesões nas mamas.

Assim, pode-se concluir que a combinação do filtro de *Wiener* com a função sigmoide pode ser utilizada para melhorar a razão contraste ruído em imagens mamográficas, uma vez que esta combinação aumenta o contraste da imagem e remove os ruídos, melhorando a visualização dos detalhes.

REFERÊNCIAS

- BOYD, N.F.; BYNG, J.W.; JONG, R.A.; FISHELL, E.K., LITTLE, L.E.; MILLER, A.B.; LOCKWOOD, G.A., TRITCHLER, D.L., YAFFE, M.J. **Quantitative classification of mammographic densities and breast cancer risk: results from the Canadian National Breast Screening Study.** Journal of the National Cancer Institute. 1995; 87(9):670-5.
- CARLTON, R.R.; ADLER, A.M. **Principles of Radiographic Imaging: An Art and a Science.** 5th ed. Clifton Park, NY: Delmar Cengage Learning; 2012.
- D'ORSI, C. *et al.* **ACR BI-RADS Atlas, Breast Imaging Reporting and Data System.** Reston, VA: American College of Radiology, 2013.
- HAUS, A.G.; YAFFE, M.J. **Screen-film and Digital Mammography: Image Quality and Radiation Dose Considerations.** Radiologic Clinics of North America. 2000; 38(4): 871-98.
- JACKSON, V.P.; HENDRICK, E.; FEIG, S.A., KOPANS, D.B. **Imaging of the radiographically dense breast.** Radiology. 1993; 188(2):297-301.
- MAJID, A.S.; DE PAREDES, E.S., DOHERTY, R.D.; SHARMA N.R.; SALVADOR, X. **Missed breast carcinoma: pitfalls and pearls.** Radiographics. 2003; 23(4):881-95.
- MOREIRA, I.C.; AMARAL, I.; DOMINGUES, I.; CARDOSO, A.; CARDOSO, M.J.; CARDOSO, J.S. **INbreast: toward a full-field digital mammographic database.** Academic radiology. 2012, 19(2): 236-48.
- MULLER, S. **Full-field digital mammography designed as a complete system.** European Journal of Radiology. 1997; 31(1):25-34.
- PERRY, N.; BROEDERS, M.; DE WOLF, C.; TÖRNBERG, S.; HOLLAND, R.; VON KARSA, L. **European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis.** Annals of Oncology, v. 19, n. 4, p. 614-622, 2008.
- RIZZI, M.; D'ALOIA, M.; CASTAGNOLO, B. **A Fully Automatic System for Detection of Breast Microcalcification Clusters.** Journal of Medical and Biological Engineering. 2009; 30(3): 181-188.
- UCHIYAMA, N. **Breast CAD (Computer Aided Detection) in FFDM.** In: Uchiyama N, Nascimento MZ, editors. Mammography - Recent Advances. Rijeka, Croatia: InTech; 2012. p. 281-292.

MODELAGEM E IMPLEMENTAÇÃO DE BANCO DE DADOS PARA O GERENCIAMENTO DE PROPOSTAS EM INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM SAÚDE

Lígia Reis Nóbrega

Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – Minas Gerais

Adriano de Oliveira Andrade

Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – Minas Gerais

Selma Terezinha Milagre

Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – Minas Gerais

concretas do Hospital de Clínicas de Uberlândia da Universidade Federal de Uberlândia (HCU-UFG) com a Engenharia Biomédica. O método proposto é baseado na coleta de dados por meio de um questionário. Esses dados estão armazenados em um banco de dados e disponíveis para os docentes e discentes em um software web, chamado BIODATA, que possui uma interface de fácil entendimento e manuseio. Essa parceria é vantajosa tanto para o hospital, quanto para os estudantes, uma vez que os projetos elaborados terão aplicações práticas depois de concluídos, incentivando assim o estudante a se dedicar mais ainda em sua preparação.

PALAVRAS-CHAVE: Banco de dados, Inovação Tecnológica em Saúde, Engenharia Biomédica, Biodata.

ABSTRACT: Working with projects demands the students develop different skills, as it brings a new perspective in the process of teaching and learning. During the degree in Biomedical Engineering, the student must assimilate several types of technical and practical knowledge. For this reason, for some subjects of Biomedical Engineering it is necessary to develop health-oriented projects, such as medical equipment, medical and dental equipment, software, prosthetics, orthotics, and others. Most students do not participate in the hospital's routine,

RESUMO: Trabalhar com projetos possibilita ao estudante aprimorar diferentes competências, pois traz uma nova perspectiva no processo de ensino e aprendizagem. Durante a formação de um Engenheiro Biomédico, o estudante deve assimilar diversos tipos de conhecimento técnico e prático. Por essa razão, em várias disciplinas do curso de Engenharia Biomédica é necessário criar projetos voltados à saúde, como equipamentos médicos, biomédicos e odontológicos, programas, próteses, órteses, entre outros. Como a maioria dos estudantes não participa da rotina de um hospital, muitas vezes os trabalhos que são desenvolvidos não são úteis e práticos em situações reais. Diante dessa realidade, esse trabalho apresenta a modelagem e implementação de um banco de dados para gerenciar propostas em inovações tecnológicas que integram as demandas

so the projects that are developed for them has no further application. Given this reality, this work proposes a simple tool that promotes the interaction of real demands of the Clinical Hospital of the Federal University of Uberlândia (HCU-UFG) with the Biomedical Engineering course. The proposed method is based on a questionnaire for data collection. These data are stored in a database and it is available to teachers and students through a web software, called BIODATA, which has an interface easy to understand and handle. This partnership is beneficial both for the hospital and for the students, as the developed projects will have practical application after conclusion. This encourages the students to engage further in its development.

KEYWORDS: Database, Healthy Technology, Biomedical Engineering, Biodata.

1 | INTRODUÇÃO

Durante a graduação em Engenharia Biomédica, vários projetos devem ser desenvolvidos como requisito parcial em algumas disciplinas, para que, além do conhecimento teórico, haja também um conhecimento prático sobre determinado assunto. Trabalhar por meio de projetos possibilita ao estudante evoluir em diferentes competências. A universidade transforma-se num espaço vivo de interações, aberto ao mundo real e às suas múltiplas dimensões. Dessa forma, aprender deixa de ser memorizar e, ensinar não apenas transmitir conteúdos aleatórios.

Como a maioria dos estudantes não participa do cotidiano de um hospital, muitas vezes os projetos que são finalizados ficam sem aplicação posterior.

Por essa razão, foi elaborado um questionário para fazer um levantamento de ideias de novas tecnologias sugeridas pelos funcionários do HCU-UFG. Esse questionário foi desenvolvido juntamente com a Gerência de Risco do hospital direcionado à formulação exata do objetivo da pesquisa, que é coletar propostas que resolviam problemas reais da rotina dos funcionários do HCU-UFG e repassá-las para os estudantes de graduação da Engenharia Biomédica. Com ele foi possível perceber que os profissionais do HCU-UFG têm muitas sugestões de tecnologias que os auxiliaria no dia-a-dia.

As propostas coletadas foram armazenadas em uma aplicação criada, denominada BIODATA, um software web que é uma ferramenta livre de fica disponível aos usuários cadastrados por meio da internet. O cadastro de usuário é feito no próprio software web. O banco de dados utilizado para armazenar as sugestões coletadas no hospital foi o MySql, um sistema de gerenciamento de banco de dados usado para armazenar informações (KORHONEN, 2008) e a linguagem PHP (Hypertext Preprocessor) foi usada para codificar o sistema online, o código PHP é executado no servidor e permite o sistema interagir com bancos de dados e aplicações existentes no servidor.

O acesso às ideias propostas pelos profissionais do HCU-UFG por meio do BIODATA tem inúmeras vantagens: (i) a introdução de novas tecnologias ao hospital; (ii) o incentivo ao estudante a se dedicar no projeto que será usado após concluído; (iii)

a utilização de informações de estudos já realizados em novas pesquisas; (iv) usuários pertencentes a um grupo de trabalho podem compartilhar informações; (v) funcionários do HCU-UFU que propuserem algum trabalho podem auxiliar no progresso do mesmo, aperfeiçoando ainda mais o resultado final; (vi) disponibilidade dos dados em tempo real e sem necessidade de instaladores em computadores locais. O objetivo principal desta iniciativa é integrar o curso de Engenharia Biomédica da UFU com o [HCU-UFU](#).

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo, inicialmente foi elaborado um questionário. Ele contém uma breve explicação sobre o curso de Engenharia Biomédica, abrange perguntas como “Para você, existe algum projeto que se fosse desenvolvido melhoraria sua atuação profissional?” e solicita que o respondente descreva a ideia, caso exista. Além disso, o questionário tem espaço para que a pessoa disponibilize voluntariamente seu contato e escolha participar de uma aula presencial ou participar ativamente do desenvolvimento do trabalho proposto.

A aplicação do questionário foi presencial. Isso é vantajoso pois o pesquisador pode explicar conceitos desconhecidos, motivar o respondente a cooperar e diminuir a probabilidade de erro em seu preenchimento (COSTA, 2011). É válido ressaltar que as perguntas foram elaboradas considerando o nível de entendimento dos respondentes.

Ao todo, seis setores do hospital foram abordados. São esses: Unidade de Terapia Intensiva de Queimados, Setor de Hemodiálise, Clínica Cirúrgica II, Agência Transfusional, Clínica Médica e Enfermaria de Pediatria.

Posteriormente, realizou-se a modelagem do banco de dados para armazenar os dados coletados. Essa modelagem foi feita usando o DIA, um software gratuito e livre usado para criação e edição de gráficos vetoriais, que permite aos usuários criar fluxogramas e diagramas (FREITAS, 2009). A Figura 1 mostra a modelagem do banco de dados.

Na modelagem foram definidos os tipos de permissões para os usuários do BIODATA: administrador geral (que tem acesso a todas as informações e pode realizar qualquer alteração dentro do esperado pelo sistema), administrador secundário (aquele que pode alimentar o banco de dados, mas não tem acesso ao sistema como um todo, como o administrador geral) e usuário comum (aquele que pode apenas visualizar as tabelas). Cada usuário possui um login e senha; para realizar o cadastro é necessário informar o nome, e-mail e a função que exerce na Universidade (aluno, professor ou pesquisador). A tabela de demandas possui a descrição da ideia, palavras-chave, setor solicitante, a pessoa solicitante e o status. Cada demanda tem um código único.

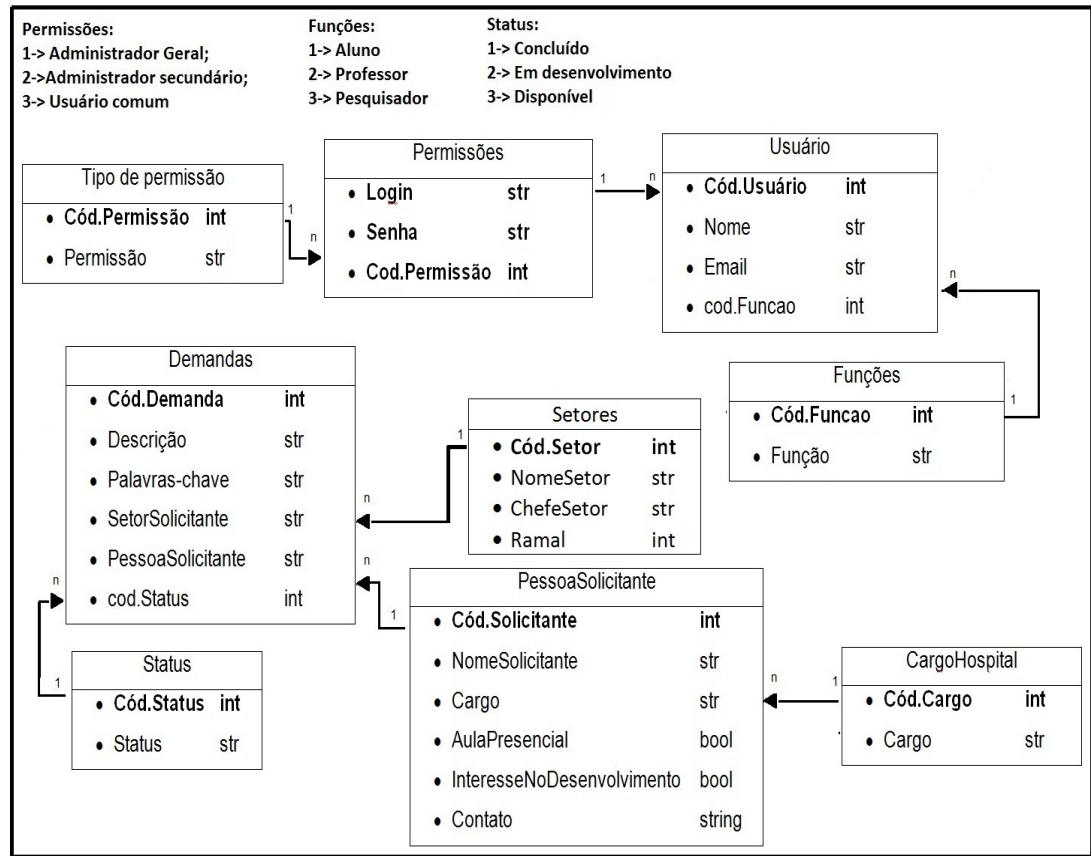


Figura 1: Modelagem do banco de dados.

Além disso, existe a tabela setor solicitante, com o nome do setor, ramal e seu enfermeiro-chefe. E a tabela pessoa solicitante, que contem informação sobre o funcionário que sugeriu o projeto (nome, cargo no hospital e contato), como nenhum campo do questionário é de preenchimento obrigatório, algumas informações dessa tabela aparecem como ‘não-informado’.

O banco de dados utilizado para armazenar as sugestões coletadas no hospital foi o MySQL (SUEHRING, 2012), um Sistema de Gerenciamento de Banco de Dados (SGBD) seguro e consolidado.

A apresentação desse projeto deveria ser gratuita, online, que disponibilize informações em tempo real, interface amigável, suportar vários acessos de uma vez e ser composto por um SGBD íntegro e seguro. A partir dessas características, foi selecionado um software web que já pertence a pesquisadores da Engenharia Biomédica, o BIODATA (DANTAS, 2014). Esse software foi adaptado, adicionando uma nova aplicação no sistema, para atender sua nova função: disponibilizar uma tabela com a descrição das demandas e demais informações coletadas no questionário para que professores, alunos e pesquisadores tenham acesso.

Dessa maneira, o usuário ao entrar no link <biodata.feelt.ufu.br> deve escolher qual serviço do site deseja acessar. A modelagem das páginas web do BIODATA foi baseada nas heurísticas de Nielsen (MACIEL, 2004), que são procedimentos que objetivam evitar potenciais problemas da interface.

3 | RESULTADOS

A equipe do hospital mostrou-se receptiva à pesquisa. De 07 (sete) setores abordados, apenas 02 (dois) não puderam responder ao questionário. Até a data de submissão deste trabalho, 22 (vinte e duas) demandas e 09 (nove) solicitantes foram cadastrados no BIODATA. O que indica que cada respondente possui mais de uma ideia para sugerir aos estudantes.

O banco de dados ficou bem estruturado e sua implementação foi realizada de forma organizada e objetiva, seguindo fielmente o que foi coletado com o questionário.

A interface do software web é mostrada na Figura 2, trata-se de uma interface simples e intuitiva, os dados ficaram dispostos de forma que todas as informações ficam disponíveis para os pesquisadores. O sistema terá informações adicionais sobre os solicitantes: o setor em que trabalha, ramal e contato pessoal. Desta forma, os interessados podem entrar em contato com o funcionário e delimitar ainda mais o resultado final do projeto. Além disso o solicitante tem a oportunidade de desenvolver o projeto em conjunto com os estudantes e também participar de uma aula presencial para esclarecimento de dúvidas.

The screenshot shows the BioData web application's request management interface. At the top, there's a header with the BioData logo (a blue cloud icon with three bars) and the word 'BioData'. To the left, a sidebar titled 'RELAÇÃO DE PÁGINAS' lists 'Setor da Solicitação' and 'Solicitante' under a red 'Solicitação' section. The main area is titled 'Solicitação' and contains a table of 10 entries. Each entry includes an 'Ações' column with links for Ver, Editar, Excluir, and Copiar; a 'Cod' column with a unique ID; a 'Descrição' column with a brief description; a 'Chaves' column with keywords; a 'Setor' column listing departments like Cirúrgica 2, UTI, and Clínica Médica; a 'Solicitante' column with placeholder '---'; and a 'Status' column indicating if the project is 'Em desenvolvimento' or 'Disponível'. The table has a light gray background with alternating row colors. Navigation buttons at the bottom allow for page selection (1, 2, 3) and defining the page size.

Figura 2: Interface do BIODATA

Na Figura 2 estão dispostas algumas das solicitações feitas pelos funcionários do HCU-UFU. As ações, liberadas para o Administrador Geral, são: ver, editar, excluir e copiar. Ao lado está a coluna dos códigos de cada demanda, sua descrição, as palavras-chave, o setor solicitante, a pessoa solicitante e o status do projeto (Disponível, Em desenvolvimento, Concluído).

4 | DISCUSSÃO

Os temas dos projetos desenvolvidos pelos estudantes nas disciplinas do curso de Engenharia Biomédica são sugeridos pelos professores ou, em sua maioria, pelos estudantes. Na primeira situação, quando o professor da disciplina define o tema, geralmente ele tem planos futuros para o projeto e orienta os estudantes ao longo do semestre. Na segunda situação, quando os alunos propõem o tema, uma das dificuldades é definir um assunto relacionado à saúde e que seja útil para a sociedade. Mesmo com uma boa proposta de projeto, a falta de um usuário final limita a ação do desenvolvedor e após finalizar o semestre, a produção fica sem real aproveitamento.

O HCU-UFGD é um hospital público ligado ao SUS voltado para assistência, pesquisa e ensino dos cursos de atenção à saúde da UFU. Entretanto quando se trata da Engenharia Biomédica, sabe-se que é preciso fazer crescer cada vez mais essa integração que é fundamental para todos, uma vez que essa área da engenharia está voltada para concepção, projeção e montagem de equipamentos médicos, biomédicos e odontológicos, assim como para o desenvolvimento de programas e equipamentos eletrônicos que otimizam o uso das máquinas pelos profissionais de saúde.

É necessário estabelecer um sistema de gerenciamento de propostas em inovação tecnológica em saúde para o curso de Engenharia Biomédica. Isso ajuda a criar um vínculo entre o curso de Engenharia Biomédica e o HCU-UFGD e quando o estudante ou professor (ou demais interessados na área) precisarem de tema para algum trabalho, várias demandas e sugestões de funcionários do Hospital de Clínicas de Uberlândia estarão disponíveis.

5 | CONCLUSÃO

A iniciativa do presente estudo beneficia os alunos e professores da graduação em Engenharia Biomédica, os profissionais de saúde do HCU-UFGD que sugeriram projetos e também os pacientes e os demais funcionários que irão utilizar as tecnologias implantadas.

Usando o BIODATA, o pesquisador terá oportunidade de começar um trabalho desde o início ou dar continuação a um projeto. Por essa razão, não é interessante excluir nenhuma proposta da tabela, mesmo que o projeto já tenha sido finalizado. Além disso, existem algumas ideias que quanto mais forem produzidas, melhor para o hospital. Como é o caso do carrinho de remédio, andador de material alternativo, entre outros.

A praticidade desse sistema somada à simplicidade de sua estruturação será capaz de atender as necessidades dos estudantes de Engenharia Biomédica no momento de escolha de tema de trabalhos. Assim como, garantir a qualidade dos projetos a serem desenvolvidos nas disciplinas do curso.

REFERÊNCIAS

COSTA, Andreia Rubina da Conceição. **Práticas e comportamentos de liderança na gestão dos recursos humanos escolares.** 2011. Tese de Doutorado. Universidade da Madeira.

DANTAS, Adilmar C.; ANDRADE, Adriano O. Biodata: **Arquitetura e organização de um software web para gerenciamento de coleta de dados biomédicos**, 2014.

FREITAS, Elidiana et al. ICC - **DIA: Manual do uso**. 2009

KORHONEN, K. et al. GEOMAGIA50: **an archeointensity database with PHP and MySQL**. Geochemistry, Geophysics, Geosystems, v. 9, n. 4, 2008.

MACIEL, Cristiano et al. **Avaliação heurística de sítios na Web**. Escola de Informática do SBC-Centroeste, v. 7, 2004.

SUEHRING, Steve. **Mysql: a bíblia**. In: MySQL: a biblia. Campus, 2002.

DETECÇÃO DE RESPOSTAS AUDITIVAS EM REGIME PERMANENTE USANDO COERÊNCIA MÚLTIPLA: OBTENÇÃO DE CONJUNTO ÓTIMO DE ELETRODOS PARA APLICAÇÃO ONLINE

Felipe Antunes

Universidade Federal de Viçosa
Viçosa – MG

Glaucia de Moraes Silva

Universidade Federal de São João del-Rei
São João del-Rei – MG

Brenda Ferreira da Silva Eloi

Universidade Federal de São João del-Rei
São João del-Rei – MG

Leonardo Bonato Felix

Universidade Federal de Viçosa
Viçosa – MG

o desempenho da magnitude quadrática da coerência múltipla, o teste foi aplicado a todas as combinações possíveis com os eletrodos. Foi levada em consideração a taxa de detecção e o tempo médio de detecção para quantificar o desempenho de cada combinação. As combinações A – {T5,Fp1,T4, F4, C4, 02,Fz, Cz}[tempo médio de detecção 63,59 s; taxa de detecção = 91,18%], B – {C3,F4 ,Cz,Pz} [tempo médio de detecção =38,70 s ; taxa de detecção =74,26%] e C – {C3, T4, C4,Fz ,Cz} [tempo médio de detecção = 38,70 s; taxa de detecção =74,26] foram consideradas as melhores combinações. A combinação A possui a maior taxa de detecção, a combinação B possui o menor tempo médio de detecção e a combinação C possui o melhor desempenho intermediário entre as combinações A e B.

PALAVRAS-CHAVE: Eletroencefalograma, Resposta Auditiva em Regime Permanente, Detectores Objetivos de Respostas Multivariados, Magnitude Quadrática da Coerência Múltipla.

ABSTRACT: The presence of cerebral evoked responses can be tested using objective responses detectors. A problem with these detectors is related to the time required to say whether there is presence or absence of the signal of interest. To improve the detection time multivariate objective response detectors was

RESUMO: A presença de respostas evocadas cerebrais pode ser testada usando detectores de respostas objetivas. Um problema desses detectores está relacionado ao tempo necessário para afirmar se há presença ou não do sinal de interesse. Para melhorar o tempo de detecção são usados detectores de respostas objetivos multivariados. Neste artigo foi usada uma técnica conhecida como magnitude quadrática da coerência múltipla na detecção de respostas auditivas em regime permanente evocadas por tons modulados em amplitude. Foi realizada uma análise *off-line* de dados registrados em eletrodos dispostos no escopo de acordo com o sistema internacional -. Para encontrar as combinações que maximizam

used. This paper presents the analysis of a technique known as multiple magnitude-square coherence in the detection of auditory steady-state response evoked by amplitudemodulated tones. An *off-line* analysis was performed with data recorded in electrodes arranged in the scalp according to the - international system. To find the combinations that maximize the performance of the multiple magnitude-square coherence, the test was applied to all possible combinations with the electrodes. It was taken into account the detection rate and the average detection time to rank the performance of each combination. The combinations A – {T5,Fp1,T4, F4, C4, 02,Fz, Cz }[average detection time 63,59 s; detection rate = 91,18%], B – {C3,F4 ,Cz,Pz} [average detection time = 38,70 s; detection rate = 74,26%] and C – {C3, T4, C4,Fz ,Cz} [average detection time = 45,33 s ; detection rate = 86,76%] were considered the best combinations. The combination A has the highest detection rate, combination B has the lowest average detection time and the combination C has an intermediate performance between combinations A and B.

KEYWORDS: Electroencephalogram, Auditory Steady-State Response, Multivariate Objective Response Detection, Multiple Magnitude-Squared Coherence.

1 | INTRODUÇÃO

O Eletroencefalograma (EEG) é o registro das atividades elétricas do cérebro, consequência do fluxo de correntes iônicas desencadeadas por potenciais de ação que ocorrem em função de estímulos sensoriais, execução de tarefas, pensamentos, entre outros estímulos. O EEG é captado utilizando eletrodos colocados sobre o escalpo.

A análise de respostas cerebrais imersas nos sinais do EEG tem instigado o estudo de uma manifestação cerebral: o Potencial Evocado (EP, do inglês – *Evoked Potential*). Segundo Miranda de Sá e Felix (2003), o EP é uma resposta elétrica do cérebro quando realizado um estímulo externo. Este estímulo pode ser visual, audiológico ou somatossensorial.

Considerando os estímulos auditivos, a modulação em amplitude (AM, do inglês - *Amplitude Modulation*) é um exemplo de estímulo acústico que evoca uma Resposta Auditiva em Regime Permanente (ASSR, do inglês - *Auditory Steady-State Response*) (Kuwada et al., 1986). Uma ASSR ocorre quando um estímulo auditivo é apresentado a uma taxa suficientemente elevada, de modo que a resposta a qualquer estímulo sobreponha à resposta anterior. De acordo com Dolphin e Mountain (1992), a ASSR evocada por tom AM é caracterizada por um aumento de energia na frequência moduladora (e seus harmônicos) no espectro de potência do EEG. Devido à baixa relação sinal ruído (SNR, do inglês - *Signal Noise Ratio*) resultante, surge o problema de detecção de presença ou ausência do EP.

A detecção objetiva de respostas (ORD, do inglês - *Objective Response Detection*) engloba um conjunto de funções matemáticas no domínio do tempo e da frequência. As ORDs no domínio da frequência oferecem mais benefícios em relação às técnicas no domínio do tempo por tratarem o problema de detecção como um teste de hipótese

estatístico. Estas técnicas executam um teste de hipótese automático, comparando o valor do detector a um limiar estatístico que independe do tipo de sinal periódico, dependendo apenas do número de janelas do sinal usado e do nível de significância estipulado *a priori* (Felix, 2006).

Para as técnicas ORD, a probabilidade de detecção é diretamente proporcional ao número de janelas, demandando um tempo maior do exame. Para melhorar a detecção de respostas evocadas, para um número fixo de janelas são utilizadas técnicas de detecção objetiva de respostas multivariadas (MORD, do inglês - *Multivariate Objective Response Detection*) (Felix et al., 2007). Elas são baseadas no uso de mais sinais de EEG coletados durante a estimulação.

Outra forma de reduzir o tempo do exame do EEG para a detecção de ASSRs é a aplicação *online* dos MORDs. Isso é possível com o desenvolvimento de técnicas de aplicação dos detectores a cada trecho de sinal coletado, como feito em (Carvalho, 2015).

Neste artigo será analisado o desempenho da Magnitude Quadrática da Coerência Múltipla (MMSC, do inglês - *Multiple Magnitude-Squared Coherence*) (Felix et al., 2007) na detecção de ASSRs evocadas por tons AM, utilizando uma técnica para detecção *online* de respostas.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Estímulos Auditivos – Os estímulos foram gerados digitalmente por meio do software MATLAB®, com uma frequência de 44100 Hz . Todos os estímulos foram tons AM com profundidade de modulação de 100%, pois evoca uma ASSR de maior amplitude (Dimitrijevic et al., 2001), e amplitude ajustada para intensidade de 50 dB SPL (*Sound Pressure Level*) que está acima do limiar auditivo de uma pessoa normal.

Em cada sessão de estimulação foi aplicado um sinal AM em apenas uma das orelhas, com portadoras variando em 0,5, 1, 2 e 4 kHz , com moduladoras de 35,39, 42 e 46 Hz para a orelha esquerda e 37, 40,5, 44 e 47,5 Hz para a orelha direita.

As moduladoras foram corrigidas a priori para um número inteiro de ciclos dentro de uma janela, o que evita o espalhamento espectral na detecção objetiva de ASSRs (Felix et al., 2009).

Os valores de moduladoras corrigidas para uma janela de análise espectral de 1024 pontos e frequência de amostragem = 601,5 foram: 35,2441 Hz , 38,7686 Hz, 42,2930 Hz e 45,8174 Hz para os estímulos da orelha esquerda e 37,0063 Hz ,40,5308 Hz, 44,0552 Hz e 47,5796 Hz para os estímulos da orelha direita.

Os estímulos foram aplicados por meio de um cabo blindado acoplado a um fone de inserção E-A-RTone 5A (Aearo Technologies). Para obter os valores de amplitude do sinal elétrico de acordo com o nível de intensidade desejada, foi realizada a calibração do sistema pela empresa Acústica Maducha, utilizando um ouvido artificial acoplado a

um medidor de níveis sonoros, de acordo com a resolução CFFa número 365 (2009) do Conselho Federal de Fonoaudiologia.

Aquisição de Sinais – Os experimentos foram realizados em uma cabine acusticamente isolada, localizada no Núcleo Interdisciplinar de Análise de Sinais (NIAS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Participaram 17 voluntários adultos com audição normal na faixa etária de 17 a 33 anos (média de 24,59 anos e desvio padrão de 4,68 anos), sendo 7 do gênero feminino e 10 do gênero masculino, de acordo com protocolo aprovado pelo comitê de ética local (nº 051/2010/UFV). Os voluntários foram orientados a sentar recostados confortavelmente, manter os olhos fechados e não dormir.

Foram utilizados 23 eletrodos dispostos no escálepo de acordo com o sistema internacional 10 - 20 com referência ao eletrodo Cz no vértex e terra no eletrodo Fpz na testa. Os sinais foram referenciados matematicamente ao eletrodo Oz, pois esta referência possui as melhores SNRs para as ASSRs (Van Der Reijden et al., 2004).

Os sinais foram coletados por meio do amplificador de sinais biológicos BrainNET BNT-36. A taxa de amostragem foi definida como 601,5 Hz, com configurações de filtro: notch em 60 Hz, passa-baixas de 100 Hz e passa-altas de 0,1 Hz.

Foram realizadas 8 sessões de aproximadamente 10 minutos em cada voluntário. Cada orelha foi estimulada separadamente nas frequências 0,5, 1, 2, e 4 kHz com intensidade de 50 dB SPL. Cada 1024 pontos amostrados representam uma janela (aproximadamente 1,7 segundos), com isso em cada sessão foram coletados 352 janelas. Os resultados foram salvos em arquivos de dados para análise *off-line*. O processo de estímulo e coleta de sinais foi feito por um mesmo programa em software MATLAB®.

Magnitude Quadrática da Coerência Múltipla (MMSC) – A MMSC é obtida ao se estender a técnica Magnitude Quadrática da Coerência (MSC, do inglês - *Magnitude-Squared Coherence*) para diversos canais. Para um estímulo determinístico e periódico em cada janela $x[n]$, sincronizado com N eletrodos $y_j[n]$ ($j = 1, 2, \dots, N$), para um sistema linear multivariado, a MMSC é dada por (Felix et al., 2007):

$$\hat{k}_N(f) = \frac{V^H(f) \hat{S}_{yy}^{-1} V(f)}{M} \quad (1)$$

Sendo:

$$V^H(f) = \left[\sum_{i=1}^M Y_{1i}(f) \quad \sum_{i=1}^M Y_{2i}(f) \quad \dots \quad \sum_{i=1}^M Y_{Ni}(f) \right] \quad (2)$$

$$\hat{S}_{yy}(f) = \begin{bmatrix} \hat{S}_{y1y1}(f) & \hat{S}_{y1y2}(f) & \dots & \hat{S}_{y1yN}(f) \\ \hat{S}_{y2y1}(f) & \hat{S}_{y2y2}(f) & \dots & \hat{S}_{y2yN}(f) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \hat{S}_{yNy1}(f) & \hat{S}_{yNy2}(f) & \dots & \hat{S}_{yNyN}(f) \end{bmatrix} \quad (3)$$

Onde H é o operador hermitiano da matriz, que representa o conjugado transposto da matriz; M o número de janelas; $Y_{ji}(f)$ ($j = 1, 2, \dots, N$) a Transformada Discreta de Fourier da i -ésima janela do sinal do canal j , e \hat{S}_{ypyq} a estimativa da densidade espectral de potência cruzada dos sinais nos eletrodos p e q , ($p, q = 1, 2, \dots, N$), dada por:

$$\hat{S}_{ypyq}(f) = \sum_{i=1}^M Y_{pi}^*(f) Y_{qi}(f) \quad (4)$$

O limiar de detecção é dado por (Felix et al., 2007):

$$k_{crit}^2 = \frac{F_{crit,\alpha,2N,2(M-N)}}{\frac{M-N}{N} + F_{crit,\alpha,2N,2(M-N)}} \quad (5)$$

Onde N é o número de sinais, M é o número de janelas, $F_{crit,\alpha,2N,2(M-N)}$ é o valor crítico para a distribuição F com $2N$ e $2(M - N)$ graus de liberdade para um dado nível de significância α . A resposta é considerada presente se $\hat{k}_N(f_m) > k_{crit}^2$, onde f_m é a frequência moduladora do estímulo.

Detecção Online de Resposta – O detector da Equação 1 foi utilizado neste artigo visando uma aplicação em tempo *quasi-real* da MMSC, em que é necessário afirmar a presença ou não das ASSRs no menor tempo possível, por isso o teste de detecção é aplicado nos sinais do EEG a cada janela (1024 pontos) coletada, até que se tenha uma resposta significativa. Foi definido um nível de significância de 5% para o teste de hipótese nula. O teste foi aplicado em todo o sinal a cada janela adicionada, até encontrar uma resposta significativa ou atingir as 352 janelas. A detecção ocorrerá na primeira resposta significativa e o tempo de detecção corresponde ao tempo necessário para coletar a janela que isso ocorreu.

Seleção de Canais – O desempenho da MMSC é afetado pela SNR de cada sinal e pela correlação do ruído entre os sinais (Felix et al., 2007). Para obter o melhor conjunto de eletrodos que minimize esses dois efeitos, foram testadas todas as combinações possíveis com os 19 sinais do EEG, ($C_{19,i}$; $i=1, 2, 3, \dots, 19$). Deste modo, o total de combinações é dado pelo somatório: $\sum_{i=1}^{19} C_{19,i} = 524287$ combinações.

Cada um dos 17 voluntários participou de 8 sessões de estímulos (4 tons para cada orelha), totalizando 136 respostas para serem detectadas por cada uma das 524287 combinações.

A escolha da melhor combinação leva em consideração duas medidas de desempenho:

Taxa de Detecção: É a razão entre o número de estímulos detectados pelo número total de estímulos a serem detectados.

Tempo Médio de Detecção: A média entre os tempos de detecção entre todos os estímulos detectados.

Duas metodologias foram adotadas para encontrar as melhores combinações:

Pela Taxa de Detecção Máxima: Duas combinações serão consideradas as melhores, aquela que apresentar a maior taxa de detecção geral e aquela que

apresentar o menor tempo médio de detecção entre aquelas que apresentarem taxas de detecção acima de 86,5%.

Pelo Tempo Médio de Detecção Mínimo: Duas combinações serão consideradas as melhores, aquela que apresentar o menor tempo médio de detecção geral e aquela que apresentar a maior taxa de detecção entre as combinações com os tempos médios de detecção menores que segundos.

3 | RESULTADOS

A Figura 1 mostra o histograma do número de combinações em função da taxa de detecção. A combinação {T5, Fp1, T4, F4, C4, O2, Fz, Cz} apresentou a melhor taxa de detecção (91,18%) com um tempo médio de detecção de 63,59 segundos. Dentre as combinações com as maiores taxas de detecções presentes na parte ampliada do histograma da Figura 1, a combinação {C3,T4,C4,Fz,Cz} apresentou o melhor tempo médio de detecção (45,33 segundos) com uma taxa de detecção de 86,76%

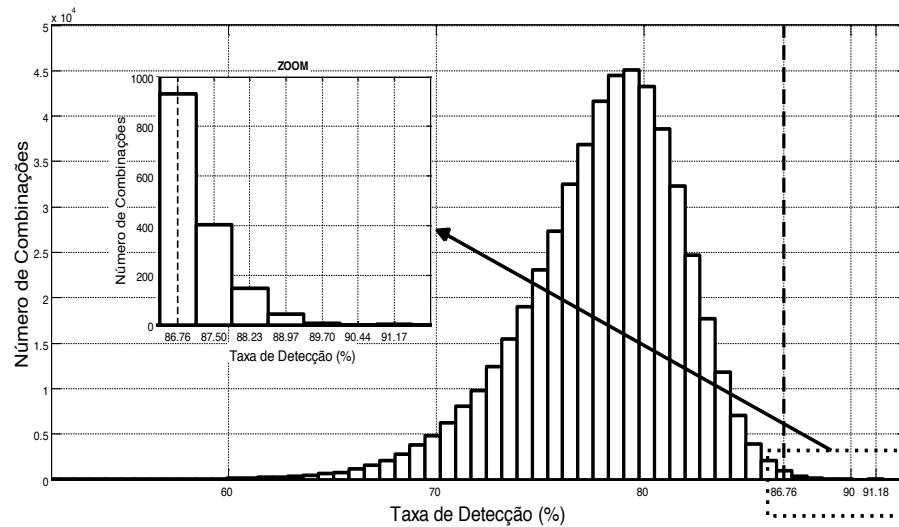


Figura 1. Histograma do número de combinações em função da taxa de detecção.

A Figura 2 mostra o histograma do número de combinações em função do tempo médio de detecção. A combinação {C3,F4,Cz,Pz} apresentou o melhor tempo médio de detecção (38,70 segundos) com uma taxa de detecção de 74,26%. Dentre as combinações com os melhores tempos médios de detecção presentes na parte ampliada do histograma da Figura 2, a combinação {C3, T4, C4, Fz, Cz} apresentou a melhor taxa de detecção (86,76%) com um tempo médio de detecção de 45,33 segundos. É importante notar que essa configuração é a mesma obtida anteriormente pelo critério da taxa de detecção máxima.

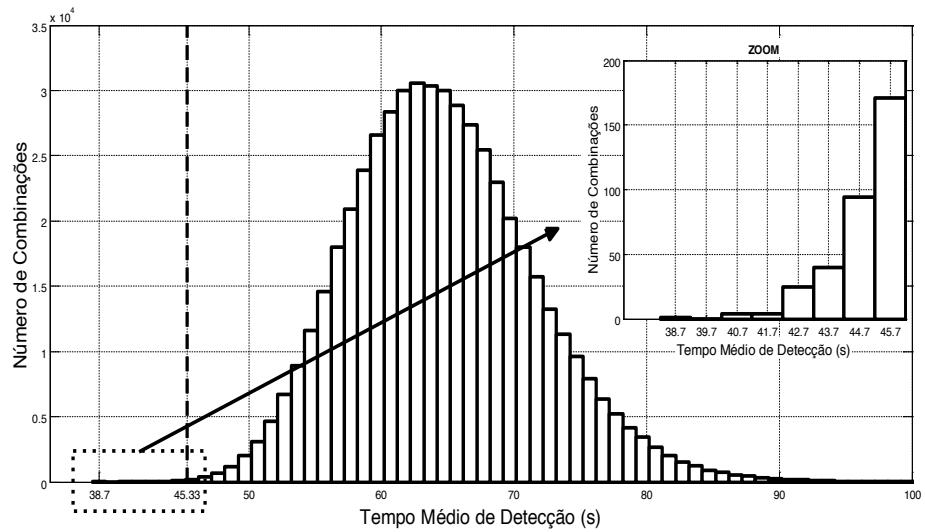


Figura 2. Histograma do número de combinações em função do tempo médio de detecção.

A Tabela 1 resume as medidas de desempenho encontradas para as melhores combinações.

Combinação	Taxa de Detecção (%)	Tempo Médio de Detecção (s)
A – {T5, Fp1, T4, F4, C4, O2, Fz, Cz}	91,18	63,59
B – {C3, F4, Cz, Pz}	74,26	38,70
C – {C3, T4, C4, Fz, Cz}	86,76	45,33

Tabela 1. Medidas de desempenho para as melhores combinações.

4 | DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As combinações A – {T5, Fp1, T4, F4, C4, 02, Fz, Cz }, B – {C3, F4, Cz,Pz} e C – {C3, T4, C4, Fz, Cz }, mostradas na Tabela 1, foram consideradas as melhores combinações para aplicação da MMSC. A combinação A possui a maior taxa de detecção, a combinação B possui o menor tempo médio de detecção e a combinação C foi obtida tanto pela análise da combinação mais rápida entre as combinações com as maiores taxas de detecção quanto pela análise da combinação com a maior taxa de detecção entre as combinações mais rápidas. A combinação C possui a melhor relação custo benefício entre acurácia e velocidade.

A combinação B tem ainda a vantagem de possuir menor número de eletrodos. A relação entre o número de eletrodos é diretamente proporcional ao esforço computacional o que é importante para uma aplicação em tempo real.

O tempo médio de detecção das três melhores combinações ficou entre 38,70 e 63,59 segundos, o que levaria entre 5,16 minutos e 8,48 minutos para detectar os 8 estímulos. Este resultado é comparável com o obtido por Carvalho (2015) em que foi utilizada varreduras de 16 janelas no cálculo da MMSC, aplicando estímulos binaurais a cada sessão. A melhor combinação obtida por Carvalho (2015) obteve uma taxa de

detecção de 96,35% para os estímulos em 50 dB SPL e detectou os 8 estímulos em 8,43 minutos.

O método apresentado neste artigo possui vantagem em relação ao método apresentado por Carvalho (2015) em termos de tempo de detecção. Para a combinação B o tempo foi 3,27 minutos menor e para a C foi 2,39 minutos menor. A desvantagem fica por conta das taxas de detecção que ficaram em 91,18%, 74,26% e 86,76% respectivamente para as combinações A, B e C, mas que ainda são próximas da obtida por Carvalho (2015).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES e a FAPEMIG pelo apoio financeiro e a empresa Acústica Maducha pela calibração do estimulador.

REFERÊNCIAS

- Carvalho, J. A. S. **Avaliação da Magnitude Quadrática da Coerência Múltipla como Detector Objetivo de Respostas Auditivas em Regime Permanente**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica). São João del-Rei: Universidade Federal de São João del-Rei, 2015.
- Dimitrijevic, A.; John, M. S.; Van Roon, P.; Picton, T. W. **Human auditory steady-state responses to tones independently modulated in both frequency and amplitude**. Ear and Hearing. 2001. 22(2): p. 100–111.
- Dolphin, W. F.; Mountain, D. C. **The envelope following response - scalp potentials elicited in the mongolian gerbil using sinusoidally am acoustic signals**. Hearing Research. 1992. 58(1): p. 70–78.
- Felix, L. B. **Detecção objetiva de respostas auditivas em regime permanente: aplicação em exames audiológicos**. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.
- Felix, L. B.; Miranda de Sa, A. M. F. L.; Infantosi, A. F. C.; Yehia, H. C. **Multivariate objective response detectors (MORD): statistical tools for multichannel eeg analysis during rhythmic stimulation**. Annals of Biomedical Engineering. 2007. 35(3): p. 443–452.
- Felix, L. B.; Miranda de Sa, A. M. F. L.; Mendes, E. M. A. M.; Moraes, M. F. D. **Post-processing of auditory steady-state responses to correct spectral leakage**. Journal of Neuroscience Methods. 2009. 181(1): p. 145–149.
- Kuwada, S.; Batra, R.; Maher, V. I. **Scalp potentials of normal and hearing impaired subjects in response to sinusoidally amplitude modulated tones**. Hearing Research. 1986. 21(2): p. 179–192.
- Miranda de Sá, A. M. F. L.; Felix, L. B. **Multi-channel evoked response detection using only phase information**. Journal of Neuroscience Methods. 2003. 129: p. 1–10.
- Van Der Reijden, C. S.; Mens, L. H. M.; Snik, A. F. M. **Signal-to-noise ratios of the auditory steady-state response from fifty-five eeg derivations in adults**. Journal of the American Academy of Audiology. 2004. 15(10): p. 692–701.

PRÓTESE DE MEMBRO INFERIOR EM FIBRA DE CARBONO PARA USO COTIDIANO E LEVES EXERCÍCIOS

César Nunes Giracca

Engenheiro Biomédico - Centro Universitário Franciscano.

E-mail: eng.giracca@gmail.com

Tiago Moreno Volkmer

Orientador - Centro Universitário Franciscano.

E-mail: tiagovolkmer@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: prótese transtibial, compósitos de carbono, Abaqus, *SolidWorks*, EMIC®.

ABSTRACT: A regular person who suffers a trauma that incapacitate its locomotion ability have several difficulties to adapt to its daily activities, the use of a prosthetic member helps in the rehabilitation process. However, most of the prostheses available in the market are too heavy or too expansive. In order to overcome this problem, this work proposes a model of a carbon fiber transtibial prosthesis for everyday use and light exercises with a light weight and low cost. Carbon Fiber/Epoxy specimens were produced and mechanically tested. The results were extracted and inserted in Abacus simulation software. The results of simulation and mechanical tests presented less than 5% of difference, showing that the designed carbon fiber prosthesis have great potential to become a functional and viable prototype.

KEYWORDS: transtibial prosthesis, carbon compond, abacus, *SolidWorks*, EMIC®.

INTRODUÇÃO

Um ser humano que sofre com um trauma que afeta a sua capacidade de locomoção sente inúmeras dificuldades de se adaptar e retomar as atividades cotidianas, o uso de uma prótese

RESUMO: Uma pessoa com um trauma que pode afetar a sua capacidade de locomoção sente inúmeras dificuldades de se adaptar e retomar as atividades cotidianas, o uso de uma prótese diminui as dificuldades de adaptação facilitando assim retomada de atividades corriqueiras. Entretanto, a maioria das próteses disponíveis no mercado são muito pesadas e/ou caras. Visando suplantar este problema, este trabalho propõe um modelo de prótese transtibial de fibra de carbono para uso cotidiano e exercícios leves que seja leve e tenha baixo custo. Para tal, corpos de prova de fibra de carbono com resina epóxi foram confeccionados e testados mecanicamente, os resultados obtidos foram extraídos e inseridos no programa de simulação Abaqus. Os resultados dos ensaios mecânicos e das simulações apresentaram uma diferença de menos de 5%, o que mostra o grande potencial da prótese projetada em fibra de carbono para a construção de um protótipo funcional e viável.

diminui as dificuldades de adaptação facilitando a retomada de atividades corriqueiras. Com a utilização de uma prótese, de membro inferior substituindo a porção parcial de seu nível de amputação auxilia na qualidade de vida do indivíduo.

Com a crescente conscientização mundial para desenvolver sistemas cada vez mais sustentáveis surge a necessidade de projetar componentes mais leves, mais resistentes e mais duráveis visando melhor eficiência energética, desta forma um meio para reduzir o consumo energético é reduzir a massa movida no caso deste projeto a construção de uma prótese de compósito.

Segundo Woodhead, (1994, apud LUZ, 2011) materiais compósitos são definidos como uma combinação de dois ou mais materiais em escala macroscópica para formar um material útil, frequentemente exibindo propriedades que nenhum dos componentes exibe independentemente.

A importância de utilizar métodos de simulação como o executado em este trabalho é exatamente para evitar desperdício de tempo e material com protótipos montados e ensaiados por tentativa e erro. Desta forma podemos simular inúmeras geometrias complexas até atingir um parâmetro de confiança aceitável podendo passar para a próxima fase que é a construção do protótipo.

As indústrias aeroespacial e automotiva (de alto desempenho) já vem se beneficiando da utilização dos materiais compósitos estruturais a certo tempo. Porém com o compromisso estrutural surge a necessidade da correta previsão de tensões as quais o componente será submetido. Devido ao comportamento anisotrópico e complexidade das interações micros e macros mecânicas entre a matriz polimérica (exemplo resina epóxi) e o reforço fibroso (exemplo fibra de carbono), é necessário um profundo entendimento dos mecanismos de falha e das ferramentas matemáticas exigidas para análise de tais tensões (REZENDE; BOTELHO, 2000).

A simulação numérica computacional permite a obtenção de respostas aproximadas do comportamento real, afim de validar possíveis protótipos com base em seu cálculo de carga para a falha do proposto material, possibilitando, assim, encontrar-se o melhor desenho sem a necessidade da confecção de diversos materiais, reduzindo o custo de produção.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a criação 3D do modelo computacional se utilizou um notebook *ThinkPad* com processador I7 Intel, 8Gb de RAM, placa de vídeo intel4000, o software para a criação SolidWorks versão 2015, para a criação 3D e o software ABAQUS versão 6.06 para a simulação computacional. A figura 1 mostra o desenho das peças em compósito criada no programa SolidWorks em fibra de carbono, a da esquerda o calcaneo e a da direita perna e pé.

O presente estudo visa demonstrar a possibilidade de construção de uma prótese

semelhante às produzidas no exterior, porém com uma fração do custo que representa com suas respectivas taxas de importação onde o protótipo é voltado para pessoas com amputação transtibial de um adulto jovem. O protótipo em 3D foi criado usando o programa SolidWorks e as simulações computacionais 3D foram realizadas utilizando o software ABAQUS.

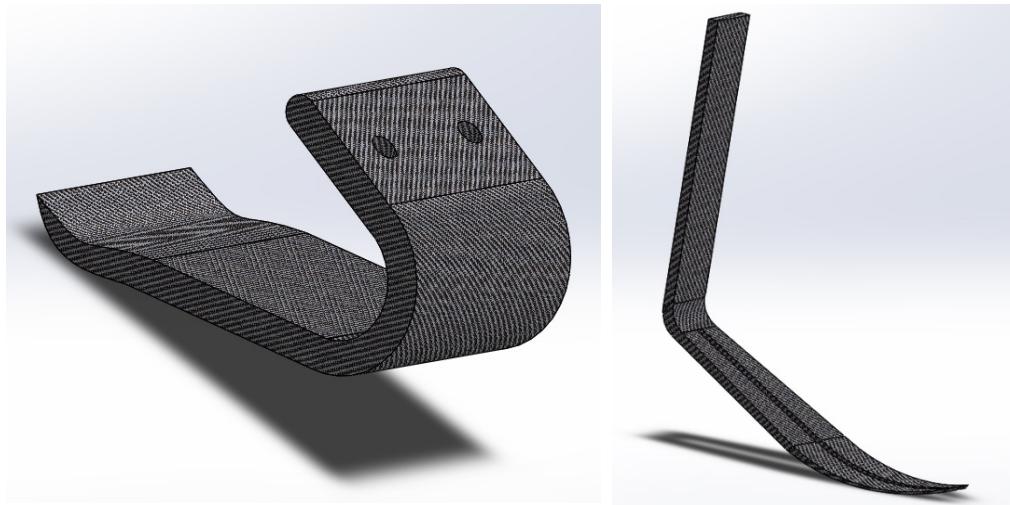


Figura 1 - Modelo 3D da prótese transtibial em fibra de carbono criada com o *software Solid Works*.

Fonte: construção do autor.

Materiais para a laminação *Hand Lay Up*: tecido fibra de carbono bidirecional Texiglass™ aproximadamente 4m², resina epóxi Redeflease® SQ-2001, endurecedor Redeflease SQ-315™, desmoldante PVA verde da Redeflease, balança de precisão, rolo rolete metálico para laminação, paquímetro digital Mitutoyo, placas em alumínio 4mm moldes, lixadeira de cinta pneumática At-7010 Puma 16000rpm, Dremel 4000, estufa para secagem e esterilização.

Materiais de laminação a vácuo: tecido fibra de carbono prépreg bidirecional aproximadamente 3m², resina epóxi Redeflease® SQ-2001, endurecedor Redeflease SQ-315™, desmoldante PVA verde da Redeflease, balança de precisão, rolo rolete metálico para laminação, paquímetro digital Mitutoyo, placas em alumínio 4mm moldes, kit vácuo (Filme de Vácuo, tecido Peelply, Filme Perfurado, Filme Absorvente, Tacky Tape, Conexão T 1/2", Espiraduto), bomba de vácuo, lixadeira de cinta pneumática At-7010 Puma 16000rpm, Dremel 4000, estufa para secagem e esterilização.

Na laminação *hand lay up*, foram preparadas duas superfícies planas de alumínio com aproximadamente 4mm de espessura, utilizando 3 camadas de desmoldante PVA, em cada uma delas, da marca Redeflease para que a peça não aderisse ao molde durante o procedimento de cura. Foi utilizada uma balança de precisão para preparar uma mistura de resina e endurecedor na proporção de duas partes de resina para 1 uma parte de endurecedor.

A primeira etapa da criação foi distribuir uniformemente a primeira camada de fibra de carbono sobre a superfície de alumínio e aplicar a mistura uniformemente sobre a

fibra para formar o compósito. Repete-se esse procedimento camada a camada até atingir a espessura do corpo de prova. Foi utilizado um rolete metálico específico para laminação para que as camadas do material fibroso ficassem uniformes e sem excesso de resina, deixando as camadas compactadas e livres de bolhas de ar. Utilizou-se 14 camadas de fibra de carbono para atingir a espessura de 4mm de compósito. Por fim, foi posicionada na parte superior do compósito a segunda superfície de alumínio e utilizada uma peça metálica de 5kg para prensar e forçar o excesso de resina a escoar entre as camas para fora do compósito.

No processo de cura foi utilizado um forno digital com termostato controlando sua temperatura. Foi efetuado uma rampa de aquecimento que iniciou em 80° C, subindo até 130° e decrescendo gradualmente até temperatura ambiente, como demonstrado no gráfico da figura 2.

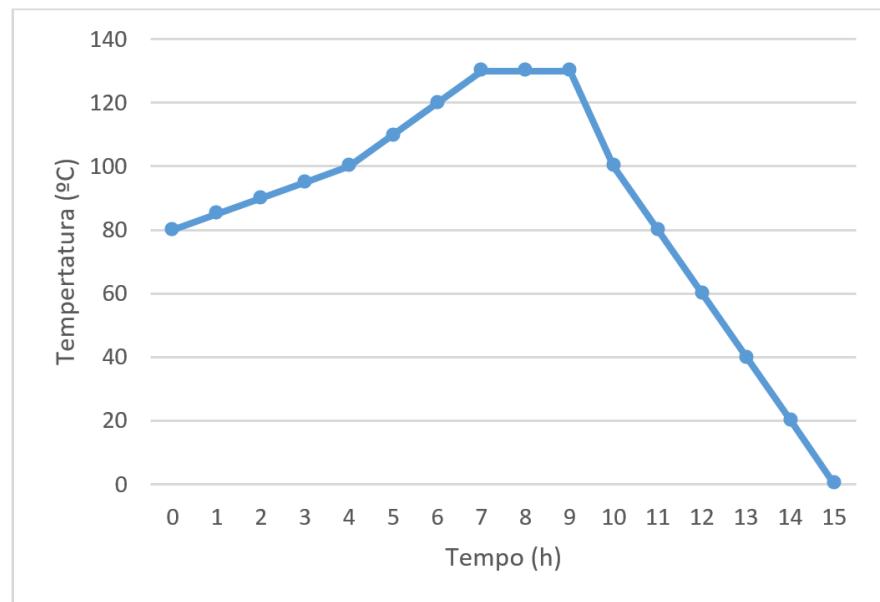


Figura 2 - Rampa de aquecimento para o tratamento de cura das fibras de carbono.

Fonte: construção do autor.

Foram confeccionados corpos de prova com as dimensões indicadas segundo as normativas ASTM D7264 e ASTM D3039/3039M para o procedimento de ensaio de tração e flexão como mostrado na figura 3.

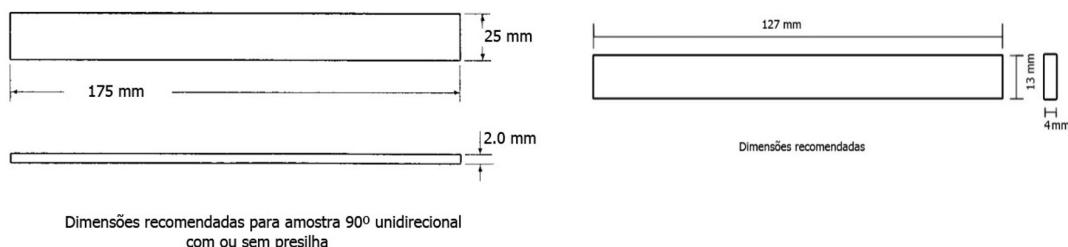


Figura 3 - Dimensões dos corpos de prova baseados nas normas técnicas ASTM D7264 e ASTM D3039/3039M.

Fonte: Normativas ASTM D7264 (2016) e ASTM D3039/3039M (2002).

Caracterização: Os processos de ensaios mecânicos foram efetuados em uma Máquina Universal de Ensaios eletromecânica e micro processada EMIC™ modelo DL10000, realizados dentro do campus das engenharias no Centro Universitário Franciscano.

Microscopia ótica para caracterizar a fratura dos corpos de ensaio foi utilizado um microscópio digital 500X *Supereyes* B008.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 4 mostra o comparativo entre os compósitos antes e após o ensaio, ampliação de 50X tração antes do ensaio (a), ampliação 500X tração antes do ensaio (b), ampliação 50x tração após ensaio (c), ampliação 500x tração após ensaio (d), ampliação 50x flexão antes ensaio (e) ampliação 500x flexão antes do ensaio (f), ampliação 50x flexão após ensaio (g), ampliação 500x flexão após ensaio.

Analisando-se as micrografias da figura 4 percebe-se que após o ensaio de tração ocorreu o desprendimento entre as fibras e a matriz, enquanto que para os ensaios de flexão ocorreu a ruptura das fibras.

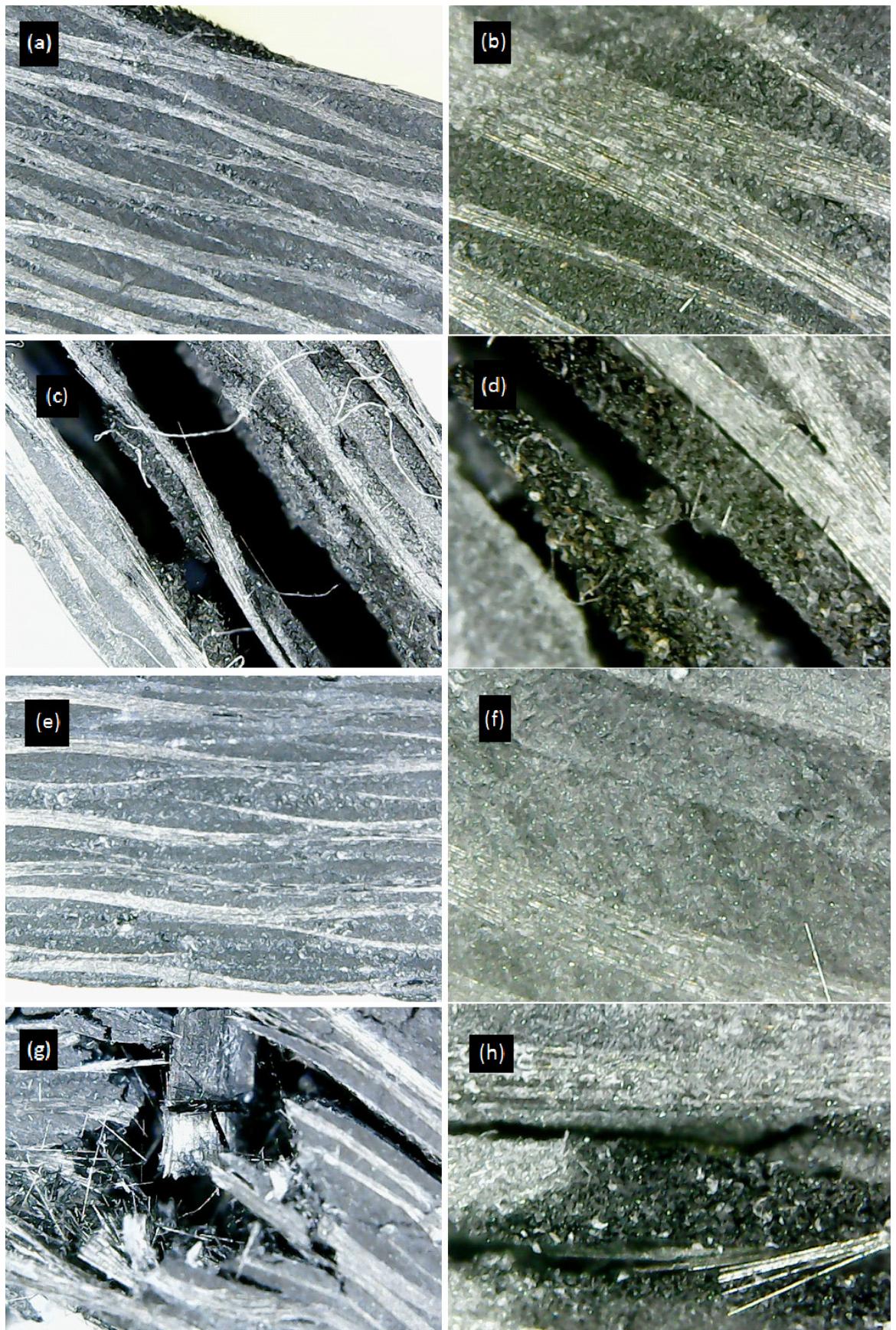


Figura 4 - Microscopia dos corpos de prova após os ensaios de tração e flexão.

Fonte: construção do autor.

A figura 5 mostra o gráfico da carga aplicada em função do tempo (limitação da máquina utilizada). Os resultados médios obtidos pela ruptura dos compósitos ensaiados foram de 3698 Kgf ou 36,264 KN e os dados utilizados para alimentar o

software ABAQUS nos ensaios de simulação 3D são mostrados na tabela 1.

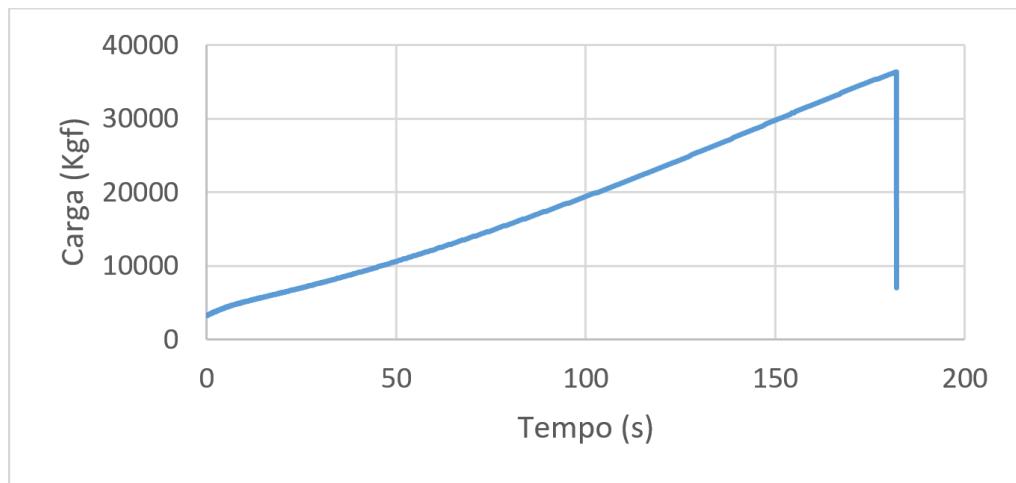


Figura 5 - Gráfico resultante ensaio tração da carga crescente pelo tempo apresentando o comportamento deste compósito com rompimento sem deformação plástica.

Fonte: construção do autor.

Parâmetro	Valor	Unidade
Módulo de Elasticidade	28,74	GPa
Tensão de ruptura	363,6	MPa
σ Escoamento	1,73%	

Figura 4 - Microscopia dos corpos de prova após os ensaios de tração e flexão.

Fonte: construção do autor.

Com os dados coletados dos ensaios de tração temos o modulo de elasticidade em Giga Pascal e a força de rendimento offset em Mega pascal e a deformação em mm, passamos para o seguinte passo que foi criar o desenho tridimensional das partes em compósitos onde foi utilizado o software Solidworks V2015, e obtivemos este design procurando algo próximo do comercial e funcional.

Para realizar a simulação no desenho do compósito foi utilizado o software ABAQUS versão 6.8 por ser um software que apresenta mais variáveis de análise com respostas mais funcionais quando comparado a simulação computacional oferecida pelo SolidWorks, as variáveis optadas na simulação foram as seguintes:

Principal critério de falha analisado para descobrir a carga que suporta a geometria do modelo criado, podendo demonstrar um ponto de fragilidade em suas dimensões. Formula simplificada do critério de falha Von Mises, mostrada na equação 1.

$$\sqrt{\sigma_{xx}^2 + 3\tau_{xy}^2} < \sigma_e \quad (1)$$

Na formula reduzida do critério de falha de Von Mises temos σ_{xx} como as forças em σ MPa na direção xx e τ_{xy} (tensão de cisalhamento) as forças MPa nas resultantes do critério de Tresca, para podermos calcular as forças de Von Mises utilizando a formula

reduzida acima, oé é a máxima carga em MPa para definir se o ponto estudado venha a falhar ou não. Na figura 6, são mostradas as simulações computacionais efetuadas no software ABAQUS, mostrando o critério de falha de Von mises, o tensor de tensão de Caushy e as forças de reação no eixo longitudinal em ordem.

A plataforma de análises finitas ABAQUS permitem que problemas complexos com deformações e interações entre materiais e possam ser modelados numericamente, é utilizado por realizar cálculos de falha para componentes com geometrias complexas.

Na imagem da letra (a) e da letra (d) temos o critério de falha de Von Mises que define claramente na figura (d) mais ampliada o momento e o local onde o compósito concentrou maior carga e veio a falhar em 80% da simulação representando um valor de 106,33 Kgf ou 1,042KN aproximadamente, demonstrando uma possível falha na geometria próximo a um canto vivo atingindo seu ápice da carga.

As tensões de Cauchy são conhecidas como tensão tridimensional de segunda ordem e define o estado de tensão em um ponto do corpo estudado em sua configuração deformada (SARTURI, 2014), abaixo um exemplo com resultados utilizando do programa Abaqus.

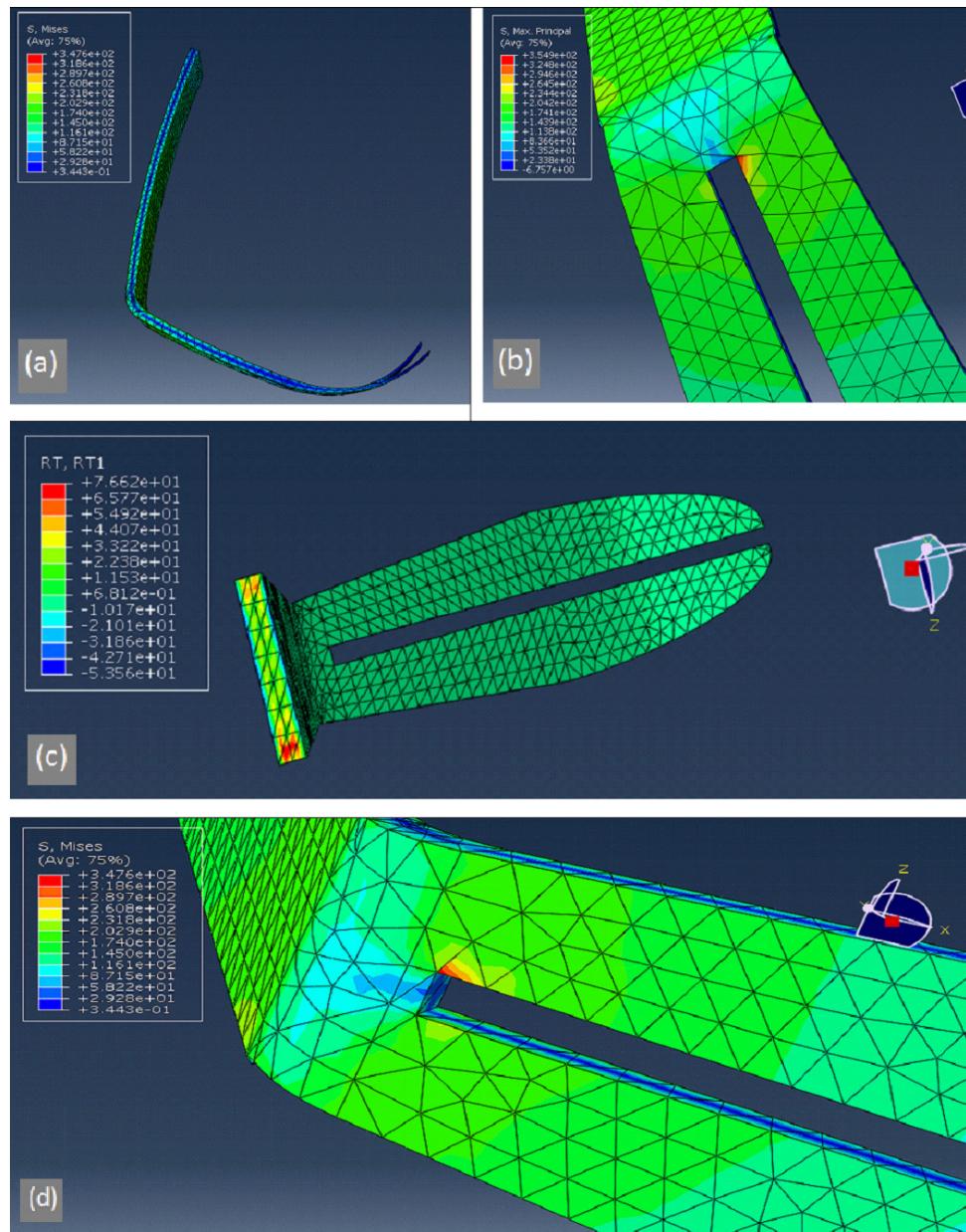


Figura 6 - Análise simulacional de falhas do modelo 3D em fibra de Carbono utilizando o software Abaqus. Critério de falha de Von Mises (a), tensor tensão de Caushy (b), forças de reação eixo longitudinal (c), Von Mises com detalhe da falha (d).

Fonte: construção do autor.

As imagens das figuras 7 (a) e 7 (b) representam: rotação e translação e forças de reação simbolizada em vetores, respectivamente. Observando as imagens capturadas da simulação temos em (a) as forças de reação para rotação e translação resultantes com a carga sendo aplicada na superfície plantar, e a imagem (b) representa as forças de reação resultantes na parte superior, a deformação da peça é visível nesta representação e o resultante das forças está representado em vetores com as cores representando o índice de carga total na tabela a esquerda superior. No estudo das forças de reação do solo temos uma força que é comumente estudada na área de biomecânica por ser uma força de superfície atuante do solo com o objeto (neste caso nosso modelo) (BARELA; DUARTE, 2011).

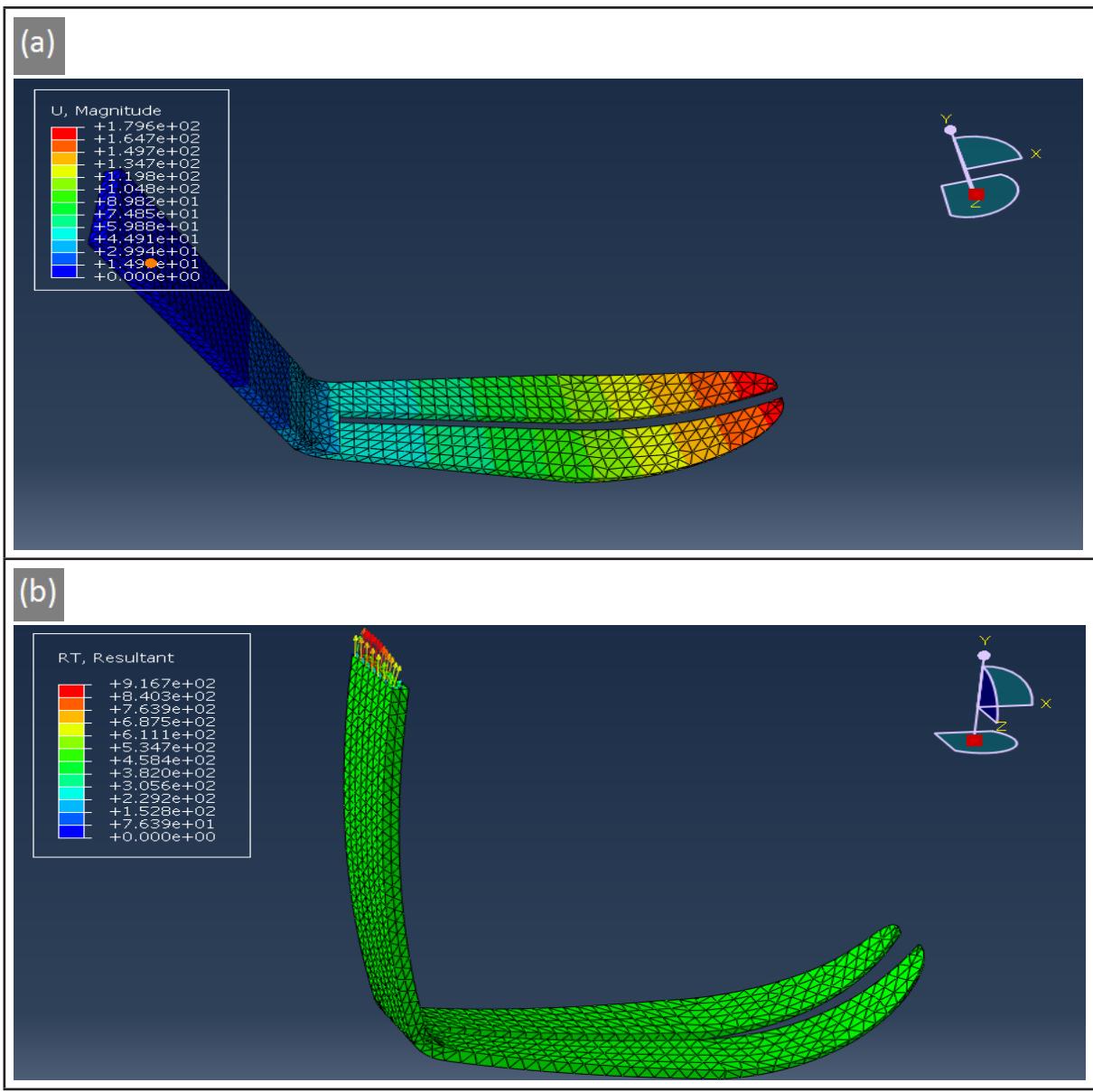


Figura 7 - Análise simulacional de falhas do modelo 3D em fibra de Carbono utilizando o software Abaqus. Forças de rotação e translação (a), forças de reação simbolizada em vetores (b).

Fonte: construção do autor.

Na figura 7 (a) representa força translação como demonstrado na simulação, a parcela da peça que mais sofreu deformação representada em cores quentes como o vermelho é onde a peça possui menos camadas do material compósito.

Na figura 7 (b) representa a força de reação que é demonstrada na parcela superior da peça, como o cálculo da força aplicada sobre a peça é pela área de contato, notamos que a área inferior onde aplicado a força é visivelmente maior que a área superior de resposta, onde está demonstrado em vetores saindo da peça na porção superior em amarelo e vermelho com 3x a carga referente a carga imposta na base plantar, 347MPa na entrada e 916MPa na resultante superior.

O desenho de uma nova peça com cantos mais arredondados possivelmente poderia melhorar ainda mais o desempenho da prótese projetada.

CONCLUSÃO

Verificou-se que os resultados obtidos nos ensaios de tração foram similares aos obtidos após a simulação.

Foi possível fazer o desenho em 3D de uma prótese transtibial de Fibra de Carbono para exercícios leves e uso diário. Em nossas simulações utilizando o software conseguimos chegar muito próximo dos números obtidos pelos critérios de falha dos ensaios mecânicos sendo coerente a resposta do dispositivo captado em ensaios mecânicos de tração efetuados na instituição demonstrando que com essa distribuição angulada e processo de construção o protótipo pode suportar até kgf 106,333 sem falhar contando com os pontos de possível falha do design. Demonstrados em vermelho na figura (d) que caracteriza um ponto de stress em um canto vivo do modelo criado no *software* SolidWorks sendo possível melhorar o modelo e ter uma resistência significativamente maior com a reorganização dos vetores de construção e a forma de construção do compósito.

REFERÊNCIAS

ASTM 7264D/7264M, **Standard test method for flexural properties of polymer matrix composite materials:** © International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959. United States: ASTM, 2016.

ASTM D 3039/D 3039M, **Standard test method for tensile properties of polymer matrix composite materials:** This standard is copyrighted by ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, United States: ASTM, 2002.

BARELA, A. M. F.; DUARTE, M.; UTILIZAÇÃO DA PLATAFORMA DE FORÇA PARA AQUISIÇÃO DE DADOS CINÉTICOS DURANTE A MARCHA HUMANA, **Introdução**. 2011.

LUZ, F. F. PÓS-GRADUAÇÃO, P. De; MINAS, E. De; ANÁLISE COMPARATIVA DO ESCOAMENTO DE FLUIDO EM EXPERIMENTOS RTM UTILIZANDO APLICATIVOS COMERCIAIS, **Introdução**. 2011.

REZENDE, M.; BOTELHO, E. O uso de compósitos estruturais na indústria aeroespacial. **Polímeros**, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-14282000000200003&script=sci_arttext>. Acesso em: 14 abr. 2016.

SARTURI, F. D. M. PÓS-GRADUAÇÃO, P De; Ssimulação computacional de estruturas de concreto reforçadas com aço e compósitos de fibra de carbono, **Tensões (a)** UFP Curitiba . 2014.

RECONSTRUÇÃO DE IMAGEM DE TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA POR FEIXE DE PRÓTONS, UTILIZANDO A TRANSFORMADA INVERSA DE RADON, BASEADA EM IMAGENS GERADAS POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL

Fabrício Loreni da Silva Cerutti

e-mail: Fabricioloren@gmail.com

CPGEI/UTFPR, Curitiba, Brasil

Gabriela Hoff

CPGEI/UTFPR, Curitiba, Brasil

Marcelo Victor Wüst Zibetti

CPGEI/UTFPR, Curitiba, Brasil

Hugo Reuters Schelin

IPPPP, Curitiba, Brasil

Valeriy Viktorovich Denyak

IPPPP, Curitiba, Brasil

Sergei Anatolyevich Paschuk

CPGEI/UTFPR, Curitiba, Brasil

Ivan Evseev

CPGEI/UTFPR, Curitiba, Brasil

Leonardo Zanin

CPGEI/UTFPR, Curitiba, Brasil

Ediney Milhoretto

CPGEI/UTFPR, Curitiba, Brasil

do feixe de prótons, dos detectores, do *phantom* e do calorímetro. O espectro dos prótons incidentes foi definido como monoenergético, com energia cinética inicial de 200MeV e em *Pencil Beam*, de forma a cobrir toda a área do corte do objeto a ser imageado, sendo o comprimento da linha de irradiação de 230mm. Foram construídos quatro detectores, dois foram posicionados na saída do feixe e dois atrás do *phantom*. O *phantom* é composto por um paralelepípedo de água com dois objetos de contraste (osso compacto) em seu interior com geometrias distintas. A aplicação desenvolvida no Geant4 foi definida de forma a gerar um arquivo de saída para cada um dos 4 detectores e um outro arquivo de saída para o calorímetro. O arquivo de saída dos detectores possui a identificação dos 20.000 prótons e a posição que cada próton passou nas coordenadas x, y e z do dado detector, para cada ângulo de incidência estudado. Por fim, foi realizada a reconstrução da imagem do *phantom* simulado utilizando a Transformada Inversa de Radon do MatLab.

PALAVRAS-CHAVE: Geant4, Simulação, pCT, Reconstrução de Imagem, Transformada Inversa de Radon.

ABSTRACT: The present study had the objective to build a application that simulates an pCT Geant4 with the same pCT prototype

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo construir uma aplicação em Geant4 que simule uma Tomografia Computadorizada por Feixe de Prótons (pCT), com o mesmo design do protótipo de pCT do *Loma Linda University Medical Center* (LLMC) e realizar a reconstrução de imagem a partir dos dados simulados. Para isso, foi construído um conjunto de classes no Geant4 9.06.p03 contendo as especificações

design Loma Linda University Medical Center (LLMC) and perform the reconstruction image from the simulated data. A set of codes was constructed in the Geant4 9.06. p03, including the specifications of the proton beam, the detectors, phantom and the calorimeter. The spectrum of incident protons was defined as monoenergetic with initial kinetic energy 200MeV and in pencil beam to cover the entire sectional area of the object to be imaged, with a 230mm irradiation line. Four detectors were built, two were positioned in the beam output and two were behind the phantom. The phantom consists of water parallelepiped with two contrasting objects (compact bone) inside, with different geometries. The Geant4 was programmed to generate an output file for each of the four detectors and another output file to the calorimeter. The output file of the detectors has the identification of 20,000 protons and the position each proton passed at coordinates x, y and z of the detector for each angle of incidence studied. Finally, the reconstruction of the image of the simulated phantom was performed using the Inverse Radon Transform in MatLab.

KEYWORDS: Geant4, Simulate, pCT, Reconstruction Image, Inverse Radon Transform.

INTRODUÇÃO

Em inúmeros centros de pesquisas são estudados meios para melhorar o tratamento e o prognóstico dos pacientes com câncer. O foco principal das pesquisas e do desenvolvimento das técnicas terapêuticas que utilizam radiação são a erradicação de células tumorais e a minimização da irradiação das células e tecidos saudáveis. O cenário ideal seria tratar o alvo desejado sem danificar qualquer estrutura saudável. Isso, no entanto, ainda é um desafio para a ciência. Existem incertezas na definição do volume alvo e incertezas no processo de definição da dose terapêutica. Além disso, a aplicação de terapias que utilizam radiação com feixe externo requer que o feixe penetre por tecido saudável até atingir o alvo. O planejamento dos tratamentos que utilizam radiação é fundamentado em formalismos matemáticos e físicos para entregar a dose desejada no alvo e limitar a dose a tecidos normais. Isso é particularmente importante em tecidos saudáveis radiosensíveis, que não devem ser irradiados, chamados de estruturas críticas [1].

Um ganho significativo na razão terapêutica pode ser alcançado através do uso da terapia por prótons ao invés da radioterapia convencional, de fótons [2]. O ganho terapêutico se deve a diferenças físicas que ocorrem na interação dos fótons e dos prótons com a matéria. A diferença mais importante entre feixes de fótons e feixes de prótons é o intervalo finito de um feixe de prótons [3]. Sendo possível direcionar o feixe de prótons apenas para a área de interesse ou muito próximo de uma estrutura crítica devido as características de deposição de energia deste tipo de feixe.

A profundidade que ocorre a deposição máxima de energia (*Pico de Bragg*) pode ser ajustada alterando a energia do feixe. Fazendo com que seja possível posicionar a máxima deposição de energia dentro do alvo para cada direção do feixe. Apesar

dos prótons partirem de uma única direção, o feixe é capaz de entregar uma dose homogênea ao longo do alvo, através da variação da energia do feixe [4].

Para localizar e identificar a região tumoral a ser irradiada pelo feixe de prótons, o paciente é submetido a exames de Tomografia Computadorizada (CT) e ressonância magnética nuclear [5]. As imagens adquiridas por esses exames servem de base para o planejamento da terapia por prótons. No intuito de aumentar a eficiência do tratamento por prótons, surgiu a ideia de construir um equipamento de tomografia computadorizada que utilize feixes de prótons (pCT). A grande motivação em se construir um pCT é unir no mesmo equipamento de terapia por prótons a capacidade de gerar imagens tomográficas utilizando o mesmo feixe. O resultado da união desses dois equipamentos é obter dados para o planejamento da terapia e posicionamento do tumor de forma simultânea, aumentando a precisão e rapidez do exame [6, 7, 8].

Com a pCT é possível reconstruir corretamente o mapa de densidade eletrônica fazendo uso do próprio feixe da terapia por prótons. Ao medir a perda de energia dos prótons de alta energia que atravessam o paciente, e repetindo a aquisição através de vários ângulos de incidência, é possível reconstruir a distribuição da densidade eletrônica dos tecidos irradiados de uma forma mais precisa e segura comparada com a densidade eletrônica relativa utilizada atualmente [9].

O atual desafio da pCT é diminuir o tempo de aquisição e aumentar a resolução espacial, uma vez que a resolução espacial obtida na Tomografia Computadorizada por Raios X ainda é maior. O primeiro centro dedicado exclusivamente no tratamento por prótons e pioneiro no desenvolvimento da pCT é o Centro Médico da Universidade de Loma Linda (*Loma Linda University Medical Center - LLUMC*), que conta com um protótipo de pCT com capacidade para trabalhar com valores de energia de até 250 MeV. O LLUMC está investido esforços para melhorar os detectores de feixes de alta energia e se concentrando na elaboração de novos algoritmos específicos de reconstrução de imagens para solucionar os problemas encontrados na obtenção de imagens clínicas [10].

Este trabalho tem como objetivo desenvolver uma aplicação que simule um sistema de pCT com as mesmas características do protótipo de LLMC, e realizar a reconstrução de imagem de pCT usando a Transformada Inversa de Radon [11].

MATERIAIS E MÉTODOS

A ferramenta computacional escolhida para desenvolver a simulação de uma pCT e um objeto de prova foi o Geant4 (*Geometry and Track*). A pCT desenvolvida em Geant4 seguiu o mesmo design do protótipo de LLMC.

Os dados da simulação são provenientes de um feixe monoenergético, com energia cinética inicial de 200MeV, e em *Pencil Beam*, de forma a cobrir toda a área do corte do objeto a ser imageado. Sendo o comprimento da linha de irradiação de 230mm.

O número de prótons simulados foi de 20.000 prótons ou 20.000 eventos. Na simulação o feixe incidiu de 0° a 360°, em passo de 2° ao redor do *phantom*.

O *phantom*, ou objeto de prova simulado, foi um paralelepípedo contendo em seu interior dois objetos de contraste, com dimensões, densidade e geometrias variadas. Sendo o *phantom* composto por um paralelepípedo, com dimensões 14,0cm x 14,0cm x 50,0cm constituído de água. Mais dois objetos de contraste, constituídos de osso compacto. Um com geometria cilíndrica e com raio de 5,0mm e comprimento 50,0cm e o outro objeto de contraste sendo um paralelepípedo de dimensões 20,0mm x 20,0mm x 50,0cm. Estas configurações podem ser vistas na Figura 1.

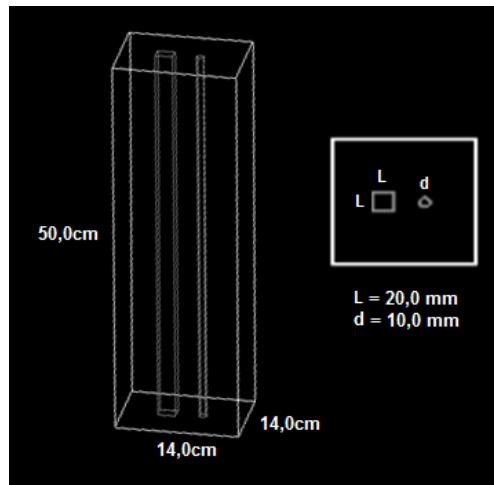


Figura 1: *Phantom* virtual. Na esquerda vista paralela com dimensões do paralelepípedo externo e na direita vista superior do *phantom* com dimensões dos objetos de contraste (d =diâmetro, L =lado).

Os detectores desenvolvidos são ideais, ou seja, com 100% de eficiência e foram posicionados anteriormente e posteriormente ao *phantom*.

Os detectores servirão para registrar a posição tridimensional (nos eixos x, y, z) e a energia (MeV) de cada próton ao passar pelo detector. A posição registrada nos detectores foi utilizada para traçar a trajetória mais provável que o próton teve ao interagir com o *phantom*. Por fim, temos um calorímetro para registrar a energia residual dos prótons. O calorímetro também é ideal, com 100% de eficiência.

Após o registro da posição dos prótons em cada um dos detectores, foi realizado um levantamento da trajetória média dos prótons. Os prótons com um desvio na trajetória acima da média foram desconsiderados. Eliminando assim os prótons que não contribuem para a reconstrução da imagem.

Para descrever o transporte de radiação pela matéria no Geant4, foi utilizada a recomendação para transporte de prótons na área da terapia, QGSP_BIC_EMY, descrita no exemplo avançado do Geant4, hadrontherapy, usando como critérios de corte para geração de partículas secundárias 0,01mm para prótons, 0,10mm para elétrons e 1,0mm para fótons. Nesta simulação foram consideradas para transporte as partículas primárias e todas as partículas secundárias geradas. Sendo o registro limitado somente à partícula próton.

Aplicação contém classes definidas pelo usuário que invocam as classes internas da ferramenta Geant4. Estrutura da base consiste em código para: 1) Administrar as informações para geração do universo virtual (*classe DetectorConstruction*); 2) Determinar a emissão dos prótons incidentes (*classe PrimaryGeneratorAction*); 3) Definir os processos e modelos de transporte, bem como, as características de geração de partículas secundárias (*classe PhysicsList*); 4) Definir os contadores e sistemas de registro da informação de interesse (*classes SteppingAction e RunAction*). O código apresentou também os “*messengers*” que são classes de comunicação do usuário com o código com a finalidade de evitar sucessivas compilações quando realizadas alterações no código fonte. Esse tipo de gerenciamento de dados permite a rastreabilidade da sequência de dados de entrada a cada execução, reduzindo problemas com alterações no código fonte e no tempo de execução final. Foram utilizados “*messengers*” na descrição do universo virtual, na seleção de modelos e processos de transporte, bem como na descrição da partícula primária (descrição da energia da fonte emissora).

A aplicação desenvolvida no Geant4 foi preparada para registrar as coordenadas x, y e z que cada um dos 20.000 prótons teve ao passar pelos detectores e pelo calorímetro para cada uma das 180 incidências. Assim como a energia cinética dos prótons ao atingir o calorímetro.

Após o registro da posição dos prótons em cada um dos detectores, foi realizado um levantamento da trajetória média dos prótons nos quatro detectores. Os prótons com um desvio na trajetória acima da média encontrada foram desconsiderados. Eliminando assim os prótons que não contribui para a reconstrução da imagem, devido ao acentuado desvio da sua trajetória ao interagir com o *phantom*.

Para avaliar os dados simulados em Geant4 e realizar a reconstrução da imagem do *phantom* construído em Geant4 foi utilizado a Transformada Inversa de Radon.

RESULTADOS

Foram construídos no Geant4 9.06.p03 um conjunto de classes contendo as especificações do feixe de prótons, dos detectores, do *phantom* e do calorímetro. Toda essa estrutura do pCT e do *phantom* com os dois objetos de contraste em seu interior (com bordas delimitadas em cinza) pode ser observada na parte superior da Figura 2. O mundo (parte preta, exceto região interna do *phantom* e do calorímetro) e os quatro detectores (com bordas em amarelo) são compostos por vácuo galáctico. Essa escolha foi realizada para desconsiderar qualquer interação do feixe com o universo ou com os detectores. Na parte inferior da Figura 2 é possível observar os dados de saída da simulação, associados aos respectivos detectores e ao calorímetro.

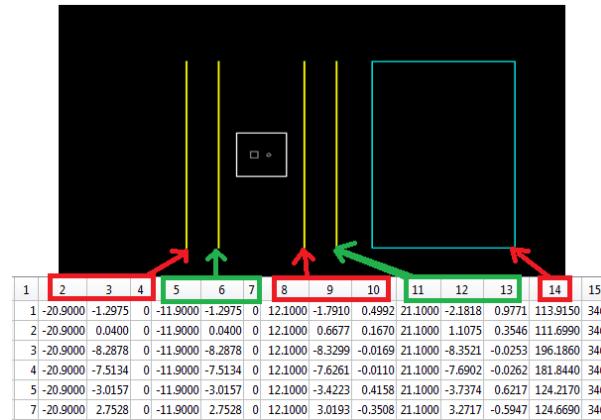


Figura 2: Vista superior do mundo simulado e a representação do conjunto de dados de saída. A coluna 1 a identificação dos prótons. As colunas 2 até 13 correspondem as coordenadas (x, y, z) em que o prótons passaram pelos 4 detectores. Coluna 14 é a energia residual dos prótons e a coluna 15 o ângulo de incidência.

De posse dos dados da simulados em Geant4, foi possível construir o sinograma, fazendo uso do MatLab. Sendo que o sinograma foi gerado agrupando, para cada ângulo, os prótons que seguiram um caminho aproximadamente linear ao passar nos quatro detectores, semelhante ao feixe de Raios x paralelo da Tomografia Computadorizada. Desta forma, prótons que seguiram o mesmo caminho, deveriam entregar aproximadamente a mesma energia no colorímetro. Logo, o valor da energia entregue por um feixe que seguiu por dado ângulo e deslocamento do centro, foi calculado através da mediana da energia entregue pelos prótons que seguiram o mesmo caminho do feixe. Em seguida foi realizado a reconstrução da imagem utilizando o método da Transformada Inversa de Radon presente no MatLab. A imagem (1024x1024 pixels) gerada pode ser observada na Figura 3.

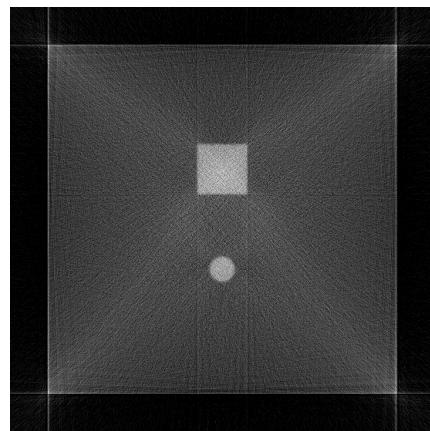


Figura 3: Imagem do *phantom* (1024 x 1024 pixels) reconstruída pela Transformada Inversa de Radon.

Na Figura 3 é possível visualizar nitidamente o paralelepípedo de maior dimensão (14,0cm x 14,0cm x 50,0cm), que tem como composição água, e os outros dois objetos de contraste. Constituídos de osso compacto. Sendo que um tem geometria cilíndrica (raio de 5,0mm e comprimento 50,0cm), o outro é um paralelepípedo (20,0mm x 20,0mm x 50,0cm).

DISCUSSÃO

Na Figura 1 temos a imagem do *phantom* desenvolvido e gerado no Geant4 e na Figura 3 temos a imagem reconstruída do *phantom* através da transformada Inversa de Radon. Comparando as duas imagens, fica evidente, que o conjunto de dados reconstruídos, utilizando a Transformada Inversa de Radon, condiz com o *phantom* desenvolvido no Geant4, tendo as mesmas dimensões descritas em Materiais e Métodos.

O motivo pelo qual o presente trabalho escolheu desenvolver uma aplicação que simule uma pCT nos moldes do protótipo de LLMC se deve a necessidade dos autores de adquirir dados de uma pCT ideal. Com intuito de desenvolver e testar, em trabalhos futuros, métodos de reconstrução de imagem que sejam satisfatórios ao designe do protótipo de pCT de LLMC e compatíveis com o tempo de processamento e resolução desejáveis para imagens clínicas.

Em trabalhos anteriores, de Penfold e colaboradores [10], foi desenvolvida uma aplicação em Geant4 com as mesmas características do protótipo de pCT de LLMC. No entanto, o *phantom* desenvolvido pelos pesquisadores era no formato circular o que diminui a capacidade de se estudar o Efeito de Borda. Efeito esse inerente da interação nuclear dos prótons com a matéria. A utilização de *phantoms* circulares também facilita a reconstrução de imagens, pois não apresente vértice. Por estes motivos acreditamos que o presente trabalho, por possuir um *phantom* com inúmeros vértices e, ainda, um objeto de contraste circular, possui mais elementos de testes e análises de novos métodos de reconstrução de imagem.

CONCLUSÃO

O conjunto de classes, desenvolvidos por este trabalho, se mostrou uma excelente alternativa para aquisição de dados de uma pCT ideal e com energia de feixe de prótons suficiente para aquisição de imagens médicas. Os dados adquiridos também servirão para testar e implementar outros métodos de reconstrução de imagem de acordo com o designe do protótipo de pCT de LLMC. Tendo com um propósito final, a buscar por um método que torne a pCT viável para o planejamento da terapia por prótons.

AGRADECIMENTOS

Os autores deste trabalho agradecem a CAPES, CNPq e a UTFPR pelo apoio e financiamento.

REFERÊNCIAS

- PAGANETT, H.; Proton Therapy Physics - Health Physics, 2012.
- WILSON, R. R.; Radiological use of fast protons. Radiology, v. 47, n. 5, p. 487–91, nov. 1946.
- KHAN, F. M.; Brachytherapy: The Physics of Radiation Therapy. 2nd ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1994.
- CHEN, G. T. Y.; SINGH, R. P.; Treatment Planning for Heavy Ion Therapy, International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, Vol. 5.
- Schulte, R.; Bashkirov, V.; Li, T., Liang, Z. Mueller, K.; Conceptual Design of a Proton Computed Tomography System for Applications in Proton Radiation Therapy, IEEE Trans. Nuclear Science, 2004.
- SCHULTE, R.; Strategies for Image-guided Proton Therapy of Cancer. Touch Briefings, 2007. Disponível em: <http://www.touchbriefings.com/pdf/2812/Schulte.pdf> Acesso em: 20/01/2016.
- WANG, D.; MACKIE, T. R.; On Proton CT Reconstruction Using MVCTconverted Virtual Proton Projections. Medical physics, v. 39, n. 6, p. 2997 –3008, 2012, ISSN 0094-2405.
- SCHAFFNER, B.; PEDRONI, E.; The precision of proton range calculations in proton radiotherapy treatment planning: experimental verification of the relation between CT-HU and proton stopping power, Phys. Med. Biol. 43, 1998.
- SIPALA, A. Proton Computed Tomography System for Medical Applications, 2013.
- PENFOLD, S. N.; SCHULTE, R. W.; “Total variation superiorization schemes in proton computed tomography image reconstruction”, Medical Physics, 37, 5887–5895, 2010.
- RADON, J., PARKS, P. C.; “On the determination of functions from their integral values along certain manifolds”, IEEE Trans Med Imaging, 1986;5(4):170-6, DOI: 10.1109/TMI.1986.4307775.

REVITALIZAÇÃO DE PROCESSADORAS AUTOMÁTICAS KODAK M35 X-OMAT PROX PROCESSOR

Fabricio Loreni da Silva Cerutti
Jesiel Ricardo dos Reis
Oseas Santos Junior
Juliana do Carmo Badelli
Andressa Caron Brey
Jorge Luis Correia da Silva
Marcelo Zibetti

RESUMO: Este trabalho tem como objetivo descrever a revitalização de duas Processadoras Automáticas de Filmes Radiológicos. As Faculdades Ponta Grossa (FacPG) receberam de doação duas Processadoras de Filmes Radiológicos modelo *Kodak M35 X-Omat ProX Processor*, de uma Clínica de radiodiagnóstico. A clínica instalou as processadoras em 1998 e as utilizou até 2008. De 2008 a 2015 os equipamentos não foram utilizados e não tiveram qualquer tipo de manutenção. As duas processadoras foram desmontadas e limpas. Uma processadora será utilizada para fins didáticos e não será remontada. Já a segunda processadora foi restaurada. Foi realizada a substituição das mangueiras, braçadeiras e filtros. Os sensores de segurança de passagem de filme, de tração, de temperatura e do painel elétrico (tempo de estágio de seco a seco, painéis de fusíveis, relê de proteção de temperatura e sobrecarga) também tiveram que

ser substituídos ou revisados, pois estavam queimados ou apresentavam defeito no funcionamento. Por fim, foi remontada toda a processadora (módulo do revelador, módulo do fixador, módulo água e o processo de secagem). Foram realizados testes para a calibração do ajuste de tempo de seco a seco e o ajuste das temperaturas (do revelador, do fixador e da água). Portanto, essa processadora se encontra em perfeitas condições de uso no laboratório de Radiologia das Faculdades Ponta Grossa. A mesma pode ser ajustada para o uso em Raios X Convencional e Mamografia, com diferentes tempos de exposição dos filmes aos químicos e com regulagem de temperatura de acordo com as diferentes especificações técnicas dos filmes radiográficos.

PALAVRAS-CHAVE: Revitalização, Processadoras Automáticas, Revelação de Filmes Radiográficos.

ABSTRACT: This paper aims to describe the renewal of two Automatic Processors for Radiograph Films (PA). The institution Faculdades Ponta Grossa (FacPG) received as a donation two PA, model M35 Kodak X-Omat Processor ProX, from a clinic. This clinic installed the processors in 1998 and used until 2008. From 2008 to 2015, they were not being used and they had not had any maintenance. The two processors were dismantled and

cleaned. One of the processors will be used for teaching purposes and will not be reassembled. As for the other one, the replacement of the hoses, clamps and filters was performed. The film crossing safety sensors, traction, temperature and electrical panel (dry to dry stage time, fuse panels, temperature protection relay and overload) also had to be replaced or inspected, as they were burned or had defective operation. Finally, the entire processor was installed (developer module, module fastener, water module and the dryer process). Tests were carried out to calibrate the setting time dry to dry and temperatures adjustment (developer, fixer and water). Therefore, this processor is in perfect condition and it is located in the radiology lab of FacPG. It can be adjusted for conventional X-ray and mammography, with different exposure times of the films to chemical and temperature control according to the technical specifications of radiographic films.

KEYWORDS: Revitalization, Automatic Processor for Radiograph Films.

INTRODUÇÃO

As Processadoras Automáticas (PAs) são equipamentos utilizados em radiodiagnóstico, principalmente em Raios X Convencional e Mamografia, para realizar a revelação dos Filmes Radiográficos (FR) de uma forma automatizada [1]. Com a utilização das PAs é possível controlar a concentração e a temperatura dos químicos (Fixador e Revelador) e o tempo de exposição dos FR aos químicos [2]. Antes das PAs era utilizada a revelação manual. Para a revelação manual é necessário colocar os FR em tanques com os químicos à temperatura ambiente. Como não possuem um sistema de reposição dos químicos, é difícil obter um controle na qualidade da concentração dos mesmos. O processo manual de revelação pode causar perda de informação ou diminuição na qualidade da imagem registrada no FR, devido ao baixo controle do processo de revelação.

Uma das normas que a portaria nº 453/98 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde traz é a obrigatoriedade da implantação de um programa de garantia de qualidade (PGQ) em toda instituição que faça uso de radiações ionizantes [3]. O PGQ tem como foco três objetivos: melhorar a qualidade da imagem radiográfica, reduzir custos e a doses fornecidas aos pacientes. Um dos aspectos mais importante para a PGQ é garantir que as PAs estejam devidamente funcionando, caso contrário pode haver necessidade de utilizar doses de radiação mais altas para os pacientes, além da diminuição da vida útil do equipamento e degradação da qualidade da imagem [4,5,6].

Atualmente os centros de diagnóstico por imagem com maior poder aquisitivo passaram a trabalhar com revelação digital, a qual não utiliza filmes radiográficos e, portanto não faz uso das processadoras automáticas. A revelação digital permite a impressão da imagem radiografada diretamente em películas de papel. Trata-se de um processo mais simples por não depender de controle da temperatura e concentração

de um preparo de químicos. No entanto, ainda é não é uma realidade em muitos dos hospitais que atendem ao Sistema Único de Saúde ou em clínicas e hospitais de pequeno porte. Portanto, o conhecimento a respeito do correto funcionamento das PAs é indispensável para profissionais que trabalham ou irão trabalhar em hospitais e clínicas que fazem uso de equipamentos de diagnóstico por imagem.

As Faculdades Ponta Grossa (FACPG) receberam de doação, em 2015, duas processadoras de filmes radiológicos automáticas modelo Kodak M35 X-Omat ProX Processor, de uma clínica de radiodiagnóstico. As PAs foram instaladas na clínica em 1998 e foram utilizadas até 2008. Durante o período que não foram utilizadas as PAs foram depositadas em uma sala sem os devidos cuidados para reaproveitamento dos equipamentos. Uma das processadoras ficou guardada com químicos (revelador e fixador) em seus tanques e mangueiras. Uma equipe formada por professores e alunos do curso de Tecnologia em Radiologia das FACPG decidiu revitalizar essas processadoras para uso didático e para eventual utilização da comunidade interna e externa.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização da revitalização das PAs é necessário desmontar completamente os equipamentos para efetuar a limpeza dos rolos, das bandejas, braçadeiras, dos filtros, das bombas de sucção e retorno dos três tanques (tanque do revelador, tanque do fixador, tanque da água), assim como do módulo de secagem de filme. Em seguida, é preciso realizar a manutenção da parte elétrica, que inclui os sensores de segurança de passagem de filme, de tração, de temperatura e o painel elétrico que controla o tempo do estágio de seco a seco.

Por fim, precisa-se remontar a PA e calibrar, de acordo com as especificações técnicas do fabricante das PAs, o controle da temperatura dos químicos, da velocidade de rotação dos rolos e do processo de secagem (turbina de ar e resistências) utilizando um filme 35x43cm.

RESULTADOS

Ao desmontar a primeira processadora (PA1) que foi guardada com químicos nos tanques do revelador e do fixador, se observou um alto grau de deterioração da sua estrutura metálica tornando inviável a sua revitalização. Como pode ser visualizado na Figura 1:



Figura 1: Foto da região interna da primeira PA com partes metálicas oxidadas logo a baixo dos tanques dos químicos.

Já a segunda PA (PA2), foi possível completar a revitalização. Para isso a PA2 foi desmontada completamente para a limpeza dos rolos, das bandejas, das bombas de sucção e retorno. Também se fez necessário a substituição das mangueiras, braçadeiras e filtros. Na Figura 2 é possível visualizar a PA2 desmontada.



Figura 2: PA2 desmontada para limpeza.

Os sensores de segurança de passagem de filme, de tração, de temperatura e do painel elétrico (tempo de estágio, de seco a seco, relê de proteção de temperatura e sobrecarga, painéis de fusíveis) também tiveram que ser substituídos ou revisados, pois estavam queimados ou apresentavam defeito no funcionamento. Na Figura 3 é possível visualizar a parte do controle elétrico da processadora.



Figura 3: Painel elétrico e o painel de fusíveis da PA2.

Após realizar o processo de manutenção e remontar a PA2, foi revelado um filme 35x43cm e calibrada a reposição e temperatura dos químicos e da água de acordo com as especificações presentes no manual do fabricante das PAs. Na Figura 4 e 5 é possível visualizar a PA2 sendo montada e em seguida o resultado final obtido.



Figura 4: PA2 parcialmente montada.



Figura 5: PA2 completamente montada e pronta para uso.

DISCUSSÃO

A PA1, por ter sido guardada com químicos em seus tanques, sofreu um processo acentuado de deterioração impedindo a revitalização. Optou-se por deixá-la desmontada e utilizá-la para fins didáticos. Já com a PA2 foi possível alcançar o objetivo principal, que era a revitalização da PA mantendo os padrões de qualidade que o radiodiagnóstico exige e cumprindo os requisitos técnicos de controle de qualidade exigidos na Portaria 453 do Ministério da Saúde.

As condições que as PAs são descartadas ou guardadas afetam diretamente as chances de revitalização e a probabilidade das PAs serem reutilizadas por clínicas menores. O descarte dos químicos tem que ser feito seguindo as normas estabelecidas na Resolução RDC N° 306, de 7 de Dezembro de 2004 da ANVISA. De forma a proteger o meio ambiente e evitar acidentes com agentes químicos.

Os químicos, principalmente o revelador pode apresentar uma concentração alta de prata metálica, metal pesado, que se não for descartado e tratado de uma forma correta é altamente prejudicial para os seres vivos. Existem empresas especializadas em recolher os químicos e retirar a Prata Metálica dos químicos reembolsando parte do lucro da obtenção da Prata. É de suma importância que as processadoras sejam descartadas ou guardadas sem qualquer resquício de químicos radiológicos.

A forma correta de manter uma PA inativa, para que se tenha a possibilidade de reutiliza-la no futuro, é secar os tanques de químicos, secar os rolos e manter a PA em um local com temperatura e umidade controlada. Assim evitará a deterioração das estruturas metálicas e elétricas e dos rolos da PA.

As peças repostas das PAs foram conseguidas pelos alunos através de doações da comunidade externa. Portanto, a revitalização não teve custo para a instituição de ensino.

CONCLUSÃO

Com a realização do processo de revitalização da PA, mostrou-se possível a

reutilização das PAs que estão sendo descartadas no processo de digitalização das grandes clínicas e hospitais. Como muitas pequenas clínicas ainda fazem uso da Revelação Manual, a revitalização de PAs pode ser uma alternativa mais eficiente para a revelação dos filmes radiográficos.

O projeto de revitalização também ocasionou uma forte interação entre os discentes com os docentes, processo esse fundamental para o desenvolvimento acadêmico e profissional.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as Faculdades Ponta Grossa e a clínica que doou o maquinário pelo total apoio e incentivo no projeto apresentado.

REFERÊNCIAS

Kodak. X-Omat processor's documentation.

OPERATOR'S MANUAL for the Kodak M35 X-Omat PROCESSOR Kodak M35A X-Omat PROCESSOR

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria MS 453/98, de 02 de junho de 1998. In: Diário Oficial da União. Diretrizes de proteção radiológica em radiodiagnóstico médico e odontológico do Ministério da Saúde. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 1998.

Medeiros RB, Curci KA, Carrieri FCD. Controle de qualidade no processamento de imagens radiológicas. Radiol Bras 1992;25:19–21.

Asd Magalhães LAG. Controle de qualidade de processadoras automáticas. [Dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: UFRJ, 2001.

Corte RE. Implantação de um programa de controle de qualidade de imagens radiográficas em um hospital de grande porte. [Dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto: FFCLRP/USP, 2000.

SIMULADOR MATERNO FETAL

Rodrigo Lopes Rezer

Hospital Moinhos de Vento, Engenharia Clínica

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

Marcelo Antunes Marciano

Hospital Moinhos de Vento, Engenharia Clínica e

Hospitalar

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

Anderson Alves dos Santos

Hospital Moinhos de Vento, Engenharia Clínica

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

comparação é possível conferir o correto funcionamento do equipamento testado.

PALAVRAS-CHAVE: Monitor Fetal, Controle de Qualidade, Simulador Biomédico, Arduíno.

ABSTRACT: This study describes the implementation of an automated prototype low-cost , open source platform that simulates maternal fetal signals, allowing the testing of fetal monitors and detectors. The purpose is to ensure the use of safe and effective way in maternal fetal monitoring equipment in hospitals, since the simulator is designed to assess the correct operation of the equipment. Another possible application of the simulator is as a teaching tool. The results are demonstrated in man machine interface views of measurements of fetal movement, uterine activity and fetal heart rate, generated by the simulator. The values shown in man machine interface can be compared with those provided by the fetal monitor. With this comparison you can check the correct functioning of the equipment tested.

KEYWORDS: Fetal Monitor, Quality Control, Biomedical Simulator, Arduino.

1 | INTRODUÇÃO

O interesse nas arritmias cardíacas fetais tem aumentado nos últimos anos,

RESUMO: É apresentado neste trabalho a implementação de um protótipo automatizado de baixo custo, em plataforma de código aberto, que simula sinais materno fetal, permitindo a realização de testes dos monitores e detectores fetais. A finalidade é garantir a utilização destes equipamentos de forma segura e efetiva na monitoração materno fetal em ambientes hospitalares, visto que o simulador serve para avaliar o correto funcionamento do equipamento. Outra possível aplicação do simulador é como ferramenta de ensino. Como resultados são demonstradas na interface homem máquina as visualizações das medições da movimentação fetal, da atividade uterina e da frequência cardíaca fetal, geradas pelo simulador. Os valores demonstrados na interface homem máquina podem ser comparados com os disponibilizados pelo monitor fetal. Com esta

consequentemente uma maior demanda na utilização de métodos para monitoração fetal (LINDSEY, A. D; et al, 1983). A função do monitor fetal eletrônico é detectar e gravar tanto a frequência cardíaca do feto quanto a atividade uterina da mãe em trabalho de parto (ZIELINSKY, P, 1997). Para verificarmos o funcionamento eletrônico do monitor materno fetal há necessidade de realizar testes de performance. Os ensaios são divididos em duas partes – avaliação qualitativa (que consiste na inspeção visual das condições estruturais dos equipamentos, partes, módulos e acessórios) e testes quantitativos (que consiste na medição ou simulação de parâmetros/grandezas biomédicas do equipamento) (LUCATELLI, M. V.; et al, 2003).

Uma alternativa para o teste é utilizar simuladores. Os mesmos visam apresentar situações práticas vivenciadas no dia-a-dia (DIAS, C. F.; et al, 2014). O uso de simulação também permite novas abordagens para o ensino e práticas médicas, denominadas de Medicina Baseada em Simulação. Por exemplo, os estudantes podem usar simulações anatômicas e fisiológicas para prever os resultados de procedimentos e, assim, acompanhar os resultados de tratamentos a pacientes virtuais (VILLAMIL, M.B, 2009). O aperfeiçoamento de simuladores para a área da saúde se dá, em grande parte, no uso e refinamento da Inteligência Artificial baseada em microprocessadores. Nos simuladores são utilizados algoritmos que podem manipular conceitos, mecanismos e etc (ALMEIDA, M.C.; et al, 2011).

O Arduino é uma ferramenta microprocessada de fácil manipulação, que possibilita a utilização na medicina baseada em simulação. A plataforma Arduino é baseada num sistema microcontrolador muito versátil que potencializa suas funções para além de uma simples interface passiva de aquisição de dados, podendo operar sozinho no controle de vários dispositivos (SOUZA, A.R.; et al, 2011). Devido a necessidade de testar os monitores materno-fetais, desenvolver um processo de qualidade rigoroso permite estimar o grau de deterioração do equipamento. Fornece informações sobre os componentes defeituosos e verifica a qualidade dos reparos efetuados (OLIVEIRA, L.M.; et al, 2011). Em processos de melhoria contínua, a implantação do controle de qualidade tem o objetivo de garantir a segurança e confiabilidade dos resultados dos diagnósticos (SEVERO, L. S.; et al, 2001).

Outro ponto relevante a considerar é a necessidade do envolvimento da equipe médica assistencial no desempenho da tecnologia médica hospitalar. Além de entender a tecnologia utilizada, a equipe assistencial (médicos, enfermeiros etc) precisará se envolver cada vez mais no ciclo de vida de um equipamento. Auxiliar na redução de custos e maximização dos benefícios clínicos. Interagir com os engenheiros clínicos para garantir uma manutenção preventiva efetiva com a realização de testes com simuladores. E participar da fase de avaliação de substituição de uma tecnologia obsoleta ou insegura (Ministério da Saúde, 1998). Para suprir esta necessidade, desenvolvemos um protótipo com o objetivo de simular contrações uterinas e batimentos fetais, por meio de sistema de baixo custo e automatizado. De fácil aplicação em universidades e hospitais que busquem ter padrões de qualidade nos testes dos monitores materno-

fetais.

2 | MÉTODO

Na figura 1 tem-se o fluxo das etapas seguidas para desenvolvimento do trabalho. Com os dados especificados, calculados, modelados e simulados, então o protótipo foi projetado, desenvolvido e testado, conforme fluxo a seguir demonstrado pela figura [1].

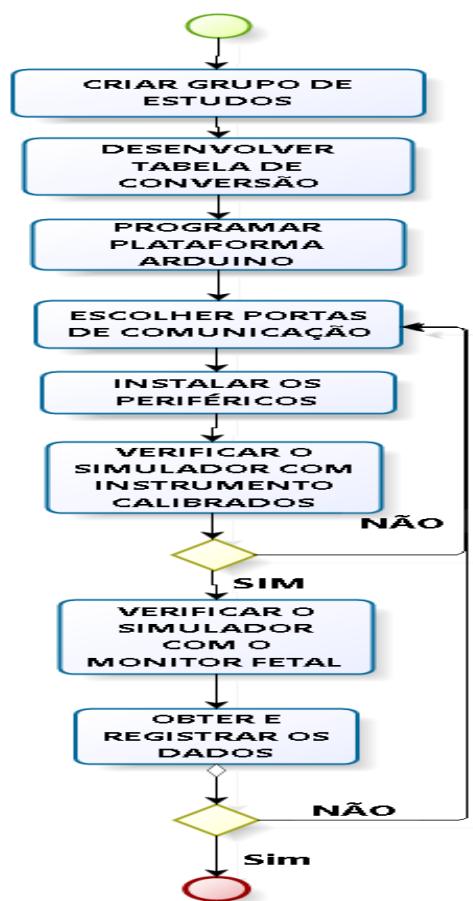


Figura 1- Fluxo do método

Inicialmente foi organizado um grupo de estudos para avaliar possíveis soluções para um protótipo de baixo custo para simulação materno fetal. Foram realizados vários acompanhamentos no centro obstétrico, juntamente com o grupo de enfermagem para mensurar as reais situações de um exame pré-natal.

Conforme demonstrado pelo fluxograma da figura 1, as demais etapas, estão descritas a seguir:

Para que fosse possível realizar esta etapa foram utilizados dois cálculos de conversão, dentro dos limites do processador e dos requisitos para o monitor materno fetal, conforme equação 1 e 2:

$$1\text{BPM} = 1/60 \text{ Hz} \quad (1)$$

$$T = 1/f \quad (2)$$

Através destes cálculos foi desenvolvida a tabela 1, com os parâmetros para desenvolvimento do programa. Foram utilizados os períodos que tiveram resultados de números inteiros, para facilitar a programação.

(BPM)	(Hz)	Período(ms)
30,0	0,5	2000,0
60,0	1,0	1000,0
90,0	1,5	666,7
120,0	2,0	500,0
180,0	3,0	333,3
240,0	4,0	250,0

Tabela 1: Conversão - Relação entre Frequência Cardíaca (BPM), Frequência (Hz) e Período (ms)

Programa – Nesta etapa tratou-se da programação da plataforma Arduino (figura 2), com um princípio de linguagem C. Com base na tabela 1, foram descritos no programa os períodos de cada batimento, fazendo com que cada um dos mesmos, permanecessem por um minuto. Após ter esta etapa percorrida, foi programado o sinal de movimentação fetal, com estímulo de cinco pulsos com intervalos de um minuto. Posteriormente foram delineadas as linhas de programação do sensor de pressão responsáveis por controlar a bomba de pressão, fazendo com que se obtivesse uma variação de pressão de 0 – 100 mmHg. Estabilizado o circuito por um minuto na pressão de 50 mmHg, após chegar a pressão máxima, a válvula deve abrir, zerando a pressão do sistema. Por último foi programado e apresentado no display, os pulsos de movimentação fetal (figura 5), a pressão uterina (figura 6) e os batimentos/freqüência cardíaca do feto (figura 7).

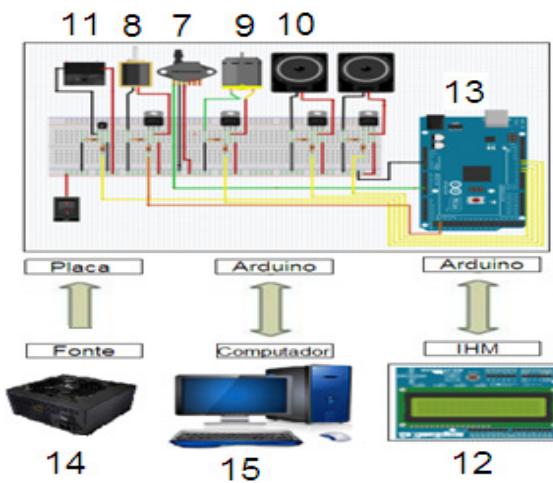


Figura 2 – Diagrama do Circuito com a Plataforma Arduino

Instalação dos periféricos – O sistema utilizou uma chave seletora on/off. A alimentação da placa e dos periféricos foi através de uma fonte de computador. Para o dispositivo eletromecânico (auto-falante, que é o responsável pela emissão da onda sonora que estimulará o transdutor ultrasônico do monitor fetal), foi utilizado o TIP

122 que recebeu alimentação de 12V da fonte chaveada. O controle da simulação do movimento fetal se deu pela utilização do relé de 12V com um contato NA. O sensor de pressão utilizado foi o MPX5700DP, que controlava a pressão dentro do PNI neonatal, ligado diretamente na entrada do Arduino. O sensor foi alimentado pela fonte com 12V. A bomba de pressão foi ligada no componente TIP122 e alimentada com 12V pela fonte chaveada. A válvula ligada em um TIP122 recebeu o controle da placa principal e também alimentada pela fonte com 12V. O display foi conectado sobre a placa do processador.

Microcontrolador – Foi utilizado neste protótipo o Arduino Mega, de plataforma de código e hardware livre que possui seu próprio compilador, desenvolvido para alcançar pessoas que possuam pouco conhecimento em programação.

O microcontrolador utilizado na Arduino MEGA 2560 é o ATTEL ATmega2560, um microcontrolador de 8 bits de arquitetura RISC avançada. Ele conta com 256 KB de Flash (mais 8 KB são utilizados para o *bootloader*), 8 KB de RAM e 4 KB de EEPROM. Chega 16 MIPS, operando em 16 MHz. Arduino baseado em Atmel ATMEGA, dentre as quais pode-se destacar 4 canais de comunicação serial, 16 entradas analógicas e 15 saídas PWM. Possui ainda comunicação SPI, I2C e 6 pinos de interrupções externas. A placa MEGA 2560 possui 54 pinos de entradas e saídas digitais que podem ser utilizadas como entrada ou saída. Os pinos operam com tensão de 5V e podem fornecer ou drenar até 40 mA. Cada pino possui resistor de “pull-up” interno que pode ser habilitado por software. Possui 16 entradas analógicas (pinos A0 a A15), onde pode ser feita a conversão com uma resolução de 10 bits, ou seja, o valor será convertido entre 0 e 1023.

IHM – Para que o simulador pudesse ter mobilidade e fácil interface entre o operador e o dispositivo, foi optado por utilizar o sistema IHM da plataforma Arduino.

Driver – Para controle dos dispositivos eletromecânicos foi utilizado o TIP122.

Fonte de alimentação – padrão 12V, 2.3A, Potência real de 500 Watts, Eficiência > 70%, MTBF de 100.000 horas, 250 C, Proteção interna contra curto circuito OVP/ OCP/ SCP, Entrada AC com chaveamento manual 110/ 220 V, Baixo ruído acústico, Cabos com capa de proteção, Sistema de controle térmico de refrigeração, Ventilador silencioso de 120mm, Normas técnicas IEC60950 (segurança elétrica), IEC61000 (segurança eletromagnética), Chave Liga / Desliga.

Bomba de diafragma – A bomba de diafragma foi utilizada para introduzir pressão sobre uma membrana plástica controlada pelo sensor de pressão, gerando pressões para o toco.

Relé – com um NA/NF de 12V.

Alto falante – 4 Ω/ 66W.

Manguito neonatal – Manguito de PNI neonatal com um tubo.

Válvula – Válvula com solenoide de 12V .

Sensor de Pressão - MPX5700DP.

TIP122 - 5 A, transistores de potência, 60 volts, 65 watts.

Na figura 3 é demonstrado o fluxograma do circuito ou diagrama de bloco das funções do sistema.

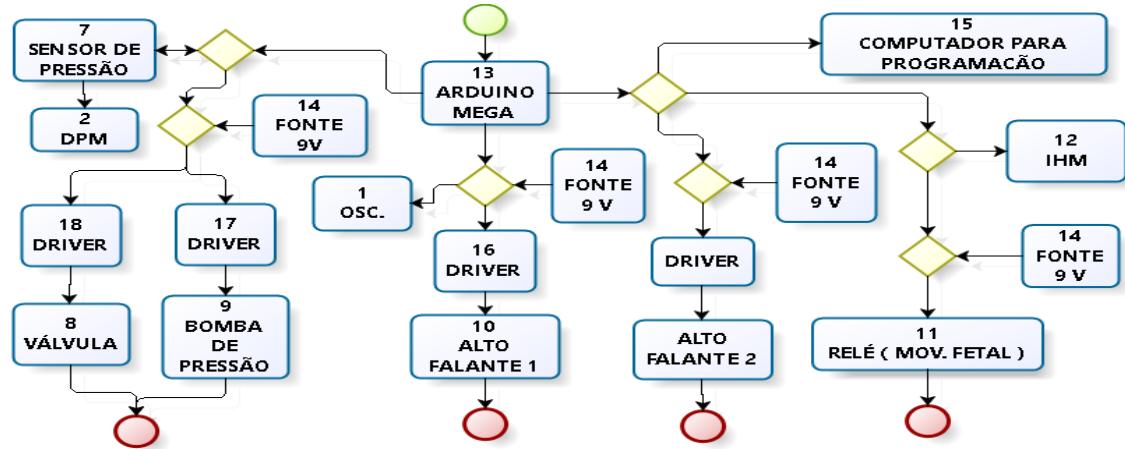


Figura 3 – Fluxograma do circuito

3 | RESULTADOS

Após conectar todos os periféricos e rodar o programa, como forma de verificar se o simulador estava com o mínimo de incerteza, para obter confiabilidade do protótipo, foi conectado o osciloscópio digital (figura 4) nas saídas PWM uma de cada vez na placa e o DPM2 conectado no circuito de pressão. Acompanhou-se o ciclo do programa monitorando através deste osciloscópio calibrado com rastreabilidade.

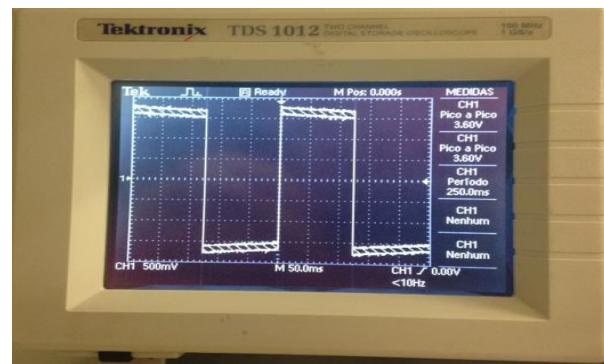


Figura 4– Frequência gerada pelo arduíno

Para obter os resultados finais, foram conectados os transdutores do monitor fetal no simulador e realizados cinco testes. O simulador respondeu satisfatoriamente aos testes.

Como evidências são demonstradas a seguir as fotografias da IHM, com a visualização da medição da movimentação fetal (figura 4), da atividade uterina (figura 5) e da freqüência cardíaca fetal (figura 6).



Figura 5 – IHM movimentação fetal



Figura 6 – IHM atividade uterina



Figura 7– IHM frequência cardíaca fetal

Como complementação dos resultados, a figura 8 demonstra a fotografia do sistema no teste deste protótipo.

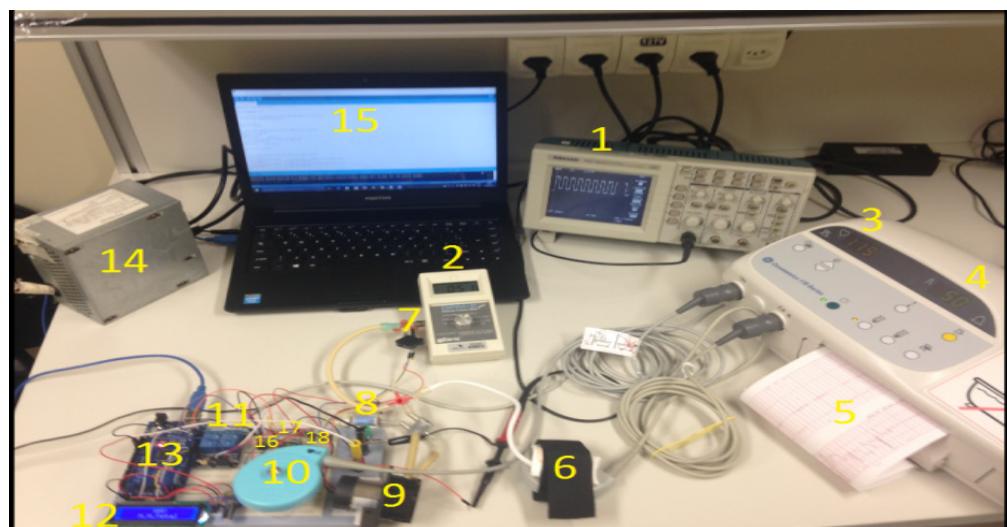


Figura 8 - Teste do protótipo

Foram incluídos nas figuras 3 e 8, a identificação por numeração dos blocos e partes do sistema para facilitar a compreensão e identificação.

4 | DISCUSSÃO

Não foi tão simples reproduzir os BPM por um sistema eletro-mecânico e desenvolver uma estrutura que comportasse os sensores de diversos modelos, com o intuito de realizar um protótipo de baixo custo.

Uma das dificuldades também foi a de transformar o “lixo eletrônico” (componentes em desuso) disponível em componentes apropriados para utilização no simulador proposto.

Uma das melhorias para o projeto poderá ser o sistema conectado pelo WIFI

para transmitir para nuvem o armazenamento das informações e dados coletados dos detectores fetais, identificados por patrimônio ou um código de identificação.

Também fica como proposições de melhorias e estudos futuros o desenvolvimento de dispositivos para analisar PNI, ECG e teste elétrico, de forma integrada por adição de módulos ao simulador.

O programa foi de alguma forma, simples de estruturação pelo fato que a plataforma Arduino possui muitos tutoriais na internet.

5 | CONCLUSÃO

O objetivo de simular contrações uterinas e batimentos fetais, por meio de sistema de baixo custo, automatizado e de fácil aplicação com intuito de obter padrões de qualidade nos testes dos monitores materno-fetais realizados pelos serviços de engenharia clínica, foi atingido. De qualquer forma, melhorias, desdobramentos, desenvolvimentos e novas validações, são passíveis de realização.

REFERÊNCIAS

Almeida M.C.; Tavolaro C. R.; Molisani E. **Rev. Bras. Ensino Fís.** Vol.33 n.4.São Paulo. Oct./ Dec, 2011.

Dias C. F.; Rosecler M. B.; Mussoi R. B. **Revista Brasileira de Informática na Educação.** Volume 22, Número 2, 2014.

Lindsey A. D.; Robert H. A; Sullivan I. D.; Campbell S.; Holt D.W.; Tynan M. **Evaluation of fetal arrhythmias by echocardiography.** Br Heart J, 1983.

Lucatelli, M. V.; Batista M. B.; Silva H. P.; Garcia R. **Metrologia para a Vida.** Sociedade Brasileira de Metrologia (SBM). Setembro 01-05, 2003.

Ministério da Saúde. **Avaliação tecnológica em saúde: subsidiando a melhoria da qualidade e eficiência do SUS (Reforsus).** Brasília (DF): Ministério da Saúde, 1998.

Oliveira, L.M.; Maia, J.M.; Gamba, H.R; Gewehr, P.M.; Pereira, W.C.A. **Avaliação da qualidade de imagens de equipamentos de ultrassom modo-B.** Revista Brasileira de Engenharia Biomédica, V.26, n1, p.11-24. Abril, 2010.

Severo, L.S.; Lammoglia, R.S.; Saito, R.H; Reis,G.; Furquim,T.A.C.; Costa, P.R.; Herdade, S.B. **Aplicação dos Testes de Verificação dos Indicadores da Qualidade de Equipamentos de Ultrasonografia.** Instituto de Eletrotécnica e Energia da USP, 2001.

Souza A.R.; Paixão A.C.; Uzêda D.D.; Dias M.A.; Duarte S.; Amorim H.S. **A placa Arduino: uma opção de baixo custo para experiências de física assistidas pelo PC.** Revista Brasileira de Ensino de Física, v.33, n.1, p.1702, 2011.

Villamil Marta Becker. **Modelagem e Simulação da Articulação Temporomandibular.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Informática. Programa de Pós-Graduação em Computação, 2009.

Zielinsky, P. **Arritmias cardíacas fetais: papel da ecocardiografia pré-natal no diagnóstico e na terapêutica intrauterina.** In: Cruz FES, Maia IG. Eletrofisiologia Clínica e Intervencionista das Arritmias Cardíacas. Rio de Janeiro: Ed. Rev. Interna:31723, 1997.

UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS (CAE) NA OTIMIZAÇÃO DE PRÓTESES DE MÃO.

Francisco Gilfran Alves Milfont

Universidade de Pernambuco-Escola Politécnica
de Pernambuco, Recife- PE.

Luiz Arturo Gómez Malagón

Universidade de Pernambuco-Escola Politécnica
de Pernambuco, Recife- PE.

RESUMO: Este trabalho mostra a utilização do programa ADAMS/View, o qual é uma ferramenta *Computer Aided Engineering (CAE)*, no projeto de próteses de mão. Especificamente, o sistema de acionamento, baseado no mecanismo de quatro barras, e o torque de acionamento, aplicado em um único ponto, foram otimizados no projeto do dedo protético. O dedo escolhido para o estudo foi o de número III (dedo médio), por ser o mais longo e exigir um maior torque para realizar seu movimento. Os resultados mostram a evolução temporal dos parâmetros cinemáticos e cinéticos da prótese em um movimento de flexão, sob a restrição de preensão palmar plena e de força constante na extremidade do dedo. O mesmo procedimento pode ser estendido aos outros dedos, devido à possibilidade oferecida pelo software de parametrizar as variáveis de projeto.

PALAVRAS-CHAVE: Próteses de mão, Otimização, Ferramentas CAE.

ABSTRACT: This work shows the use of ADAMS

/ View program, which is a Computer Aided Engineering tool (CAE), in hand prosthesis design. Specifically, the drive system based on the four-bar mechanism, and the drive torque applied to a single point, have been optimized in the prosthetic finger design. The selected finger for the study was the number III (middle finger), being the longest and, therefore, require a higher torque to its movements. The results show the evolution of the kinematic and kinetic parameters of the prosthesis in a flexion movement, under the constraint of full grip and constant force on the finger tip. The same procedure can be extended to other fingers due to the possibility offered by the software to parameterize the design variables.

KEYWORDS: Hand Prosthesis, Optimization, CAE Tools.

1 | INTRODUÇÃO

A mão humana é considerada, em termos mecânicos, um dos sistemas mais complexos do corpo humano [1]. Ela é composta de 27 ossos, que atuam como alavancas, 19 articulações e 29 músculos que acionam estas alavancas permitindo os seus movimentos [2]. Somente 17 destas articulações funcionam como juntas ativas, representando um total de 22 graus de liberdade (GL).

Nas articulações com um GL, ocorrem os movimentos de flexão/extensão dos dedos, enquanto que nas que possuem dois GL ocorre, além da flexão/extensão, também os movimentos de abdução e adução. Um pseudo GL está presente no polegar, que permite o seu movimento de circundução. Porém, como este movimento é dependente de outros graus de liberdade, ele não é considerado um GL verdadeiro [3].

Projetos de próteses de mão que sejam funcionais, estéticos e que apresentem velocidades de resposta e forças equivalentes ao membro natural ainda é um grande desafio [1]

A utilização de ferramentas computacionais CAE, para a concepção, simulação e otimização é um recurso importante para o projeto de sistemas mecânicos. Seu uso permite melhorar a funcionalidade do sistema, diminuir a massa, a potência consumida, entre outras características, além de proporcionar grande flexibilidade de projeto com significativa redução de tempo e de custos.

O principal propósito deste estudo foi minimizar o torque necessário para executar o movimento de flexão de dedos para próteses de mão.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

A ferramenta CAE utilizada foi o software MSC ADAMS/View 2014 Student Edition [4]. Esta é uma robusta ferramenta que permite a modelagem, a simulação e a otimização de qualquer sistema mecânico. A prototipagem virtual torna possível redução do tempo e custo do projeto e, ao mesmo tempo, permite uma melhor qualidade e funcionalidade do produto final.

O ADAMS/View é largamente utilizado pela indústria, principalmente a automobilística e aeroespacial na elaboração de projetos de alta complexidade. Ele oferece grande flexibilidade, permitindo importar e exportar a dinâmica do sistema, interagindo com outros *softwares CAE* e *Computer Aided Design (CAD)*.

O objeto de estudo é um dedo idealizado para prótese de mão que tem as dimensões baseadas em dados antropométricos [5, 6] e será modelado dinamicamente.

O modelo proposto para o dedo número III (dedo médio), denominado MODELO_POLI, tem os segmentos mostrados na Figura 1 e seus valores estão definidos na Tabela 1.

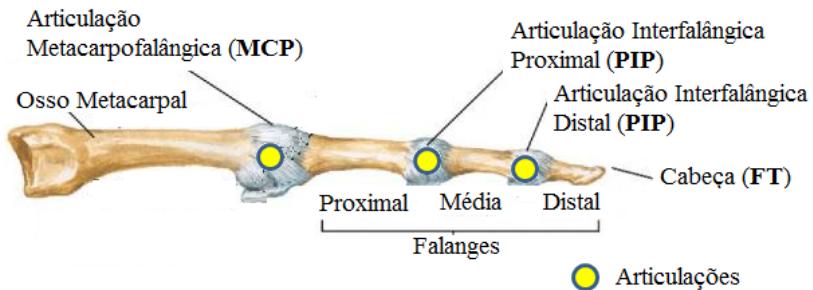


Figura 1: Configuração do dedo. Fonte: adaptado de [2].

Segmento	Comprimento (mm)
Falange proximal	40,0
Falange média	35,0
Falange distal	16,0

Tabela 1: Dimensões do dedo idealizado.

O mecanismo de acionamento foi inspirado em dedos de próteses comerciais modernas, que utilizam mecanismos de quatro barras. Estes dedos são mostrados na Figura 2, juntamente com os seus modelos cinemáticos.

As características destes dedos comerciais a serem comparadas com o MODELO_POLI estão indicadas na Tabela 2.



Figura 2: Dedos de próteses comerciais modernas e seus respectivos modelos cinemáticos. (a) Vincent (Vincent Systems), (b) iLimb e iLimb Pulse (Touch Bionics), (c) Bebionic e Bebionic V2 (RSL Stepper) e (d) Michelangelo (Otto Bock). Fonte [7].

Nome Comercial	Veloc. Média ¹ (%/s)	Força ² (N)	Ângulo na articulação (°)		
			MCP (Θ_1)	PIP (Θ_2)	DIP ³ (Θ_3)
Vincent	103,3	4,82	0 a 90	0 a 100	-
iLimb	95,3	5,39	0 a 90	0 a 90	~20
Bebionic V2	96,4	14,5	0 a 90	0 a 90	~20
Michelangelo	86,9	-	0 a 35	-	-

Tabela 2: Características de dedos de modernas próteses comerciais. Fonte [7].

1 Medida na articulação MCP.

2 Aplicada na cabeça do dedo (FT).

3 Ângulo fixo na articulação DIP.

O MODELO_POLI possui duas juntas rotativas, uma na articulação MCP e outra na articulação PIP. A articulação DIP foi mantida em um ângulo fixo de 17,5°. As restrições a serem atendidas são:

- ângulo de flexão total ($\Theta_1 + \Theta_2 + \Theta_3$) de 180°, para permitir a preensão palmar plena;
- força aplicada na extremidade do dedo (FT) de 5,0 N, para qualquer ângulo de flexão do dedo;

A etapa inicial no desenvolvimento do projeto foi a criação dos pontos de referência e as suas interligações, representando os segmentos do dedo e as diversas partes do sistema de acionamento. A Figura 3 mostra a configuração inicial do dedo.

Os pontos AC_1 a AC_5 representam os pontos de referência para o sistema de acionamento da prótese. Um ponto fixo, chamado Ref_Angular, foi criado para servir de base para medição dos ângulos de flexão do dedo. O torque motriz é aplicado no ponto AC_1.

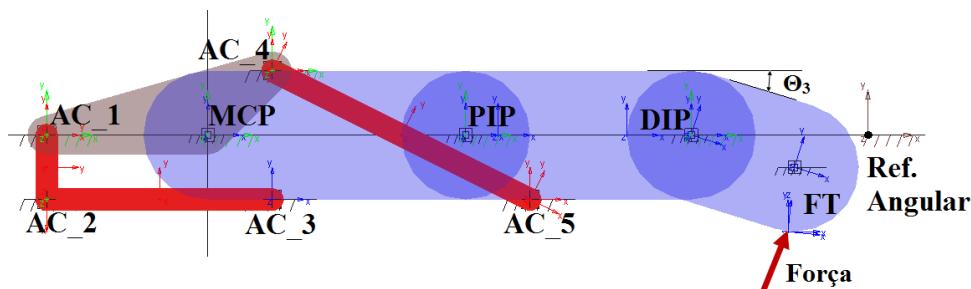


Figura 3: Configuração inicial do dedo e seu mecanismo de acionamento.

2.1 Parametrização

Como as dimensões antropométricas da mão humana variam com o gênero, com a localidade e inclusive com o tipo de profissão [5, 6], a parametrização das dimensões é de fundamental importância na customização da prótese, permitindo a simulação virtual para quaisquer dimensões de dedo.

No caso do ADAMS/View, a parametrização permite realizar os seguintes estudos

[8, 9, 10]:

- Manual: o usuário altera o valor das variáveis manualmente;
- Automatizada: o ADAMS/View altera uma variável por vez, dentro do intervalo de variação permitido;
- Otimização: o ADAMS/View altera várias variáveis de forma simultânea, dentro do intervalo de variação permitido para cada uma, e procura encontrar o projeto ideal, mantendo sob controle as restrições que foram impostas ao projeto.

A parametrização foi efetuada para os pontos de referência através de variáveis de projeto, *Design Variable (DV)*, que, se alteradas, terão seus efeitos propagados em todo o sistema.

As coordenadas dos pontos MCP, PIP, DIP e FP são controladas pelas variáveis: DV_MCP_X, DV_PIP_X, DV_DIP_X, DV_FT_X e DV_FT_Y, respectivamente. As variáveis que controlam as coordenadas para os pontos do mecanismo de acionamento são: DV_AC_1X a DV_AC_5X e DV_AC_1Y a DV_AC_5Y. Estas variáveis e seus valores são mostrados na Tabela 3.

Variável	Valor (mm)	Intervalo de Variação (mm)	
		Mínimo	Máximo
DV_AC_1X	-25	-35	-15
DV_AC_1Y	0	-	-
DV_AC_2X	-25	-35	-15
DV_AC_2Y	-10	-15	-7
DV_AC_3X	10	0	20
DV_AC_3Y	10	-	-
DV_AC_4X	10	0	20
DV_AC_4Y	10	-	-
DV_AC_5X	50	40	60
DV_AC_5Y	-10	-	-
DV_MCP_X	0	-	-
DV_PIP_X	40	-	-
DV_DIP_X	75	-	-
DV_FT_X	91	-	-
DV_FT_Y	-5	-	-

Tabela 3: Valores das variáveis de projeto (DV) que controlam a parametrização dos pontos de referência.

2.2 Simulação Inicial

Uma primeira simulação foi efetuada, com os dados da Tabela 3, para verificar o comportamento cinemático da prótese e se existia alguma incompatibilidade de movimento. Verificou-se que o ângulo MCP atingiu 61,4°, o ângulo PIP 76,3° e o ângulo total de flexão do dedo 155,2°. Esta condição não atende a exigência do ângulo de flexão total para que haja preensão palmar plena.

Embora desnecessário, já que poderia ter sido realizada diretamente a otimização

do sistema, foi realizado um estudo manual para se conseguir um ângulo de flexão total de 180°. O propósito foi conseguir uma configuração cinematicamente viável e coletar dados para efetuar o comparativo do sistema, antes e após a sua otimização.

Para realizar este estudo manual se criou um sensor que atua sempre que o ângulo de flexão atinge os 180° requeridos.

Aplicou-se uma velocidade angular de 150 °/s no ponto de acionamento AC_1 (compatível com uma velocidade média de 110 °/s na MCP), e alterou-se o valor da variável DV_AC_2X de -25 mm para -20 mm. O sensor indicou que o ângulo foi atingido em 0,71 s.

A Figura 4 mostra as variáveis controladas no projeto, para esta primeira simulação. O ângulo MCP atingiu 77,4°, o ângulo PIP 85,1° e o ângulo total de flexão 180°. O torque máximo foi de 808,9 N.mm, com média de 372,1 N.mm, e a velocidade média de flexão de 108,3 °/s na MCP.

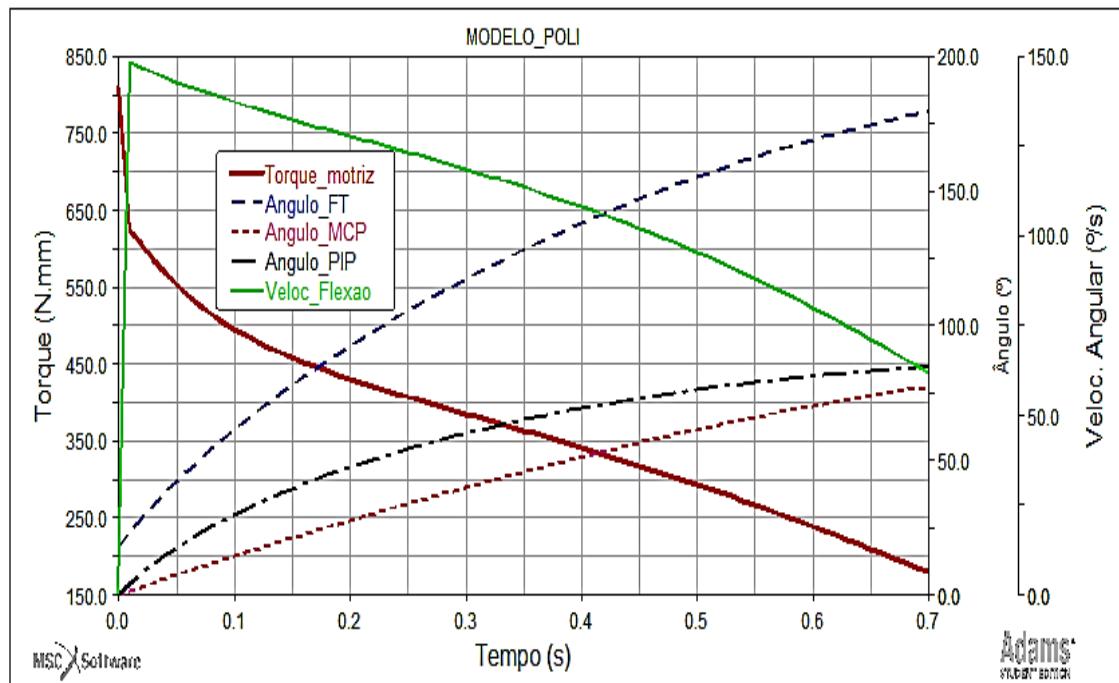


Figura 4: Variáveis controladas para a configuração inicial: ângulos MCP, PIP, FT e torque motriz.

2.3 Otimização

Várias variáveis interferem no valor do torque necessário ao movimento da prótese. Portanto, o processo de otimização do ADAMS/View, foi a opção escolhida para efetuar a sua minimização.

As variáveis selecionadas para o processo de otimização foram: DV_AC_1X, DV_AC_2X, DV_AC_2Y, DV_AC_3X, DV_AC_4X e DV_AC_5X, já que as demais têm pouca influência sobre o valor torque.

A restrição imposta foi para o ângulo de flexão, que deve atingir o valor de 180° ao final do ciclo, permitindo a preensão palmar plena.

O ADAMS/View proporciona cinco algoritmos de otimização: DOT1, DOT2

e DOT3, OPTDES-SQP (*Sequential Quadratic Programming*) e OPTDES-GRG (*Generalized Reduced Gradient*) e permite a utilização de mais três, desenvolvidos pelo próprio usuário. A versão utilizada neste estudo, a *Student Edition*, só disponibiliza os dois últimos algorítimos. Portanto, optou-se pela utilização do otimizador OPTDES-SQP, da Design Synthesis Incorporation, por ter apresentado o melhor resultado na minimização do torque.

3 | RESULTADOS

O processo de otimização permitiu uma redução no torque médio de 372,1 N.mm para 246,6 N.mm, mantendo a restrição imposta para o ângulo de flexão total em 180°.

A Figura 5 mostra a configuração do mecanismo de acionamento e a Figura 6 mostra as variáveis controladas apóis a otimização, da mesma forma como foi feito na Figura 4 para configuração não otimizada, utilizada para comparativo.

Na configuração otimizada o ângulo MCP atingiu 59,6°, o ângulo PIP 102,9° e o ângulo total de flexão 180°. O torque máximo foi de 821,4 N.mm, com uma média de 246,6 N.mm, e a velocidade angular média de flexão ficou em 58,5 °/s.

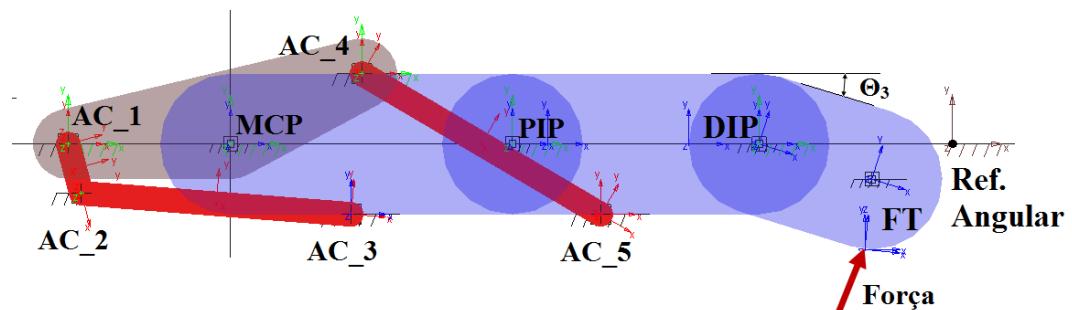


Figura 5: Configuração do dedo e seu mecanismo de acionamento apóis a otimização.

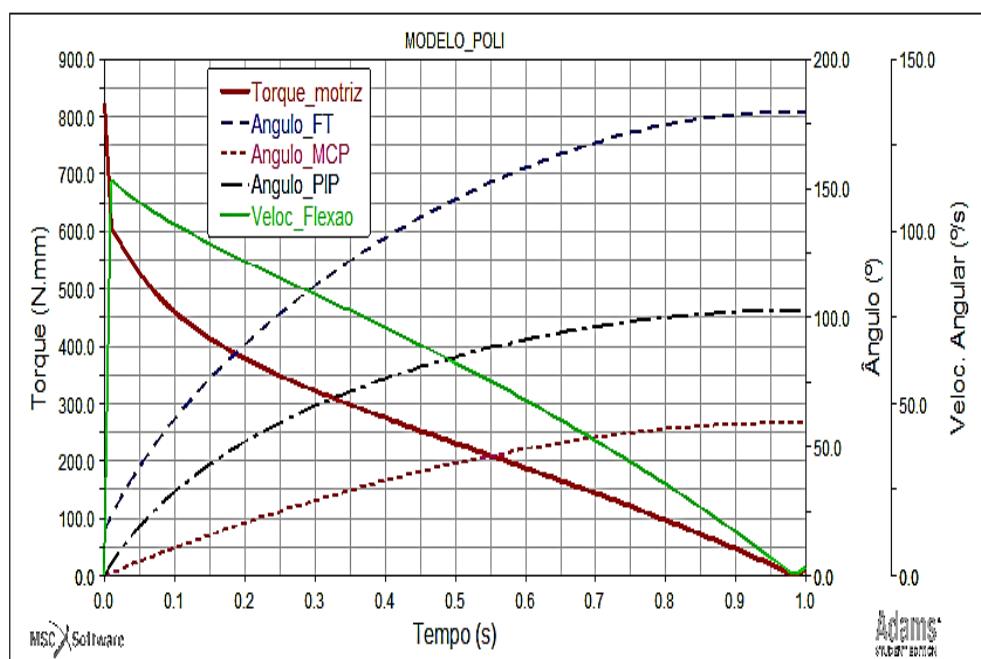


Figura 6: Variáveis controladas, apóis a otimização: ângulos MCP, PIP, FT e torque motriz.

4 | DISCUSSÃO

O processo de otimização produziu uma redução do torque médio em 33,7% e provocou uma alteração do movimento nas articulações MCP e PIP, ou seja, houve uma redução no ângulo MCP, compensada por um aumento do ângulo PIP, o que não compromete a preensão palmar.

O torque inicial, para vencer o atrito estático das articulações e a inércia do sistema, sofreu uma variação de 810,1 N.mm para 821,4 N.mm, um aumento de 1,4%. Esta pequena variação praticamente não altera as condições de partida do motor de acionamento.

A velocidade angular média de caiu de 108,3 °/s para 58,5 °/s, uma queda de 46%, e o tempo total para atingir a flexão plena aumentou de 0,71s para 0,98s, um aumento de 38%. O problema na queda da velocidade pode ser facilmente solucionado aumentando-se a velocidade motora de 150°/s para 275°/s, para manter a velocidade média de flexão em aproximadamente 110°/s.

O período de tempo para o sistema sair da inércia se manteve inalterado, em aproximadamente 0,01s, para as duas situações.

5 | CONCLUSÃO

A utilização da ferramenta CAE ADAMS/View se mostrou eficaz na otimização de próteses de mão, permitindo uma redução do torque motriz médio em 33,7%, o que é significativo para este tipo de equipamento, onde o fornecimento de energia é um problema relevante, tendo em vista o pouco espaço disponível para colocação das fontes energéticas.

A possibilidade de parametrização proporciona grande flexibilidade de projeto, reduzindo o tempo e o custo, além de possibilitar a customização da prótese.

Com os resultados da otimização, os pontos parametrizados podem ser utilizados para elaboração do protótipo 3D e os desenhos formais da prótese.

Embora o protótipo 3D possa ser realizado no próprio ambiente do ADAMS/View, sua interface não se mostra muito amigável para esta tarefa, além de não permitir a elaboração dos desenhos 2D. Portanto, é preferível utilizar ferramentas CAD que permitem uma maior flexibilidade e produtividade para este propósito.

REFERÊNCIAS

WEIR, R. F. **Design of artificial arms and hands for prosthetic applications**, ed. by KP McCombs. Standard Handbook of Biomedical Engineering and Design. 2003.

NETTER, Frank H. **Netter-Atlas de anatomia humana**. Elsevier Brasil, 2008.

STURMAN, David Joel. **Whole-hand input**. 1992. Tese de Doutorado. Massachusetts Institute of Technology.

MSC software. **ADAMS/View 2014 Student Edition** Disponível em: <http://www.mscsoftware.com/product/adams>.

CAKIT, Erman et al. **A survey of hand anthropometry and biomechanical measurements of dentistry students in Turkey**. Human Factors and Ergonomics in Manufacturing & Service Industries, v. 24, n. 6, p. 739-753, 2014.

YU, A., Yick, K. L., Ng, S. P., & Yip, J.. **2D and 3D anatomical analyses of hand dimensions for custom-made gloves**. Applied ergonomics, 44(3), 381-392, 2013.

Belter, J. T., & Segil, J. L. **Mechanical design and performance specifications of anthropomorphic prosthetic hands: a review**. Journal of rehabilitation research and development, 50(5), 599, 2013.

ADAMS/VIEW. **Getting Started Using ADAMS/View**. MSC software, [S.I.], 2005.

ADAMS/VIEW. **Building Models in ADAMS/View**. MSC software, [S.I.], 2001..

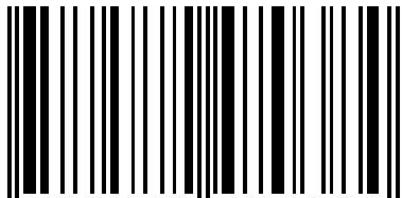
ADAMS/VIEW. **Advanced ADAMS/View Training Guide**. MSC software, [S.I.], 2005.

SOBRE A ORGANIZADORA

CHRISTIANE TREVISAN SLIVINSKI Possui Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2000), Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2007) e Doutorado em Ciências - Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná (2012). Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Biotecnologia, atuando principalmente nos seguintes temas: inibição enzimática; fermentação em estado sólido; produção, caracterização bioquímica e purificação de proteínas (enzimas); e uso de resíduo agroindustrial para produção de biomoléculas (biossurfactantes). É professora na Universidade Estadual de Ponta Grossa nas disciplinas de Bioquímica e Química Geral desde 2006, lecionando para os cursos de Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas, Farmacia, Educação Física, Enfermagem, Odontologia, Química, Zootecnia, Agronomia, Engenharia de Alimentos. Também leciona no Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais – CESCAGE desde 2012 para os cursos de Fisioterapia, Odontologia, Farmácia, Nutrição, Enfermagem e Agronomia, nas disciplinas de Bioquímica, Fisiologia, Biomorfologia, Genética, Metodologia Científica, Microbiologia de Alimentos, Nutrição Normal, Trabalho de Conclusão de Curso e Tecnologia de Produtos Agropecuários. Leciona nas Faculdades UNOPAR desde 2015 para o curso de Enfermagem nas disciplinas de Ciências Celulares e Moleculares, Microbiologia e Imunologia.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-038-4



9 788572 470384