

Atena
Editora
Ano 2020

AS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E A INTERFACE COM VÁRIOS SABERES 2

CLÉCIO DANILO DIAS DA SILVA
(ORGANIZADOR)

Atena
Editora
Ano 2020

AS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E A INTERFACE COM VÁRIOS SABERES 2

CLÉCIO DANILO DIAS DA SILVA
(ORGANIZADOR)

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecário

Maurício Amormino Júnior

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremona

Karine de Lima Wisniewski

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



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

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

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

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adailson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília

Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior

Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo

Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará

Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal

Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba

Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão

Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo

Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana

Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí

Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo

Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecário Maurício Amormino Júnior
Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Vanessa Mottin de Oliveira Batista
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizador: Clécio Danilo Dias da Silva

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

C569 As ciências biológicas e a interface com vários saberes 2
[recurso eletrônico] / Organizador Clécio Danilo Dias da
Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-438-2

DOI 10.22533/at.ed.382200210

1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Silva,
Clécio Danilo Dias da.

CDD 570

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

As Ciências Biológicas abrangem múltiplas áreas do conhecimento que se dedicam ao estudo da vida e dos seus processos constituintes, sejam elas relacionadas à saúde, biotecnologia, meio ambiente e a biodiversidade. Dentro deste contexto, o E-book “As Ciências Biológicas e a Interface com vários Saberes 2”, apresenta 24 capítulos organizados resultantes de pesquisas, revisões de literatura, ensaios teóricos e vivências de diversos pesquisadores do Brasil.

No capítulo “ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE COMPOSTOS ORGÂNICOS PROVENIENTES DE COMPOSTAGEM DOMÉSTICA EM SÃO LUÍS - MA” Vasconcelos e colaboradores investigaram a presença de *Samonella* ssp. e de coliformes termotolerantes em compostos orgânicos provenientes de compostagem de resíduos domésticos de um bairro localizado na zona urbana de São Luís, Maranhão. Carvalho e colaboradores em “INCIDÊNCIA DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EM CULTURA DE SWAB VAGINAL E ANORRETAL ANALISADAS EM LABORATÓRIO PARTICULAR DE BELÉM DO PARÁ” descreveram a incidência de *Streptococcus agalactiae* em amostras coletadas em sítios anais e vaginais de gestantes provenientes de um laboratório particular de Belém do Pará.

Em “ASCARIDÍASE: UM GRAVE PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL E NO MUNDO” Soares e colaboradores apresentam uma revisão sobre a parasitose causada por *Ascaris lumbricoides* discutindo seu modo de transmissão, sintomas, epidemiologia, tratamento e profilaxia. No capítulo “PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE DERMATOFIToses EM PACIENTES ATENDIDOS EM UM LABORATÓRIO DA REDE PRIVADA DE MACEIÓ – AL” Calumby e colaboradores avaliaram a frequência de dermatofitoses em pacientes atendidos em um laboratório da rede privada de Maceió, Alagoas, e obtiveram dados epidemiológicos sobre a dimensão desta problemática, as quais podem servir como fonte de informações para órgãos públicos e para a comunidade científica.

Sobrinho e colaboradores no capítulo “PRINCIPAIS TÉCNICAS APLICADAS À DETECÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM TUMORES ASSOCIADOS: BREVE REVISÃO DE LITERATURA” realizaram uma breve revisão de literatura sobre este tema, abordando os aspectos gerais da infecção por HPV, seus mecanismos de oncogênese e a resposta celular à presença do vírus. Também foram discutidos no capítulo os principais métodos utilizados na detecção do vírus, abordando as técnicas que se baseiam na detecção do genoma viral como a PCR (*polymerase chain reaction*) e a Captura Híbrida, e aqueles baseados na observação de alterações morfológicas induzidas pelo vírus como a detecção de coilocitos e a imuno-histoquímica. Em “CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS: RELATO DE CASO E REVISÃO

DE LITERATURA” Castro e colaboradores trazem um relato de um caso clínico-cirúrgico de carcinoma de células escamosas de língua, bem como, apresentam uma revisão literária explorando a caracterização clínica, sintomatologia, diagnóstico e tratamento da doença.

Serpe e Martins no capítulo “POLÍMERO POLI-E-CAPROLACTONA ASSOCIADO A FÁRMACOS PARA CONTROLE DA DOR E INFECÇÃO: UMA REVISÃO DA LITERATURA” efetivaram uma revisão na literatura especializada sobre os sistemas de liberação controlada a base do polímero poli-ε-caprolactona (PCL), focando em seu uso associado aos anestésicos locais, antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) e antibióticos. O capítulo de autoria de Fernandes e Suldotski “PREVALÊNCIA DE DOENÇA RENAL CRÔNICA E SUA RELAÇÃO COM O NT-PRÓBNP EM PACIENTES DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO NO PARANÁ” trazem dados sobre a prevalência dos estágios de DRC em uma população de pacientes que realizaram dosagem de NT-PróBNP e estudaram a relação entre os níveis deste marcador e Taxa de Filtração Glomerular (TFG) calculada por CKD-EPI.

Tuono e colaboradores em “TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA NO FUTEBOL FEMININO DE ELITE: ANÁLISE DE MEMBROS INFERIORES EM REPOUSO DURANTE AS FASES DO CICLO MENSTRUAL” analisaram a temperatura da pele dos membros inferiores, em repouso, de jogadoras de futebol de elite do Brasil, durante as diferentes fases do ciclo menstrual. Alves e colaboradores no capítulo “AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA ASSOCIADA À CRONOBIOLOGIA EM TRABALHADORES DE TURNO DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DOS CAMPOS GERAIS” analisaram o perfil cronobiológico da equipe de enfermagem responsável pela clínica médica do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG), visando correlacionar o cronotipo com a qualidade de vida dos indivíduos estudados.

No capítulo “A EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS NA SAÚDE HUMANA” Tenório e colaboradores discutem sobre as implicações negativas que o contato direto e indireto com essas substâncias pode acarretar na saúde humana. Em “EXTRATOS DE DALEA COMO POTENCIAL PARA FITO-INGREDIENTES: AVALIAÇÕES ANTIOXIDANTES, ANTITIROSinASE, ANTIFÚNGICA E CITOTOXICIDADE *IN VITRO*” Gaudio e colaboradores analisaram as propriedades químicas e biológicas de *Dalea leporina*, espécie sem estudo químico ou biológico, e a comparou com as espécies *D. boliviana* e *D. pazensis* visando verificar a existência de atividade antioxidante, antitiroSinase e antifúngica.

No capítulo “AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DEGRADAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DE EFLUENTES LÁCTEOS POR LEVEDURAS” Ribeiro e colaboradores avaliaram a capacidade de degradação da matéria orgânica presente no soro de ricota, que é um dos principais efluentes das indústrias de laticínios, e, analisaram a dosagem de açúcar redutor e proteínas totais antes e após a fermentação. De

autoria de Pessoa, Mesch e Guzmán, o capítulo “ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS SOBRE ISOLADOS DE *ALTERNARIA SOLANI*, CAUSADOR DA PINTA PRETA NO TOMATEIRO” avaliaram o efeito antifúngico dos óleos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), melaleuca (*Melaleuca quinquenerviana*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) no controle do fungo causador da pinta preta do tomate em condições *in vitro*.

O capítulo “DESCRIÇÃO ANATÔMICA DA CAVIDADE ORAL DE TUBARÃO-MARTELO, *SPHYRNA LEWINI*” de autoria de Vargas e colaboradores apresenta um estudo morfológico detalhado da cavidade oral de *Sphyrna lewini* e correlacionam o tamanho, as estruturas e formatos ao tipo de alimentação e hábito de forrageio desde animal. Silva e colaboradores em “MARCADORES MITOCONDRIAIS REVELAM BAIXA VARIABILIDADE GENÉTICA DE *PROCHILODUS* NO SISTEMA HIDROLÓGICO PINDARÉ-MEARIM” utilizaram sequências do genoma mitocondrial para identificar e estimar os níveis de variabilidade genética de *Prochilodus* na tentativa de esclarecer o status taxonômico de *P. lacustris* de ocorrência nas bacias hidrográficas Pindaré e Mearim do Maranhão.

Em “QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO URSÓLICO PRESENTE EM EXTRATOS HIDROETANÓLICOS DE DIFERENTES PARTES DA NÊSPERA” Santos, Silva e Fante realizaram um estudo quantitativo do ácido ursólico presente em extratos de diferentes partes da nêspera. Gonçalves e colaboradores em “TOXICIDADE EM NÍVEL CELULAR DE PRODUTOS SANEANTES DE POLIMENTO DE UTENSÍLIOS DE ALUMÍNIO PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO BRASIL” investigaram por meio de meristemas de raízes de *Allium cepa*, em dois tempos de exposição e três concentrações/diluições, os potenciais citotóxicos e genotóxicos de produtos “brilha alumínios” produzidos e comercializados no país. No capítulo “QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO EM ÁREAS CULTIVADAS COM CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE GOIÁS” Faquim e colaboradores estudaram a influência da cultura da cana-de-açúcar nos atributos biológicos do solo, em duas regiões do estado de Goiás (Quirinópolis e Goianésia), em talhões de cana-de-açúcar com diferentes anos de implantação, de modo a identificar se há equilíbrio, sustentabilidade e possíveis modificações no solo em decorrência do cultivo da cana-de-açúcar.

Pinheiro e Silva em “ELABORAÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO PARA AÇÕES DE EDUCAÇÃO E SAÚDE SOBRE CÂNCER DE PELE NA EJA NA COMUNIDADE PESQUEIRA DE PIAÇABUÇU/AL” descrevem o processo de construção e aplicação de um material didático desenvolvido para auxiliar na execução de ações de educação e saúde em uma escola da rede pública na modalidade EJA no município de Piaçabuçu, Alagoas. Pinto e colaboradores no capítulo “ANÁLISE DE CONCEITOS GEOCIÊNTÍFICOS ABORDADOS EM UM LIVRO DIDÁTICO DO 6º ANO UTILIZADO EM UMA ESCOLA MUNICIPAL NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO” analisaram a

eficiência do conteúdo de geociências em um livro didático em comparação com a Base Nacional Comum Curricular.

O capítulo de autoria de Pozzebon e Lima “MANDALA SENSORIAL COMO RECURSO PEDAGÓGICO PARA INCLUSÃO DE ALUNOS COM NECESSIDADES ESPECIAIS NO ENSINO DE BOTÂNICA E EDUCAÇÃO AMBIENTAL” utilizaram-se de uma Mandala Sensorial, construída na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, para possibilitar a construção do conhecimento de Educação Ambiental e Botânica, além de promover a inclusão de alunos atendidos pela sala de recursos multifuncionais de um Colégio do município de Dois Vizinhos em Paraná. Em “ANÁLISE E AVALIAÇÃO DOCUMENTAL DAS ORIENTAÇÕES CURRICULARES PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS NA EDUCAÇÃO INDÍGENA: UM OLHAR PARA A BOTÂNICA” Marques e colaboradores realizaram uma análise documental e bibliográfica sobre o ensino indígena com foco no conteúdo de botânica, presentes nas orientações Curriculares nacionais e estaduais vigentes para o ensino de Ciências e Biologia. **Pozzebon e Merli no capítulo “SUSTENTABILIDADE AMBIENTAL E BIOCOMBUSTÍVEIS NO CONTEXTO EDUCACIONAL”** investigaram na literatura especializada elementos que buscam sistematizar as discussões à temática ambiental e a produção de energia limpa dentro da área da educação, visto que estes devem ser trabalhados para o processo de socialização dos conhecimentos científicos e uma mudança de perfil socioambiental das gerações futuras.

Em todos esses trabalhos, percebe-se a linha condutora entre as Ciências Biológicas e suas interfaces com diversas áreas do saber, como a Microbiologia, Parasitologia, Anatomia, Biologia Celular e Molecular, Botânica, Zoologia, Ecologia, bem como, estudos envolvendo os aspectos das Ciências da Saúde, Ciências Ambientais, Educação em Ciências e Biologia. Espero que os estudos compartilhados nesta obra contribuam para o enriquecimento de novas práticas acadêmicas e profissionais, bem como possibilite uma visão holística e transdisciplinar para as Ciências Biológicas em sua total complexidade. Por fim, desejo à todos uma ótima leitura.

Clécio Danilo Dias da Silva

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE COMPOSTOS ORGÂNICOS PROVENIENTES DE COMPOSTAGEM DOMÉSTICA EM SÃO LUIS – MA

Osmar Luis Silva Vasconcelos
Januária Ruthe Cordeiro Ferreira
Luciana da Silva Bastos
Georgiana Eurides de Carvalho Marques
Rodrigo Barbosa Lorena

DOI 10.22533/at.ed.3822002101

CAPÍTULO 2..... 8

INCIDÊNCIA DE *Streptococcus agalactiae* EM CULTURA DE SWAB VAGINAL E ANORRETAL ANALISADAS EM LABORATÓRIO PARTICULAR DE BELÉM DO PARÁ

Raimundo Gladson Corrêa Carvalho
Maíça Yasmin Rodrigues dos Santos
Aline Holanda Sousa
Maria Glorimar Corrêa Carvalho
Fernanda dos Reis Carvalho
Pedro Leão Fontes Neto
Rodrigo Lima Sanches
Suzan Santos de Almeida
Surama da Costa Pinheiro

DOI 10.22533/at.ed.3822002102

CAPÍTULO 3..... 22

ASCARIDÍASE: UM GRAVE PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL E NO MUNDO

Ana Clara Damasceno Soares
Antonio Rosa de Sousa Neto
Amanda de Oliveira Sousa Cardoso
Ana Raquel Batista de Carvalho
Erika Morganna Neves de Oliveira
Andreia Rodrigues Moura da Costa Valle
Odinéia Maria Amorim Batista
Maria Eliete Batista Moura
Daniela Reis Joaquim de Freitas

DOI 10.22533/at.ed.3822002103

CAPÍTULO 4..... 35

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE DERMATOFITOSSES EM PACIENTES ATENDIDOS EM UM LABORATÓRIO DA REDE PRIVADA DE MACEIÓ - AL

Rodrigo José Nunes Calumby
Yasmin Nascimento de Barros
Jorge Andrés García Suárez
Davi Porfirio da Silva

Jayne Omena de Oliveira
Laís Nicolly Ribeiro da Silva
Íris Karolayne da Silva Santos
Camila França de Lima
Ana Carolina Santana Vieira
Valter Alvino
Rossana Teotônio de Farias Moreira
Maria Anilda dos Santos Araújo

DOI 10.22533/at.ed.3822002104

CAPÍTULO 5..... 48

PRINCIPAIS TÉCNICAS APLICADAS À DETECÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM TUMORES ASSOCIADOS: BREVE REVISÃO DE LITERATURA

Thaís Bastos Moraes Sobrinho
Gyl Eanes Barros Silva
Antonio Lima da Silva Neto
Wesliany Everton Duarte
Thalita Moura Silva Rocha
Marta Regina de Castro Belfort
Juliana Melo Macedo Mendes
José Ribamar Rodrigues Calixto
Antonio Machado Alencar Junior
Francisco Sérgio Moura Silva do Nascimento
Joyce Santos Lages
Jaqueline Diniz Pinho
Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior

DOI 10.22533/at.ed.3822002105

CAPÍTULO 6..... 70

CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS: RELATO DE CASO E REVISÃO DE LITERATURA

Júlia Eduarda Nóbrega de Melo e Castro
Alice Marge de Aquino Guedes
Ana Carolina dos Santos Lopes Peixoto
José Eduardo Lage de Castro
Letícia Silveira Meurer
Maria Cecília Dias Corrêa

DOI 10.22533/at.ed.3822002106

CAPÍTULO 7..... 78

POLÍMERO POLI-ε-CAPROLACTONA ASSOCIADO A FÁRMACOS PARA CONTROLE DA DOR E INFECÇÃO: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Luciano Serpe
Luciana Dorochenko Martins

DOI 10.22533/at.ed.3822002107

CAPÍTULO 8..... 92

PREVALÊNCIA DE DOENÇA RENAL CRÔNICA E SUA RELAÇÃO COM O NT-PRÓBNP EM PACIENTES DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO NO PARANÁ

Natieli Flores Fernandes

Mônica Tereza Suldotski

DOI 10.22533/at.ed.3822002108

CAPÍTULO 9..... 102

TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA NO FUTEBOL FEMININO DE ELITE: ANÁLISE DE MEMBROS INFERIORES EM REPOUSO DURANTE AS FASES DO CICLO MENSTRUAL

Angélica Tamara Tuono

Nathália Arnosti Vieira

Vivian Paranhos

Ana Lúcia Gonçalves

Renata Pelegatti

Thiago Augusto do Prado

Daniel Novais Guedes

Mayara Rodrigues

Carlos Roberto Padovani

João Paulo Borin

DOI 10.22533/at.ed.3822002109

CAPÍTULO 10..... 109

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA ASSOCIADA À CRONOBIOLOGIA EM TRABALHADORES DE TURNO DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DOS CAMPOS GERAIS

Bruna Heloysa Alves

Felício de Freitas Netto

Mariane Marcelino Fernandes

Ana Letícia Grigol Dias

Fabiana Postiglione Mansani

DOI 10.22533/at.ed.38220021010

CAPÍTULO 11..... 121

A EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS NA SAÚDE HUMANA

Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenório

Carina Scanoni Maia

Marcos Aurélio Santos da Costa

Juliana Pinto de Medeiros

Diana Babini Lapa de Albuquerque Britto

Otaciana Otacilia de Arruda

Suênia Marcele Vitor de Lima

Giovana Hachyra Facundes Guedes

Bruno Mendes Tenorio

DOI 10.22533/at.ed.38220021011

CAPÍTULO 12..... 130

DALEA EXTRACTS AS POTENTIAL FOR PHYTO-INGREDIENTS: ANTIOXIDANT, ANTITYROSINASE, ANTIFUNGAL AND CYTOTOXICITY *IN VITRO* EVALUATIONS

Micaela Del Gaudio
María Daniela Santi
José Luis Cabrera
Mariana Andrea Peralta
María Gabriela Ortega

DOI 10.22533/at.ed.38220021012

CAPÍTULO 13..... 144

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DEGRADAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DE EFLUENTES LÁCTEOS POR LEVEDURAS

Júlia Antunes Tavares Ribeiro
José Antônio da Silva
Paulo Afonso Granjeiro
Daniel Bonoto Gonçalves

DOI 10.22533/at.ed.38220021013

CAPÍTULO 14..... 153

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS SOBRE ISOLADOS DE *Alternaria solani*, CAUSADOR DA PINTA PRETA NO TOMATEIRO

Jonas Onis Pessoa
Felipe José Mesch
Maria José Correá Guzmán

DOI 10.22533/at.ed.38220021014

CAPÍTULO 15..... 160

DESCRIÇÃO ANATÔMICA DA CAVIDADE ORAL DE TUBARÃO-MARTELO, *SPHYRNA LEWINI*

Gustavo Augusto Braz Vargas
Inara Pereira da Silva
Gabriel Nicolau Santos Sousa
Alessandra Tudisco da Silva
Daniela de Alcantara Leite dos Reis
Marcos Vinícius Mendes Silva
Carlos Eduardo Malavasi Bruno

DOI 10.22533/at.ed.38220021015

CAPÍTULO 16..... 168

MARCADORES MITOCONDRIAIS REVELAM BAIXA VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Prochilodus* NO SISTEMA HIDROLÓGICO PINDARÉ-MEARIM

Jordânia Letícia do Nascimento Silva
Elidy Rayane de Rezende França
Fernanda da Conceição Silva
Maria Claudene Barros
Elmary da Costa Fraga

DOI 10.22533/at.ed.38220021016

CAPÍTULO 17..... 182

**QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO URSÓLICO PRESENTE EM EXTRATOS
HIDROETANÓLICOS DE DIFERENTES PARTES DA NÊSPERA**

Amanda Neris dos Santos
Viviane Dias Medeiros Silva
Camila Argenta Fante

DOI 10.22533/at.ed.38220021017

CAPÍTULO 18..... 187

**TOXICIDADE EM NÍVEL CELULAR DE PRODUTOS SANEANTES
DE POLIMENTO DE UTENSÍLIOS DE ALUMÍNIO PRODUZIDOS E
COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

Éderson Vecchietti Gonçalves
Letícia Scala Frâncica
Ana Caroline Zago Pestana
Leonardo Borges Coletto Correia
Lidiane de Lima Feitoza
Wyrllen Éverson de Souza
Flávia Vieira da Silva Medeiros
Márcia Maria Mendes Marques
Débora Cristina de Souza
Paulo Agenor Alves Bueno
Ana Paula Peron

DOI 10.22533/at.ed.38220021018

CAPÍTULO 19..... 195

**QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO EM ÁREAS CULTIVADAS COM CANA-DE-
AÇÚCAR NO ESTADO DE GOIÁS**

Ana Caroline da Silva Faquim
Eliana Paula Fernandes Brasil
Wilson Mozena Leandro
Aline Assis Cardoso
Michel de Paula Andraus
Joyce Vicente do Nascimento
Jéssika Lorraine de Oliveira Sousa
Adriana Rodolfo da Costa
Caio Fernandes Ribeiro

DOI 10.22533/at.ed.38220021019

CAPÍTULO 20..... 216

**ELABORAÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO PARA AÇÕES DE EDUCAÇÃO E
SAÚDE SOBRE CÂNCER DE PELE NA EJA NA COMUNIDADE PESQUEIRA DE
PIAÇABUÇU/AL**

Fabiano Silva Pinheiro
Ana Paula de Almeida Portela da Silva

DOI 10.22533/at.ed.38220021020

CAPÍTULO 21.....	229
ANÁLISE DE CONCEITOS GEOCIÊNTÍFICOS ABORDADOS EM UM LIVRO DIDÁTICO DO 6º ANO UTILIZADO EM UMA ESCOLA MUNICIPAL NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO	
Filipe de Souza Pinto	
Letícia dos Santos Pinto da Cunha	
Ana Paula de Castro Rodrigues	
Jane Rangel Alves Barbosa	
DOI 10.22533/at.ed.38220021021	
CAPÍTULO 22.....	238
MANDALA SENSORIAL COMO RECURSO PEDAGÓGICO PARA INCLUSÃO DE ALUNOS COM NECESSIDADES ESPECIAIS NO ENSINO DE BOTÂNICA E EDUCAÇÃO AMBIENTAL	
Maiara Andrêssa Pozzebon	
Daniela Macedo de Lima	
DOI 10.22533/at.ed.38220021022	
CAPÍTULO 23.....	254
ANÁLISE E AVALIAÇÃO DOCUMENTAL DAS ORIENTAÇÕES CURRICULARES PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS NA EDUCAÇÃO INDÍGENA: UM OLHAR PARA A BOTÂNICA	
Renan Marques	
Queli Ghilardi Cancian	
Ricardo da Cruz Monsores	
Eliane Terezinha Giacomell	
Vilmar Malacarne	
DOI 10.22533/at.ed.38220021023	
CAPÍTULO 24.....	266
SUSTENTABILIDADE AMBIENTAL E BIOCOMBUSTÍVEIS NO CONTEXTO EDUCACIONAL	
Tayrine Mainko Hoblos Pozzobon	
Ana Claudia de Oliveira Guizelini Merli	
DOI 10.22533/at.ed.38220021024	
SOBRE O ORGANIZADOR.....	273
ÍNDICE REMISSIVO.....	274

CAPÍTULO 1

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE COMPOSTOS ORGÂNICOS PROVENIENTES DE COMPOSTAGEM DOMÉSTICA EM SÃO LUIS – MA

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 21/07/2020

Osmar Luis Silva Vasconcelos

Universidade Federal do Paraná
Curitiba, PR

<http://lattes.cnpq.br/6940487626342577>

Januária Ruthe Cordeiro Ferreira

Universidade Estadual do Maranhão
São Luis, MA

<http://lattes.cnpq.br/4123792050411513>

Luciana da Silva Bastos

Universidade Federal do Maranhão
São Luis, MA

<http://lattes.cnpq.br/321959723838751>

Georgiana Eurides de Carvalho Marques

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Maranhão
São Luis, MA

<https://orcid.org/0000-0001-7801-3117>

Rodrigo Barbosa Lorena

Universidade Brasil
Fernandópolis, SP

<http://lattes.cnpq.br/9625778084707462>

RESUMO: Os resíduos orgânicos representam cerca de 60% dos resíduos sólidos produzidos em domicílios, a técnica de compostagem doméstica é tida como uma alternativa de aproveitamento desses resíduos, além de ter forte impacto social e econômico, porém é necessário que esses resíduos estejam livres de microrganismos

patogênicos ao final do processo. O objetivo deste trabalho foi identificar a presença de *Salmonella* ssp e coliformes termotolerantes em compostos orgânicos produzidos pela técnica da compostagem doméstica na zona urbana de São Luís - MA. Durante 30 dias foram coletados resíduos orgânicos de 5 famílias em um bairro de São Luís, totalizando 53,5 kg de resíduos depositados separadamente em composteiras domésticas que foram monitoradas a temperatura e aeração por um período de 95 dias. Decorrido o tempo de compostagem, as amostras das composteiras foram analisadas em triplicata para determinação de coliformes termotolerantes e *Salmonella* ssp. Os resultados mostraram satisfatórios para ausência de *Salmonella* ssp. e para *Escherichia coli* (< 3 NMP/g), principal representante dos coliformes termotolerantes, a temperatura dos compostos variou entre 41-45 °C de máximas durante a fase mesofílica validando a metodologia realizada no decorrer da pesquisa. Assim, a pesquisa mostrou a eficiência do uso das composteiras domésticas para tratamento de compostos orgânicos, a possibilidade da diminuição da geração de lixo e de uso correto de resíduos orgânicos para favorecer a conservação ambiental.

PALAVRAS-CHAVE: Composteiras. Resíduos. *Salmonella* ssp. Coliformes termotolerantes.

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF
ORGANIC COMPOUNDS FROM
DOMESTIC COMPOSTING IN SAN LUIS
- MA

ABSTRACT: Organic waste represents about

60% of the solid waste produced in home, the domestic composting technique is considered an alternative to use this waste, in addition to having a strong social and economic impact, however it is necessary that these residues are free of pathogenic microorganisms at the end of the process. The objective of this work was to identify the presence of *Salmonella* ssp and thermotolerant coliforms in organic compounds produced by the technique of domestic composting in the urban area of São Luís - MA. During 30 days, organic waste was collected from 5 families in a neighborhood of São Luís, totaling 53.5 kg of waste deposited separately in domestic compost containers that were monitored for temperature and aeration for a period of 95 days. After composting time, the samples of the composters were analyzed in triplicate to determine thermotolerant coliforms and *Salmonella* ssp. The results were satisfactory for the absence of *Salmonella* ssp. and for *Escherichia coli* (<3 NMP / g), the main representative of thermotolerant coliforms, the temperature of the compounds varied between 41-45 ° C maximum during the mesophilic phase, validating the methodology carried out during the research. Thus, the research showed the efficiency of the use of domestic composters for the treatment of organic compounds, the possibility of reducing the generation of waste and the correct use of organic waste to favor environmental conservation.

KEYWORDS: Composters. Waste. *Salmonella* ssp. Thermotolerant coliforms.

1 | INTRODUÇÃO

A população era sobretudo rural outrora a revolução industrial, originando resíduos orgânicos que eram considerados de baixa relevância ao meio ambiente, hodiernamente a maioria da população passou a ser urbana, ocasionando uma alta taxa na geração de resíduos sólidos responsáveis por consequências socioambientais negativas (OLIVEIRA e CARVALHO, 2017). O aumento descontrolado das cidades desde o século XX, com o decorrente crescimento da geração de resíduos, promove uma apreensão relacionada com o modo ao qual é feito o descarte dos resíduos (BAPTISTA *et al.*, 2019).

Conforme NBR 13591 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1996), compostagem pode ser entendida como um sistema biológico de degradação da fração orgânica biodegradável, realizada por heterogênea população de organismo, em condições adequadas que propiciam aerobiose dentre outros fatores, com duas fases que diferem entre si: fase de degradação ativa e fase de maturação. Franco *et al.* (2018) afirmam que a temperatura do composto deverá oscilar entre 40-60°C para que possa ocorrer higienização dos microrganismos que poderiam causar algum tipo de patologia.

Doenças que podem ocasionar diarreias agudas são provocadas pela ingestão de alimentos e água contaminadas, principalmente por *Escherichia coli* e *Salmonella* ssp, (MARQUEZ *et al.* 2019). A *Salmonella* ssp. são bactérias responsáveis por zoonoses como a salmonelose tifoide e não tifoide, em casos mais

graves podem levar a morte, a *Escherichia coli* também é uma bactéria causadora de malefícios a saúde, que provoca doenças como síndrome hemolítico-urênico, infecções urinárias e a colite hemorrágica, além de ocasionar mortalidade, ao mesmo tempo, a maioria dessas bactérias são inofensivas e contribuem para o bom funcionamento do sistema digestivo (SANTOS et al., 2019; BRASIL, 2011). A atual legislação do Brasil preconiza parâmetros microbiológicos de *Salmonella* ssp., ovos viáveis de helmintos e coliformes termotolerantes como indicadores de qualidade do composto orgânico. Essas concentrações permitidas em condicionadores e fertilizantes orgânicos estão descritas nas Instruções Normativas SDA/MAPA nº 27/2006 e nº 7/2016.

À vista disso, fica evidenciado que medidas como a compostagem devam ser empregadas de forma adequada a fim de mitigar os impactos negativos causados pelos resíduos orgânicos e redução a níveis toleráveis de microrganismos patogênicos no composto final. Nesta pesquisa objetivou-se identificar a presença de *Samonella* ssp. e de coliformes termotolerantes em compostos orgânicos provenientes de compostagem de resíduos domésticos de um bairro localizado na zona urbana de São Luis.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos resíduos orgânicos

Os resíduos foram coletados em cinco famílias no bairro do Monte Castelo, localizado em São Luís - MA e depositados separadamente em composteiras feitas com recipientes de plástico com capacidade de 16 kg, sendo um recipiente coletor de resíduos sólidos e um coletor de percolato. Os resíduos foram transportados para a unidade de compostagem instalada no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – Campus Monte Castelo. As designações F1, F2, F3, F4 e F5 foram dadas para que houvesse diferenciação das composteiras, além de melhorar a identificação e para evitar possíveis contaminações microbiológicas entre os resíduos de cada participante (Figura 1).



Figura 1 – Composteiras instaladas na unidade de compostagem

Fonte: O Autor (2019)

Os resíduos orgânicos permaneceram monitoradas por 95 dias dentro das composteiras com revolvimentos a cada dois dias e avaliação de temperatura diária. Foram depositados 53,5 kg de resíduos orgânicos, no somatório entre todas as famílias, juntamente com folhas secas de *Ficus benjamina* encontradas na unidade de compostagem estabelecendo uma relação utilizada de 2:1 (duas partes de folhas secas para uma parte de resíduos) para que ocorresse a compostagem de forma correta.

2.2 Análises Microbiológicas

As análises de *Salmonella* ssp. e coliformes termotolerantes foram realizadas conforme metodologia proposta por Silva et al. (2017), com uso de 25 g da amostra de composto de cada família diluída em 225 ml de Água Peptonada. No teste presuntivo para coliformes termotolerantes foi utilizada alíquotas contendo 1 ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} nas quais utilizou-se três tubos seriados com 9 ml de caldo Lauryl Triptose contendo tubos de Duhan em triplicata de F1, F2, F3, F4 e F5, logo em seguida foram colocadas em estufa com temperatura de 35° C durante 24-48 horas de incubação. Decorrido esse período, os tubos que apresentaram turvamento com presença de bolha dentro do tubo de Duhan foram tidos como positivos e estes tiveram uma alçada transferida para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (coliformes termotolerantes) e posicionados dentro do banho-maria com temperatura de 45° C. A contagem de coliformes foi realizada com auxílio da técnica de Número Mais Provável (NMP).

Para análise de *Samonella* ssp. foi utilizado 25 g da amostra de cada composto (F1, F2, F3, F4 e F5) diluída em 225 ml de Água Peptonada e levadas a estufa com temperatura de 35° C durante 18 horas de incubação. Decorrido este

período de pré-enriquecimento, procedeu-se inoculação 0,1 ml em 10 ml de Caldo Rappaport de 1 ml em 10 ml de Caldo Selenito, incubando-os em 42° C e 35° C, respectivamente por 24 horas. Os tubos que apresentaram turvação do meio de cultura foram plaqueadas em Ágar Xilose Lisina Descarboxilase e em Ágar Entérito Hectoen, incubadas em estufa à 35° C durante 24 horas.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras coletadas separadamente de cada composteira tiveram resultados satisfatórios quanto a ausência de *Salmonella* ssp. em todas as amostras analisadas e coliformes termotolerantes com respostas < 3 NMP/g em todas as amostras, tal fato pode ser justificado pelas temperaturas médias alcançadas durante os primeiros dias de compostagem em F1, F2, F3, F4 e F5, variando entre 41-45 °C de máximas e pelos revolvimentos semanais realizados nos resíduos. Andrade et al. (2018) encontraram valores médios de temperatura entre 40-70 °C em compostagem controlada de temperatura e aeração de resíduos agrícolas orgânicos, sendo caracterizado pelos autores como fase termofílica. Chinakwe et al. (2019), em pesquisa com esterco de vaca e resíduos sólidos urbanos coletados seletivamente na fonte geradora, verificaram a eliminação total de coliformes fecais e *Samonella* ssp. com valores de temperatura entre 47-60 °C. Silva et al. (2019) também não detectaram a presença de *Salmonella* ssp, porém na mesma pesquisa em compostagem de resíduos de pescados com maravalha de pinus e cascas de arroz, os autores encontraram *E. coli*. Heck (2013) afirma que a destruição de microrganismos patogênicos deve ser garantida durante a fase termofílica do processo de compostagem.

Não foram realizadas análises de ovos viáveis de helminto conforme estabelecido pela Instruções Normativas SDA/MAPA nº 27/2006 e nº 7/2016. devido ao fato de que houve coleta seletiva diretamente na fonte geradora de resíduos, não havendo qualquer tipo de presença de fezes ou outros tipos de resíduos gastrointestinais, fato este que também contribuiu para os bons resultados para coliformes termotolerantes (cuja a bactéria *E. coli* é a principal representante sendo sua presença ligada diretamente a contaminação de origem fecal) e *Salmonella* ssp que também possui ligação direta com fezes de animais, incluindo os animais domésticos de sangue quente. Silva et al. (2019), afirmam que deve-se tomar cuidado maior ao utilizar alimentos de origem animal que contenham materiais gastrointestinal na compostagem devido ao fato de serem mais facilmente encontrados microrganismos com potencial causador de doença.

Os resultados sustentam que todos os compostos produzidos com os resíduos de cada família estavam em conformidade quanto aos padrões microbiológicos

estabelecidos para o seu uso em hortas e jardins, além de demonstrar que todo o processo da técnica de compostagem e coleta seletiva de resíduos adotadas neste trabalho foi segura, pois segundo Silva et al. (2019), o uso do composto biotecnológico oriundo da compostagem poderá acarretar graves infortúnios de saúde a consumidores, caso não haja um bom desenvolvimento do processo.

4 | CONCLUSÃO

Nos compostos analisados na pesquisa não houve a presença de *salmonella* ssp e <3 NMP/g de *E. coli* devido ao método de compostagem doméstica utilizado, que mostra a eficiência desta técnica para o tratamento de resíduos sólidos orgânicos. Os resultados contribuem para o incentivo a coleta seletiva, tratamento dos resíduos sólidos e o uso dos compostos produzidos como fertilizantes naturais para uso no solo.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS NRB 13591/1996. **Compostagem - Terminologia**. Março, 1996, 4p.
- ANDRADE, F. C. D. *et al.* **Treatment of organic solid waste generated at agricultural research corporation via composting under natural and controlled conditions**. Acta Scientiarum Technology, Maringá, v. 40, n. 1, jan./2018.
- BAPTISTA, M. *et al.* **Análise de tecnologias de tratamento e disposição final de resíduos sólidos urbanos no Brasil**. Revista Tecnológica da Universidade Santa Úrsula, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 55-72, jan./2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 27, de 05 de junho de 2006**. Diário Oficial da União. Brasília, 09 de junho de 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.**: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. Brasília.: Ministério da Saúde, 2011. 60 p.
- MARQUEZ, C. M.; ESCORCIA, G. B.; LARREA, J. D. **Mecanismos de Patogenicidade de Escherichia coli e Salmonella SSP**. Contatos, Journal of Science and Engineering Education, n. 113, p. 5 - 17, 30 set. 2019.
- CHINAKWE, E. C. *et al.* **Changes in Microbial Population Numbers during Composting of Some Organic Wastes in Greenhouse**. Journal of Advances in Microbiology, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2 jul. 2019.

HECK, K. et al. **Temperatura de degradação de resíduos em processo de compostagem e qualidade microbiológica do composto final.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v. 17, n. 1, p. 54-59, jan./2013.

OLIVEIRA, P. I. D; CARVALHO, D. V. D. **Um olhar sobre o panorama dos resíduos sólidos urbanos no Brasil.** Revista Pensar Gestão e Administração, Belo Horizonte, v. 6, n. 1, p. 1-15, jul./2017. Disponível em: <http://revistapensar.com.br/administracao/pasta_upload/artigos/a171.pdf>. Acesso em: 8 jul. 2020.

SILVA, F. X. et al. **Compostagem segura na utilização de resíduos de pescado com maravalha de pinus e casca de arroz.** Revista Agri-environmental Sciences, Palmas -TO, v. 4, n. 2, p.24-33, 19 mar. 2019.

SANTOS, W. L. et. al. **Indicador de contaminação fecal alimentar e prevenção de doenças.** Revista Jrg de Estudos Acadêmicos, [s. l.], v. 2, n. 4, p.150-157, 10 jun. 2019. Semestral. ISSN: 2595-1661 on-line. Disponível em: <<http://revistajrg.com/index.php/jrg/article/view/58>>. Acesso em: 03 fev. 2020.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

CAPÍTULO 2

INCIDÊNCIA DE *Streptococcus agalactiae* EM CULTURA DE SWAB VAGINAL E ANORRETAL ANALISADAS EM LABORATÓRIO PARTICULAR DE BELÉM DO PARÁ

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 07/07/2020

Suzan Santos de Almeida

Laboratório Paulo Azevedo
Belém-PA

Surama da Costa Pinheiro

Unidade Regional do Estado de Doenças
Infecciosas e Parasitárias Especiais
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/1955194542473915>

Raimundo Gladson Corrêa Carvalho

Escola Superior da Amazônia – Esamaz
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/6716721355677599>

Maiça Yasmin Rodrigues dos Santos

Escola Superior da Amazônia – Esamaz
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/9387369433285040>

Aline Holanda Sousa

Laboratório Paulo Azevedo
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/6631292002735639>

Maria Glorimar Corrêa Carvalho

Universidade Federal do Pará – UFPA
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/7804014773978340>

Fernanda dos Reis Carvalho

Universidade Estadual do Pará – UEPA
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/6142706947606448>

Pedro Leão Fontes Neto

Escola Superior da Amazônia – Esamaz
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/4359710211185373>

Rodrigo Lima Sanches

Escola Superior da Amazônia – Esamaz
Belém-PA
<http://lattes.cnpq.br/1685168946241108>

RESUMO: *Streptococcus agalactiae* ou Estreptococos do Grupo B (EGB), apresenta característica morfolotintorial de cocos Gram positivas, faz parte da microbiota normal de humanos e outros animais, colonizando principalmente o trato gastrointestinal e geniturinário. Estudos apontam colonização materna de 5 a 40%, no Brasil, essa taxa varia de 10 a 30%. O EGB é considerado o principal agente etiológico de septicemia neonatal. Este estudo visa descrever a incidência de *Streptococcus agalactiae* em amostras coletadas dos sítios: anal e vaginal de gestantes provenientes de um laboratório particular de Belém do Pará. Estudo retrospectivo e descritivo que analisou 1.191 resultados de culturas de swab anal e vaginal do período de janeiro de 2010 a outubro de 2011, a partir do banco de dados do setor de Microbiologia do Laboratório de Patologia Clínica Paulo Azevedo, em Belém-Pará. A coleta e tratamento das amostras foi realizada conforme técnica preconizada pelo CDC. Análise estatística realizada pelo teste do Qui Quadrado (χ^2) utilizando *BioEstat*, versão 5.3, sendo valores de $p < 0,05$ considerados

significativos. Dentre os 1.191 resultados de culturas analisados 357 (30%) foram positivas, sendo 123/357 (34%) correspondentes ao sítio vaginal, 71/357 (20%) ao sítio anorretal e 163/357 (46%) ao sítio anorretal e vaginal combinados. Os valores de p encontrados durante o estudo foram $p=0,0395$, $p=0,3547$ e $p=0,8421$. O estudo mostra que a taxa de colonização materna por EGB está no extremo da média nacional, que houve gestantes com colonização em apenas um dos sítios, reforçando assim a importância da coleta do material nos dois sítios anatômicos.

PALAVRAS - CHAVE: *Streptococcus agalactiae*, Infecção neonatal, colonização anorretal e vaginal.

INCIDENCE OF *Streptococcus agalactiae* IN VAGINAL AND ANORECTAL SWAB CULTURE ANALYZED IN A PRIVATE LABORATORY IN BELÉM, PARÁ

ABSTRACT: *Streptococcus agalactiae* or Group B streptococcus (GBS) shows a morphotintorial characteristic of Gram-positive cocci, it is part of the normal microbiota of humans and other animals, colonizing mainly the gastrointestinal and genitourinary tract. Studies indicate maternal colonization of 5 to 40%, in Brazil, this rate varies from 10 to 30%. GBS is considered the main etiological agent of neonatal sepsis. This study aims to describe the incidence of *Streptococcus agalactiae* in samples collected from the anal and vaginal sites of pregnant women from a private laboratory in Belém, Pará. Retrospective and descriptive study that analyzed 1,191 results of anal and vaginal swab cultures from January 2010 to October 2011, from the Microbiology sector database of the Paulo Azevedo Clinical Pathology Laboratory, in Belém, Pará. The collection and treatment of the samples was performed according to the technique recommended by the CDC. Statistical analysis performed by the Chi-square test (χ^2) using *BioEstat*, version 5.3, with $p < 0.05$ values considered significant. Among the 1,191 results of cultures analyzed, 357 (30%) were positive, 123/357 (34%) corresponding to the vaginal site, 71/357 (20%) to the anorectal site and 163/357 (46%) to the anorectal and vaginal sites combined. The p values found during the study were $p = 0.0395$, $p = 0.3547$ and $p = 0.8421$. The study shows that the rate of maternal colonization by GBS is at the extreme of the national average, that there were pregnant women with colonization in only one of the sites, thus reinforcing the importance of collecting the material in the two anatomical sites.

KEYWORDS: *Streptococcus agalactiae*, Neonatal infection, colonization anorectal and vaginal.

1 | INTRODUÇÃO

Estreptococos são cocos Gram-positivos e assim, têm apenas um plano de divisão, formando cadeias, por não se dissociarem após a divisão, e assim diferenciam-se do gênero estafilococos, que se dividem em 3 planos, agrupando-se semelhantemente a cachos de uva. Os estreptococos são catalase-negativos, característica que os diferencia do gênero Staphylococos. Constituem a principal

microbiota da cavidade oral, são agentes etiológicos de diferentes doenças (NISENGAND & NEWMAN, 1997).

A espécie *Streptococcus agalactiae* pertence ao grupo B de Lancefield realiza hemólise total em placas de ágar sangue (beta hemolítica), está presente na microbiota normal da membrana das mucosas de humanos, assim como de outros animais, colonizando principalmente o trato gastrointestinal e o geniturinário. É tratada como um importante agente causador de sepse neonatal, além de infecções em gestantes e pessoas com imunodeficiência (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008). Os estreptococos do grupo B (EGB) agrupam-se em colônias, pares ou cadeias (caso estejam em meio sólido) ou amontoadas (caso estejam em meio líquido). Medem entre 0,6 a 1 µm, são imóveis e não esporuladas, crescem principalmente na presença de dióxido de carbono (CO₂), são catalase negativa e sensíveis à penicilina e ampicilina (MURRAY & ROSENTHAL, 2010).

Em relação à medicina fetal, os casos de infecção pelo EGB em neonatos ainda são bem frequentes, causando vários quadros de infecções como meningites, distúrbios mentais, pneumonias, choque séptico e sepse (POGERE *et al.*, 2005).

Existem 3 formas clínicas que esta bactéria pode causar em neonatos, cada uma com seus períodos para a manifestação de seus sintomas. O primeiro e mais comum é o de início rápido ou precoce, que manifesta-se nas primeiras 24 horas ou em até os primeiros 7 dias de vida dos RNs; o de início tardio, que acomete após o sétimo dia ou em até 3 primeiros meses de vida; e o de início muito tardio, que pode se desencadear após 3 meses, estando esta como a menos comum entre as três. As manifestações clínicas podem ser desde desconforto respiratório, apneia ou até sinais de sepse que se iniciam nas primeiras 24 horas de vida e podem evoluir para óbito em até 48 horas nos casos mais graves. É indicado como método mais eficaz na prevenção deste quadro, a realização da antibiótico-profilaxia antes do parto, além de um pré-natal feito corretamente (CDC, 2014; MAIN & SLAGE, 2000; FIOD, 2011).

O presente estudo, fez um levantamento de dados epidemiológicos sobre a incidência desta bactéria em amostras coletadas de gestantes em um laboratório privado do Município de Belém do Pará, no período de Janeiro de 2010 a Outubro de 2011 com objetivo de verificar a incidência de *S. agalactiae* beta hemolítico do Grupo B em amostras de gestantes, além de, avaliar a relação entre a sazonalidade e a colonização das gestantes por *S. agalactiae*.

2 | METODOLOGIA

Estudo retrospectivo e descritivo, no qual analisou-se 1.191 resultados de culturas de *SWAB* anal e vaginal de amostras de gestantes do Município de Belém,

realizadas no período de janeiro de 2010 a outubro de 2011, arquivados no banco de dados do setor de Microbiologia do Laboratório de Patologia Clínica Paulo Azevedo, em Belém do Pará.

Inicialmente, o número amostral a ser trabalhado neste estudo era de 1.211 resultados de cultura, no entanto foram excluídas 20 culturas que não apresentavam coleta dos dois sítios, com isso o tamanho amostral utilizado foi 1.191 resultados de cultura para EGB.

Segundo a fonte de dados os procedimentos de coleta e processamento do material biológico foram realizados conforme a técnica preconizada pelo CDC, o material do introito vaginal e anal foi obtido através de *SWAB*, seguido de imersão em caldo Todd Hewitt seletivo para *Streptococcus* do grupo B e *Enterococcus*, incubado por um período mínimo de 4 horas a 35° C a 37 °C por 24 horas. Das culturas positivas foi realizado teste de CAMP em placas de Ágar Sangue de Carneiro a 5%. Com auxílio de uma alça bacteriologia foi inoculada em placa de Agar sangue uma colônia de *Staphylococcus aureus* beta hemolítica, em seguida foi inoculado perpendicular ao inóculo de *Staphylococcus aureus* uma colônia de *Streptococcus*, posteriormente a placa foi incubada em estufa a 35°C a 37°C por 24 horas. O teste foi considerado positivo quando observado o efeito seta na zona entre a fita e o semeio de *Streptococcus* (CDC, 2010).

Foram incluídos no estudo laudos de cultura para EGB em que a coleta de amostra das gestantes havia sido realizada no sítio vaginal e no sítio anorretal, e que também apresentassem a idade das gestantes.

Após analisados laudos de cultura para EGB os dados foram organizados em planilhas, os resultados foram tabulados e analisados em planilha Excel.

A análise estatística foi realizada pelo teste do Qui Quadrado (χ^2) utilizando o *BioEstat*, versão 5.3, para verificar se há ou não diferenças significativas entre os resultados obtidos entre os dois anos e entre o primeiro e o segundo semestre de cada um destes, sendo valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significantes.

A média de idades das gestantes, bem como, a idade mais frequente, a mínima, a máxima e o desvio padrão, também foram calculadas por meio do programa Excel 2013 em conjunto com o *BioEstat*, versão 5.3, para confirmação dos dados, utilizando análise estatística descritiva para dados quantitativos.

O uso dos dados que foram utilizadas nesse estudo foi devidamente autorizado mediante assinatura de uma “Declaração de Autorização do Uso dos Dados do Laboratório”.

3 | RESULTADOS

Foram analisados 1.191 resultados de cultura para o EGB, dentre estes, 357 (30%) eram positivos e 834 (70%) negativos (Tabela 1 e Gráfico 1).

Cultura para EGB	Frequência	Percentual
Positivas	357	30%
Negativas	834	70%
Total	1.191	100%

Tabela 1: Culturas para EGB realizadas entre janeiro de 2010 a outubro de 2011.

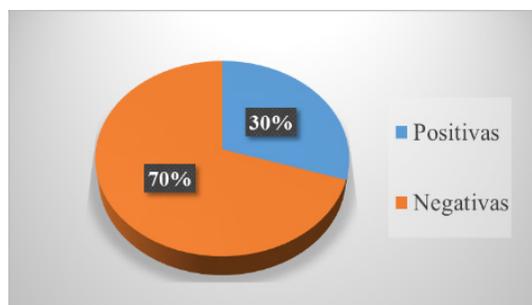


Gráfico 1: Percentual de gestantes colonizadas e não colonizadas pelo EGB.

Do total de amostras positivas, 123 (34%) correspondiam ao sítio vaginal, 71 (20%) ao sítio anorretal e 163 (46%) aos sítios anorretal e vaginal combinados (Tabela 2 e Gráfico 2).

Sítio	Total	Percentual
Vaginal	123	34%
Anorretal	71	20%
Anorretal e Vaginal	163	46%

Tabela 2: Total de amostras positivas por sítio de colonização.

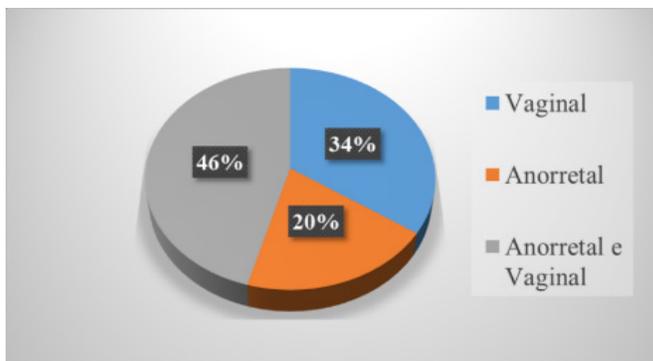


Gráfico 2: Percentual de positividade por sítio de colonização.

No ano de 2010, foram realizadas 665 culturas para EGB, sendo 216 (32%) positivas e 449 (68%) negativas, já em 2011 foram realizadas 526 culturas, sendo 141 (27%) positivas e 385 (73%) negativas (Tabela 3 e Gráfico 3), não havendo diferenças significativas com relação ao percentual entre os resultados obtidos no período do estudo, porém é estatisticamente significativa, pois apresenta o valor de $p=0,0395$.

Cultura para EGB	Ano 2010	Ano 2011	<i>p</i>
Positivas	216 (32%)	141 (27%)	0,0395
Negativas	449 (68%)	385 (73%)	
Total	665	526	

Tabela 3: Resultados positivos e negativos das culturas realizadas.



Gráfico 3: Percentual de resultados positivos e negativos para cultura do EGB nos anos de 2010 e 2011.

Dentre as 665 culturas realizadas em 2010, 323 no primeiro semestre e 342 no segundo, foram encontrados 216 resultados positivos distribuídos entre os semestres, 111 (34%) no primeiro e 105 (31%) no segundo, não havendo diferenças significativas estatisticamente ($p=0,3547$). Dentre as 526 culturas realizadas em 2011, 319 no primeiro semestre e 207 no segundo, os 141 resultados positivos encontraram-se distribuídos entre os semestres, 87 (27%) no primeiro e 54 (26%) no segundo (Tabela 4 e Gráfico 4), não havendo diferenças significativas estatisticamente ($p=0,8421$).

Ano	Total	Semestre		p	Positivas
		1°	2°		
2010	665	34% (111/323)	31% (105/342)	0,3547	216 (32%)
2011	526	27% (87/319)	26% (54/207)	0,8421	141 (27%)

Tabela 4: Resultados positivos distribuídos por semestre

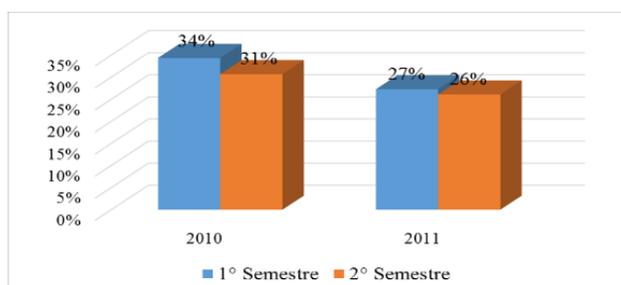


Gráfico 4: Percentual de positividade distribuídos por semestre no ano de 2010 e 2011.

Dentre os resultados positivos obtidos em 2010, 36 (17%) gestantes apresentavam colonização somente no sítio anorretal, 89 (41%) somente no sítio vaginal e 91 (42%) em ambos os sítios, anorretal e vaginal. Em 2011, dentre os resultados positivos obtidos, 35 (25%) gestantes apresentavam colonização somente no sítio anorretal, 34 (24%) somente no sítio vaginal e 72 (51%) em ambos os sítios, anorretal e vaginal (Tabela 5 e Gráfico 5).

Sítio	Ano	
	2010	2011
Anorretal	36/216 (17%)	35/141 (25%)
Vaginal	89/216 (41 %)	34/141 (24%)
Anorretal e vaginal	91/216 (42%)	72/141 (51%)
Total	216/665	141/526

Tabela 5: Resultados positivos distribuídos por sítio de colonização.

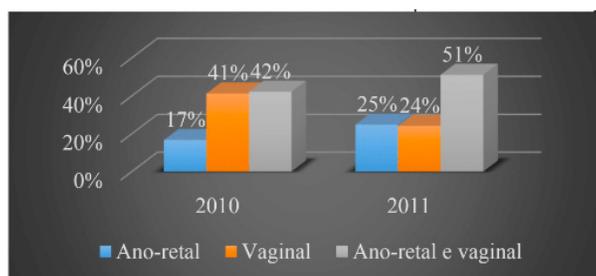


Gráfico 5: Percentual de isolamento distribuído por sítio de colonização.

A média de idade das gestantes que realizaram o exame foi igual a 29,8 anos, sendo 31 anos a idade mais prevalente, 15 anos a menor idade e 45 anos a maior. Dentre as gestantes que apresentaram cultura positiva para EGB, a média de idade foi igual a 29,7 anos, sendo 29 anos a idade mais prevalente, 16 a menor e 43 a maior idade (Tabela 6).

	Gestantes Que Realizaram O Exame	Gestantes Colonizadas
Média de Idade	29,8 anos	29,7 anos
Idade Mais Frequente	31 anos	29 anos
Menor Idade	15 anos	16 anos
Maior Idade	45 anos	43 anos

Tabela 6: Média de idade, frequência, maior e menor idade entre as pacientes que realizaram o exame e as que estavam colonizadas.

A tabela 7 mostra o número de pacientes que realizaram o exame em relação a suas idades.

	Gestantes Que Realizaram O Exame	Gestantes Colonizadas
Menores de 18 anos	15 pacientes	3 pacientes
Entre 18 e 40 anos	1148 pacientes	347 pacientes
Mais de 40 anos	28 pacientes	7 pacientes

Tabela 7: Número de gestantes que realizaram o exame e que estavam colonizadas organizado por idades.

4 | DISCUSSÃO

O percentual de isolamento de 30% encontrado durante o período do estudo está em concordância com os resultados relatados na literatura mundial que variam de 5 a 40% (BERALDO *et al.*, 2004), e estão no extremo da média brasileira, que varia entre 10 a 30% (LINHARES *et al.*, 2011).

Isolamento de EGB em outros países: na Turquia (8%), Estados Unidos (18,6 a 21,1%), Chile (19,9%), Índia/Paquistão (12%), Ásia/Pacífico (19%), África (19%), Norte da África (22%) (BELMAR *et al.*, 2002; BARBAROS *et al.*, 2005; POGERE *et al.*, 2005).

Os primeiros estudos no Brasil sobre EGB foram realizados na década de 80, nos Estados do Rio de Janeiro e Santa Catarina, os quais revelaram taxas de colonização materna de aproximadamente 25% (BENCHETRIT *et al.*, 1982; SMÂNIA-JÚNIOR *et al.*, 1986).

Este trabalho apresentou percentuais de isolamento de EGB condizentes com achados em outros trabalhos realizados no país, no entanto, apresentou uma taxa acima de valores encontrados em Minas Gerais, São Luís do Maranhão, Santa Catarina e São Paulo (cidade de Jundiá), em que fora utilizado metodologia semelhante à usada em nosso estudo, e obtendo os seguintes valores, 15%, 20,4%, 21,6% e 14,6%, respectivamente (POGERE *et al.*, 2005; SIMÕES *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2008; CAETANO, 2008).

No entanto, o valor de 30%, encontrado neste trabalho, é condizente com achados em trabalhos nas cidades de Campinas e Ribeirão Preto, em São Paulo, que utilizaram metodologia semelhante e encontraram os percentuais de 27,6% e 33,9%, respectivamente (EL BEITUNE *et al.*, 2006; NOMURA *et al.*, 2006).

A metodologia utilizada neste estudo, de coleta do material biológico feita dos dois sítios anatômicos, permitiu observar que se tivesse realizada coleta apenas de um sítio, gestantes colonizadas poderiam não ter sido identificadas, visto que, trinta e quatro por cento apresentaram colonização apenas no sítio vaginal e vinte por cento apresentaram colonização somente no sítio anal. Vários estudos confirmam nossos achados, de casos positivos apenas em um local, assim, esses casos não

seriam diagnosticados se a coleta não tivesse sido realizada em ambos os sítios, vaginal e anorretal (BERALDO *et al.*, 2004; POGERE *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2008).

O estudo também nos revela uma alta taxa de gestantes que estavam colonizadas em ambos os sítios, valor superior às taxas de gestantes que estavam colonizadas em apenas um dos sítios. Reforçando desta forma, a importância de se realizar a coleta em ambos os sítios anatômicos, pois alguns estudos sugerem que as taxas de isolamento são maiores, quando é utilizada a associação dos dois sítios de coleta, tendo um aumento de 5 a 25% na detecção do EGB (QUINLAN *et al.*, 2000; CDC, 2004; PHILIPSON *et al.*, 2007).

Em alguns trabalhos os valores encontrados podem não estar mostrando a verdadeira realidade sobre a taxa de colonização materna pelo EGB, no Brasil, os dados são escassos e a principal falha encontrada em alguns estudos é a não utilização de meios seletivos e a coleta de amostra apenas do sítio vaginal (POGERE *et al.*, 2004). Este fato é bastante preocupante, pois podem estar ocorrendo altas taxas de infecção neonatal sem a devida identificação (REZENDE *et al.*, 2010).

No Estado de São Paulo, foi detectado um índice de colonização materna de 1,9%, valor muito diferente do encontrado neste estudo, este fato pode ter ocorrido, devido à metodologia utilizada no trabalho, de coleta da amostra apenas do sítio vaginal (sabe-se que a coleta realizada nas regiões vaginal e retal aumenta a sensibilidade do exame) e inoculação em meio de cultura não seletivo (CARVALHO *et al.*, 2001; SCHRAG *et al.*, 2002).

Costa e colaboradores (2010) encontraram uma taxa de colonização de 4,7%, o baixo percentual de isolamento, pode ter ocorrido devido ao fato de o estudo não ter utilizado o meio seletivo Todd Hewitt para o isolamento da bactéria e ter feito o uso de um único *SWAB* para a vagina e o reto.

Os estudos que não utilizaram metodologia semelhante à utilizada neste, detectaram taxas de colonização materna muito abaixo das encontradas por nós, em contrapartida, os estudos que utilizaram metodologias semelhantes à nossa, encontraram percentuais de colonização materna relativamente próximos aos detectados neste trabalho, mostrando a necessidade de se utilizar a metodologia preconizada pelo CDC, de coleta nos dois sítios anatômicos, com dois *SWABS* diferentes e inoculação em meio específico Todd Hewitt.

Em nossa região, os dados sobre incidência desta bactéria são muito escassos, no Pará, o último trabalho realizado em 2003 com 50 gestantes, coletando apenas amostra do sítio vaginal e utilizando para a semeadura meio não específico, caldo Tioglicolato, que encontrou um percentual de 14% de colonização materna pelo EGB (DIAS, 2003).

No entanto, nossas análises trouxeram novos dados, para somar ao pouco

que se tem sobre este agente para a região.

Muitos autores indicam que as variações nas taxas de colonização por *S. agalactiae*, estejam relacionadas a vários fatores, dentre eles, o período gestacional no qual as culturas são realizadas, os sítios de coleta da amostra, os métodos bacteriológicos utilizados para a detecção do agente e características da população alvo do estudo (REGAN *et al.*, 1991; BERALDO *et al.*, 2004).

De acordo com Rauen e colaboradores (2005) a utilização de meio de cultura seletivo contendo antimicrobianos aumenta sensibilidade dos resultados. Neste estudo, foi utilizado o meio de cultura Todd Hewitt, ideal para o cultivo do EGB, suplementado com gentamicina e ácido nalidíxico, baseado na justificativa de que os sítios de coleta da amostra são as mucosas vaginal e anorretal, colonizado por uma abundante e heterogênea microbiota, então, o meio seletivo tem o objetivo de inibir o crescimento de outros microrganismos saprófitas da microbiota vaginal, facilitando a identificação do EGB e aumentando a possibilidade de crescimento deste, mesmo em amostras com uma população mínima da bactéria (QUINLAN *et al.*, 2000; CDC, 2002; SCHRAG *et al.*, 2002; GOMES *et al.*, 2007).

Sabe-se que a taxa de detecção das culturas é de aproximadamente 87% (NANCY & SCHUCHAT, 1997). No entanto, a utilização de meios mais seletivos pode aumentar a taxa de isolamento em até 50% (TUROW & SPITZER, 2000; CDC, 2002).

Em relação à média de idade das gestantes colonizadas, o valor de 29,7 anos encontrado por nós, está em concordância com outros autores que adotaram metodologia semelhante à utilizada neste trabalho, tanto para a coleta, quanto para a identificação da bactéria, como o de Reis e colaboradores em 2008, Nomura e colaboradores em 2009 e Souza também em 2009, que observaram um maior índice de colonização em gestantes com mais de 20 anos.

Neste estudo foi analisado um período considerável, de aproximadamente dois anos, 22 meses especificamente, a literatura não fornece informações sobre sazonalidade da incidência de colonização materna por EGB.

5 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no estudo, nos revelam uma alta taxa de colonização materna, no extremo da média nacional. O estudo também detectou gestantes que estavam colonizadas em apenas um dos sítios anatômicos, reforçando assim a necessidade de se realizar a pesquisa do EGB em ambos os sítios. As etapas pré-analíticas e analíticas do processamento das amostras, são de grande importância e interferem diretamente nos resultados das análises permitindo assim, um diagnóstico seguro e eficaz.

Observamos que a incidência da colonização materna pelo EGB independe da sazonalidade, na pesquisa houve uma diferença não significativa entre os resultados positivos do primeiro e do segundo semestre de cada ano estudado.

O trabalho foi realizado com pacientes residentes na capital do Estado, propomos que sejam realizados estudos futuros em outros municípios para que se possa ter mais dados sobre as taxas de colonização das gestantes por este agente, propomos também que todas as prefeituras abracem a ideia de rastrear a colonização pelo EGB, assim muitas vidas serão salvas, visto que, a colonização ocorre a uma taxa maior que 30%, e 50 % dos contaminados possivelmente irão a óbito.

REFERÊNCIAS

BARBAROS, I.; MURAT, C.; MEHMET, V.; ISMET, T.A.; CAN, K.; SUKUFU, D.; ISMAIL, C.; YILDIZ, P. **The colonization incidence of group B streptococcus in pregnant women and their newborns in Istanbul.** *Pediatrics International* 47 (1): 64-6, 2005.

BELMAR, J. C.; ABARZÚA, C. F.; BEKER, V. J.; GUSMÁN, A. M.; GARCÍA, C. P.; OYARZÚN EBENSBERGER, E. **Estudio de Sensibilidad Antimicrobiana de 183 cepas de *Streptococcus agalactiae* Aisladas en Región Vagino-Perineal de Embarazadas en el Tercer Trimestre.** *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología* 67 (2): 106-9, 2002.

BENCHETRIT, L. C.; FRACALANZZA, S. E.; PEREGRINO, H.; CAMELO, A. A.; SANCHES, L. A. **Carriage of *Streptococcus agalactiae* in Women and Neonates and Distribution of Serological Types: a Study in Brazil.** *Journal of Clinical Microbiology* 15 (5):787-90, 1982.

BERALDO, C.; JAMUSSE, A.; OSTRESKY, H.; MATSUO, T. **Prevalência da Colonização Vaginal e Anorretal por Estreptococo do Grupo B em Gestantes do Terceiro Trimestre.** *Revista Brasileira De Ginecologia E Obstetricia* 7 (26): 543-549, 2004.

CAETANO, M. S. S. G. **Colonização pelo *Streptococcus agalactiae* (EGB) em Gestantes Atendidas na Rede Pública de Uberaba-MG.** Dissertação (Mestrado em Patologia Clínica) – Minas Gerais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro 2008. 78p.

CARVALHO M. H. B.; BITTAR, R.E.; MAGANHA, P. P. A. S.; FONSECA, E. V. B.; ZUGAIB, M. **Incidência de Colonização Vaginal por *Streptococcus agalactiae* na População Geral De Gestantes.** *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia* 12 (3): 108-11, 2001.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Prevention of perinatal group B streptococcal disease - Revised guidelines.** *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51 (11): 1-22, 2002.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Laboratory practices for prenatal group B *Streptococcal* screening-seven states, 2003.** *Morbidity and Mortality Weekly Report* 53 (23): 506-9, 2004.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Guidelines for the Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease.** *Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guidelines from CDC, 2010.* 36p.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **About Group B Strep**, 2014. 1p.

COSTA, A. L. R.; LAMY FILHO, F.; CHEIN, M. B. C.; BRITO, L. M. O.; LAMY, Z. C.; ANDRADE, K. L. **Prevalência de colonização por estreptococos do grupo B em gestantes atendidas em maternidade pública da região Nordeste do Brasil**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 30 (6): 274-80, 2008.

DIAS K. R. **Pesquisa de *Streptococcus Agalactiae* em gestantes residentes em Belém-Pará**. Dissertação (Trabalho de mestrado) – Belém, Universidade Federal do Pará, 2003 Belém. 50p.

EL BEITUNE, P.; DUARTE, G.; MAFFEI, C. M.; QUINTANA, S. M.; DE SA ROSA, E. S. A. C.; NOGUEIRA, A. A. **Group B *Streptococcus* Carriers Among HIV – 1 Infected Pregnant Women: Prevalence and Risk Factors**. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 128: 54 – 58. 2006.

FIOD, H. P.; **Prevenção Da Doença Perinatal Pelo Estreptococo Do Grupo B**. São Paulo, 2011. Disponível em:< www.sbp.com.br/pdfs/SBPEGBCDC2011-%282%29.pdf >. Acesso em 23/03/2015.

GOMES, C.M.; BITTAR, R. E.; ZUGAIB, M. **Rastreamento e Profilaxia da Infecção Neonatal Pelo Estreptococo do Grupo B**. Revista Feminina 10 (35): 657-662, 2007.

LINHARES, J. J.; CAVALCANTE NETO, P. G.; VASCONCELOS, J. L. M.; SARAIVA, T. V.; RIBEIRO, A. M. F.; SIQUEIRA, T. M.; ROCHA, F. R. **Prevalência de colonização por *Streptococcus agalactiae* em gestantes atendidas em maternidade do Ceará, no Brasil, correlacionando com os resultados perinatais**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 33 (12): 395-400, 2011.

MAIN, E. K.; SLAGE, T. **Prevention of Early-Onset Invasive Neonatal Group B Streptococcal Disease in a Private Hospital Setting: The Superiority of Culture-Based Protocols**. In: SIXTY-SIXTH ANNUAL MEETING OF THE PACIFIC COAST, 2000.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 960p.

NANCY, R. E.; SCHUCHAT, A. **Opportunities for prevention of perinatal group B streptococcal disease: a multistate surveillance analysis**. Obstetrics & Gynecology 90 (6): 901-6, 1997.

NOMURA, M. L.; PASSINI JUNIOR, R.; OLIVEIRA, U. M. **Selective versus non-selective culture medium for group B *streptococcus* detection in pregnancies complicated by preterm labor or preterm-premature rupture of membranes**. Brazilian Journal of Infectious Diseases 10 (4): 247-250, 2006.

NOMURA, M. L.; JÚNIOR, R. P.; OLIVEIRA, U. M.; CALL, R. **Colonização Materna e Neonatal Por Estreptococo Do Grupo B Em Situações De Ruptura Pré-Termo De Membranas e No Trabalho De Parto Prematuro**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 31 (8): 397 – 403, 2009.

NISENGAND & NEWMAN. **Microbiologia Oral e Imunologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 1997. 395p.

POGERE, A.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; FREITAS, P. F.; D'ACAMPORA, A. J.; ZUNINO, J. N. **Prevalência Da Colonização Pelo Estreptococo Do Grupo B Em Estantes Atendidas Em Ambulatório Pré-Natal**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 27 (4): 174-180, 2005.

QUINLAN, J. D.; HILL, D. A.; MAXWELL, B. D.; BOONE, S.; HOOVER, F.; LENSE, J. J. **The necessity of both anorectal and vaginal cultures for group B streptococcus screening during pregnancy**. The Journal of Family Practice 49 (5): 447-8, 2000.

RAUEN, N. C.; WESENBERG, E. M.; CARTWRIGHT, C. P. **Comparison of selective and nonselective enrichment broth media for the detection of vaginal and anorectal colonization with group B streptococcus**. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 51 (1): 9-12, 2005.

REGAN, J. A.; KLEBANOFF, M. A.; NUGENT, R. P. **The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy**. Vaginal Infections and Prematurity Study Group. Obstetrics & Gynecology 77 (4): 604-610, 1991.

REIS, A. L.; FILHO, F. L.; COSTA, M. B.; OLIVEIRA, L. M.; LAMY, Z. C.; ANDRADE, K. L. **Prevalência De Colonização Por Estreptococos Do Grupo B Em Gestantes Atendidas Em Maternidade Pública Da Região Nordeste Do Brasil**. Revista Brasileira De Ginecologia E Obstetrícia 30 (6): 274 – 280, 2008.

REZENDE, C.; AZEREDO, A.; SILVEIRA, D. G.; MALTA, R. C. G.; CASTRO, V. C. O.; MIZIARA, R. C. **Pesquisa de Streptococcus agalactiae na secreção vaginal e anal de gestantes de um município do noroeste paulista**. Revista Uniara 13 (2): 194-201, 2010.

SCHRAG, S.; GORWITZ, R.; FULTZ-BUTTS, K.; SCHUCHAT, A. **Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease**. Revised Guidelines from CDC. Morbidity and Mortality Weekly Report Centers for Disease Control and Prevention Surveill Summ 51: 1-22, 2002.

SIMÕES, J.; POLETTI, G.; PORTUGAL, P.; BROLAZO, E.; DISCACCIATI, M.; CREMA, G. **Influência Do Conteúdo Vaginal De Gestantes Sobre A Recuperação Do Estreptococo Do Grupo B Nos Meios De Transporte Stuart e Amies**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 27(11): 672-676, 2005.

SMÂNIA-JÚNIOR, A.; BENCHETRIT, L. C.; SMÂNIA, E. F. A.; FRACALANZZA, S. E. L. **Isolamento de estreptococos do grupo B de gestantes e neonatos em Florianópolis, Santa Catarina**. Revista Brasileira de Análises Clínicas 18 (4): 103-8, 1986.

TUROW, J.; SPITZER, A. R. **Group B streptococcal infection early onset disease controversies in prevention guidelines and management strategies for the neonate**. Clinical Pediatrics 39 (6): 317-26, 2000.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 780p.

ASCARIDÍASE: UM GRAVE PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL E NO MUNDO

Data de aceite: 23/09/2020

Ana Clara Damasceno Soares

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Antonio Rosa de Sousa Neto

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Amanda de Oliveira Sousa Cardoso

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Ana Raquel Batista de Carvalho

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Erika Morganna Neves de Oliveira

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Andreia Rodrigues Moura da Costa Valle

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Odinéa Maria Amorim Batista

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Maria Eliete Batista Moura

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Daniela Reis Joaquim de Freitas

Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

RESUMO: O Brasil é um dos países campeões em doenças parasitárias. Uma das parasitoses predominantes no país de norte a sul é a ascaridíase, causada por *Ascaris lumbricoides*, um do helminto com ampla distribuição geográfica e causador de danos a hospedeiros humanos. O Objetivo deste trabalho é apresentar uma revisão e uma reflexão sobre a ascaridíase, apresentando seu modo de transmissão, sintomas, epidemiologia, tratamento e profilaxia. A sua transmissão ocorre pela ingestão de água ou alimentos contaminados com ovos férteis do parasito, e a poeira, aves e insetos são capazes de veicular mecanicamente ovos de *A. lumbricoides*. O homem é o único hospedeiro ao longo do ciclo, desde a infecção até a liberação de ovos nas fezes do hospedeiro por parte dos helmintos adultos. Os sintomas da ascaridíase podem ser pulmonares ou intestinais, e dependem do órgão atingido, com alterações que podem causar subnutrição, depauperamento físico e mental, convulsões, edema e urticária, obstrução intestinal, apendicite, pancreatite, cólica biliar, colelitíase, apêndice cecal. O tratamento é realizado com albendazol, mebendazol, levamisol, pamoato de pirantel, piperazina e ivermectina. Para ascaridíase ectópica o tratamento também pode ser à base de antimicrobianos e anti-convulsivos.

PALAVRAS-CHAVE: Ascaridíase; atenção primária; saúde pública.

ABSTRACT: Brazil is one of the champion countries in parasitic diseases. One of the predominant parasites in the country from north to south is ascariasis, caused by *Ascaris*

lumbricoides, one of the helminths with a wide geographical distribution and causing damage to human hosts. The objective of this work is to present a review and reflection on ascariasis, presenting its mode of transmission, symptoms, epidemiology, treatment, and prophylaxis. Its transmission occurs through the ingestion of water or food contaminated with fertile eggs of the parasite, and dust, birds, and insects are capable of mechanically transporting *A. lumbricoides* eggs. Man is the only host throughout the cycle, from infection to the release of eggs in the host's feces by adult helminths. Symptoms of ascariasis can be pulmonary or intestinal, and depend on the affected organ, with changes that can cause malnutrition, physical and mental depletion, seizures, edema and urticaria, intestinal obstruction, appendicitis, pancreatitis, biliary colic, cholelithiasis, appendix. Treatment is carried out with albendazole, mebendazole, levamisole, pyrantel pamoate, piperazine, and ivermectin. For ectopic ascariasis, the treatment can also be based on antimicrobials and anti-convulsants.

KEYWORDS: Ascariasis; primary attention; public health.

INTRODUÇÃO

O parasitismo por helmintos há muito tempo é considerado um grave problema de saúde pública em muitos países do mundo, principalmente nos subdesenvolvidos. O Brasil é um dos países campeões em doenças decorrentes do baixo desenvolvimento socioeconômico, condições sanitárias precárias e falta de higiene (FERREIRA; ANDRADE, 2005; BASSO et al., 2008; BIASI et al., 2010). As geohelmintíases, infecções parasitárias humanas de grande relevância para a saúde pública, são as doenças tropicais negligenciadas (Neglected Tropical Diseases/NTDs) mais predominantes da América Latina e consideradas as infecções mais prevalentes da humanidade (PULLAN; BROOKER, 2012).

Os geohelmintos que possuem mais relevância são: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, ancilostomatídeos e *Strongyloides stercoralis*. Estes parasitos causam anemia por deficiência de ferro, desnutrição, prejudicam o crescimento e desenvolvimento cognitivo das crianças, além de causar resultados adversos na gravidez e reduzir o desempenho em adultos (ECHAZÚ et al., 2015; CLAUS et al., 2018). Estas espécies são parasitos nematódeos transmitidos pelo solo e possuem ciclo de vida restrito ou não ao sistema digestivo do hospedeiro, não envolvendo um hospedeiro intermediário ou um vetor (GREIGER et al., 2004).

Ascaris lumbricoides é um dos helmintos citados com frequência, por sua ampla distribuição geográfica e danos causados aos hospedeiros humanos. Está agrupado no filo Nematoda e na família Ascaridae, subfamília Ascarinae, representadas principalmente por *Ascaris lumbricoides* Linnaeus, 1758 e *A. suum* Goeze (1882), que parasitam, respectivamente, o intestino delgado de humanos e de suínos e são responsáveis pela doença denominada ascaridíase, ascaríase, ascaridose e ascariose. Estas espécies são também popularmente conhecidas

como lombriga ou bicha (NEVES, 2016, p. 259).

Para a arqueoparasitologia, o helminto *Ascaris lumbricoides* e *Ascaris suum* possuem um antepassado em comum, o qual era parasita de humanos e de porcos selvagens, mas por conta da domesticação durante o período neolítico ocorreu a evolução do parasita e conseqüentemente a sua especialização, fato esse que pode ter ocorrido há 10.000 anos atrás. Como se sabe os parasitas possuem DNA diferente, mas existe uma similaridade na sequência mitocondrial dos mesmos provando uma ocasional hibridação e possivelmente um antepassado em comum. O achado mais antigo tem 30.000 anos e foi encontrado em Arcy-sur-Cure, na França (LOREILLE; BOUCHET, 2003).

Este capítulo tem o objetivo de apresentar uma revisão e uma reflexão sobre a parasitose causada por *A. lumbricoides* apresentando seu modo de transmissão, sintomas, epidemiologia, tratamento e profilaxia.

MODO DE TRANSMISSÃO

Ascaris lumbricoides também conhecido como lombriga, é o que apresenta maior taxa de infecção dentre os geohelmintos que afetam o homem (BETHONY et al., 2006; SABOYÁ et al., 2013). A transmissão ocorre pela ingestão de água ou alimentos contaminados com ovos férteis do parasito. Muitas vezes a água utilizada para irrigação de hortas, lavar frutas e verduras estão contaminadas e acarretam na contaminação desses alimentos com ovos viáveis. Além disso, poeira, aves e insetos são capazes de veicular mecanicamente ovos de *A. lumbricoides*. O homem é o único hospedeiro ao longo do ciclo, desde a infecção até a liberação de ovos nas fezes do hospedeiro por parte dos helmintos adultos. O ciclo completo de transmissão e desenvolvimento do *A. lumbricoides* está representado na Figura 1.

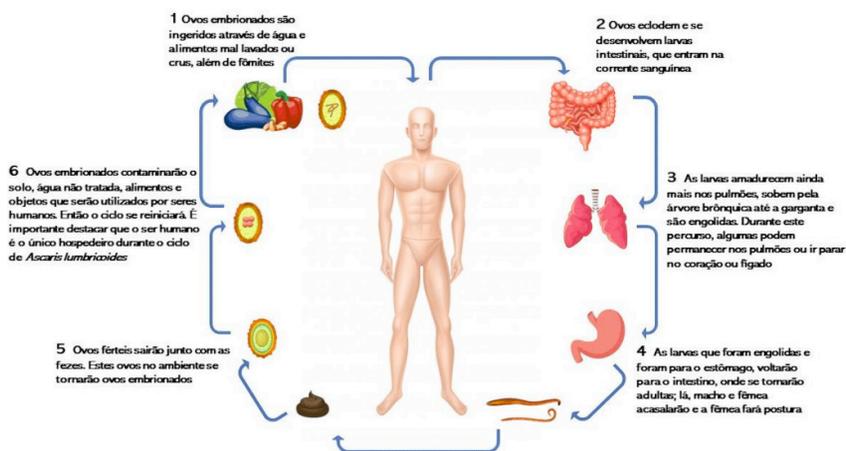


Figura 1. Ciclo biológico de *Ascaris lumbricoides* no ser humano.

Geofagia é um fator de risco significativa em crianças, elas costumam se infectar ao brincar em solos contaminados, uma vez que suas mãos sujas podem levar os ovos diretamente para a boca ou contaminar brinquedos e objetos – chamados de fômites – que entrarão, posteriormente, em contato com a boca de outras crianças e as contaminarão (HALL; HOLLAND, 2000; SCOTT, 2008). Outro fator que pode agravar o aumento de parasitoses se refere as inundações. A maioria dos municípios brasileiros não possuem o esgoto tratado, e como a infecção por *A. lumbricoides*. ocorre pela ingestão de ovos embrionados procedentes do solo, água ou alimentos contaminados, quando ocorre inundações ou alagamentos, caso essa água seja utilizada para consumo humano, as pessoas podem adquirir essas infecções por esse parasita (BARBOSA, 2010; MASSARA et al. 2003).

Na transmissão de *Ascaris sp.* o ambiente também exerce um importante papel, quando seus ovos são eliminados junto com as fezes e ainda não apresentam capacidade de infecção, pois só é adquirida após o processo evolutivo do helminto que dura cerca de três semanas, necessitando para isso de locais que sejam úmidos, quentes e sombreados, pela qual a água e alimentos podem ser contaminados, e acarretar na infecção caso sejam ingeridos (CAMPOS et al. 2002).

SINTOMAS

Os sintomas da ascaridíase são manifestados de acordo com o número de parasitos adultos albergados pelo indivíduo. Infecções em massa podem resultar no bloqueio mecânico do intestino delgado, principalmente em crianças, ou seja, o funcionamento natural do intestino é alterado e o paciente precisa ir atrás de outros meios para conseguir evacuar (MELO et al., 2004).

Apesar das infecções por geohelmintos serem raramente letais, elas causam morbidade imensa: acarretam grandes deficiências nutricionais – em especial anemia -, físicas, intelectuais e cognitivas (LOZOFF et al., 2006; BROOKER, 2010). As manifestações clínicas da doença podem ser agudas ou crônicas. Durante a passagem das larvas, na fase aguda, dos pulmões para os alvéolos, os hospedeiros podem ser acometidos com inflamação pulmonar aguda, com ocorrência de vários pontos hemorrágicos no órgão e inchaços dos alvéolos com infiltrado inflamatório por neutrófilos e eosinófilos, podendo ocorrer lesões hepáticas e pulmonares. Nessa mesma passagem de larvas pode ser formado um quadro pneumático com febre, crise de asma, dispneia, tosse, manifestações alérgicas, bronquite e tais conjuntos de sinais denominando a síndrome de Loeffler (O'LORCAIN; HOLLAND, 2000; DOLD; HOLLAND, 2011; SILVA; MASSARA, 2016).

Os sintomas dependem do órgão atingido, as alterações podem ser de várias formas: pela ação espoliadora, provocando subnutrição, depauperamento físico e

mental, devido ao grande consumo de proteínas, lipídeos, carboidratos, intolerância temporária a lactose e vitaminas A e C pelas larvas; pela ação tóxica (reações que ocorrem envolvendo a imunidade), que ocorre entre anticorpos alérgenos do hospedeiro e os antígenos parasitários podendo causar convulsões, edema e urticária; pela ação mecânica (ação que pode interferir no fluxo alimentar e na absorção dos alimentos), ocorre irritação na parede intestinal, podendo enovelar-se ocasionando obstrução intestinal; pela localização ectópica (fora do intestino), quando o paciente apresenta grande carga parasitária ou quando ocorre ação irritativa no verme por medicamento com pequena dosagem ou impróprio, pode fazer o verme deslocar-se do intestino delgado para outro local anormal. Pode ocasionar apendicite, pancreatite, cólica biliar, colelitíase, apêndice cecal ou até mesmo a saída do verme pela boca e narinas. Nas crianças é bem comum o aparecimento de manchas claras e circulares pelo rosto, tronco e braços, denominados de “pano”, essas manchas desaparecem com a eliminação do verme (CHOI; SEO, 2017; ISMAILI-JAHA et al., 2018; REY, 2002; NETO; VOLPI; REIS, 2003; NEVES, 2005; Van Eijk et al., 2009).

É válido ressaltar que na tosse com muco o catarro pode ser sanguinolento e apresentar larvas do helminto. Estes casos são relativamente comuns, e ocorrem quando há infecções muito grandes ou quando os vermes sofrem com ação de alimentos condimentados ou por uso impróprio de algumas drogas (NEVES, 2005).

Na fase crônica da ascariíase, a presença de grande número de parasitos no intestino pode ter ação espoliadora, os helmintos podem enovelar-se na luz intestinal, causando obstrução que pode se complicar com o desenvolvimento de volvulus (obstrução causada por nó do trato intestinal ou torção), volvulus com gangrena e intussuscepção (condição em que parte do intestino sofre uma invaginação) (KANNEGANTI; MAKKER; REMY, 2013).

No decorrer da ascariíase ocorrem cólicas abdominais com frequência devido à posição em U do parasito que exerce pressão no intestino. A distensão do intestino acarreta o enovelamento dos nematoides, irritação, espasmo da musculatura lisa que tem como resultado uma reação alérgica, liberação de histamina do próprio corpo do verme e obstrução intestinal (REY, 2002; CIMERMAN; CIMERMAN, 2005). Podem ocorrer também dor epigástrica, má digestão, diarreia, náusea, sensação de coceira no nariz, sono inquieto, ranger de dentes à noite devido à presença do parasita no pulmão, pelo abortamento de vermes adultos e pela broncopneumonia. (REY, 2002; NETO; VOLPI; REIS, 2003; NEVES, 2005; ANDRADE et al., 2010).

Raramente ocorre infestação da vesícula biliar com vermes de *Ascaris*, representando apenas 2,1% dos casos. Isto ocorre em geral devido à carga parasitária intestinal elevada do hospedeiro. Outro quadro raro é o abscesso hepático, que se resume a um total de 1%. Quando helmintos que estão no duodeno

invadem o orifício ampular podem induzir a quadros de cólica biliar ou de pancreatite aguda, e podem causar bloqueio no ducto cístico, causando distensão da vesícula e levando a episódios de colelitíase aguda. A história prévia de cirurgia no trato biliar predispõe a ascaridíase biliar (WANI, 2011; CHAKRABARTI et al., 2011; ELALDI et al., 2003; BUDE e BOWERMAN, 2000).

EPIDEMIOLOGIA

A. lumbricoides infecta seres humanos e *A. suum* é encontrado em porcos, respectivamente. Morfologicamente e geneticamente as duas espécies são muito semelhantes, sugerindo que façam parte da mesma espécie, ocorrendo transmissão cruzada de caráter zoonótico entre pessoas e seus porcos. São microscópicas as diferenças morfológicas identificadas: o *A. lumbricoides* possui lábios côncavos, três lábios que envolvem a boca com dentículos pequenos e triangulares, o *A. suum* possuem dentes maiores, em formato triangulares e retos (CROMPTON, 2001; REY, 2008; DUTTO; PETROSILLO, 2013). Acredita-se que a infecção humana possa ter origem em uma forma híbrida de *Ascaris*, porém, possivelmente transmitida por porcos. De acordo com os casos humanos zoonóticos existentes na literatura, 80% apresentam carga parasitária baixa (NEJSUM et al., 2005; DUTTO; PETROSILLO, 2013), enquanto nos países em desenvolvimento a transmissão de pessoa para pessoa é predominante (PENG et al., 2005).

O *A. suum* tem nos suínos os hospedeiros definitivos, sendo uma parasitose de importância mundial na suinocultura, resultando em perdas econômicas significativas para esta indústria; uma vez que pode prejudicar o processo de absorção intestinal, diminuir os ganhos de massa corporal, diminuir a qualidade da carne ou diminuir o teor de carne na carcaça e interferir na eficácia de vacinas (FRONTERA et al. 2005; DOLD; HOLLAND, 2011; KNECHT; JANKOWSKA; ZALESNY, 2012; VLAMINCK et al., 2014; ALVES; CONCEIÇÃO; LELES, 2016).

A ascaridíase humana representa um problema de saúde pública e possui grande impacto socioeconômico refletindo em uma perda anual estimada de 1,31 milhões de anos de vida ajustados por incapacidade (DALYs), medida que leva em consideração a soma dos anos de vida perdidos por morte prematura e o número de anos vividos com alguma incapacidade devido à morbidade causada pela doença (BETHONY et al., 2006; WHO, 2012; HOTEZ et al., 2014).

A Ascaridíase está distribuída por mais de 150 países e territórios, atinge cerca de 70% a 90% das crianças de 1 a 10 anos. Apesar de ser cosmopolita, essa infecção possui prevalência de 73% na Ásia, 12% na África e 8% na América Latina. As condições climáticas influenciam diretamente nas taxas de infecção. No geral, a prevalência é baixa em regiões áridas e alta onde o clima é úmido e quente,

condição ideal para a sobrevivência e o embrionamento dos ovos (NEVES, 2016). A distribuição espacial de *A. lumbricoides* está demonstrada na Figura 2.

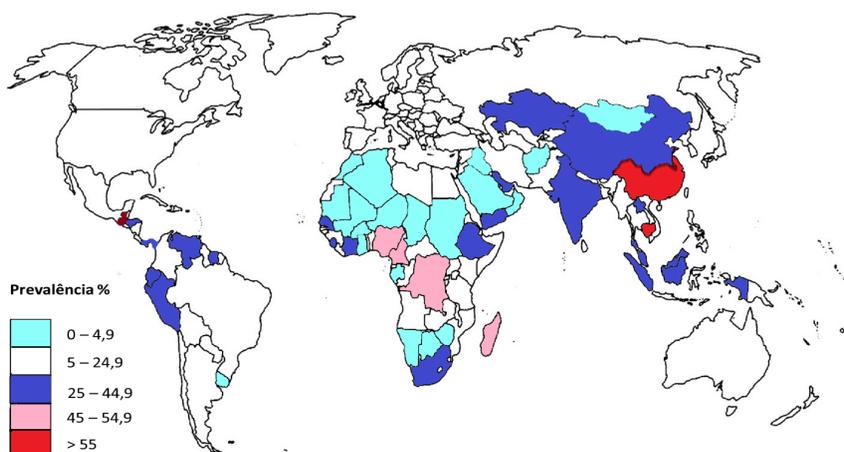


Figura 2. Distribuição mundial da ascaridíase humana. Adaptado de Cavallero et al. 2013.

Fonte: Os autores, 2020.

TRATAMENTO

Os medicamentos indicados para o tratamento da ascaridíase intestinal são: albendazol, mebendazol, levamisol, pamoato de pirantel, piperazina e ivermectina. Estes medicamentos atuam desintegrando e matando o verme, que são eliminados pelas fezes (INNOCENTE; OLIVEIRA; GEHRKE, 2009; ANDRADE et al, 2010; NEVES, 2016).

O albendazol é indicado usar na posologia de 400 mg/dose única; ele bloqueia a absorção de glicose pelo parasito. O mebendazol deve ser usado na posologia de 100 mg, 2 vezes ao dia durante 3 dias; é um anti-helmintico de largo espectro, bloqueia a captação de glicose e altera funções digestivas gerando um processo autolítico. O levamisol também pode ser utilizado em adultos e deve ser administrados 150 mg por via oral em dose única; em crianças abaixo de 8 anos devem ser utilizados 40 mg e naquelas acima de 8 anos devem ser administrados 80 mg. Este medicamento tem ação rápida que paralisa a musculatura do verme após segundos de contato, ao agir nos gânglios nervosos do nematoide, fazendo com que os vermes sejam expelidos pelos movimentos peristálticos normais dentro de 24 horas após a sua administração. Pirantel causa uma paralisia espástica do helminto, e usa-se dose única de 10 mg/kg. A piperazina causa paralisia neuromuscular no

helminto seguida de expulsão passiva, pelo peristaltismo intestinal, evitando assim a absorção de seus produtos tóxicos, porém não o absorve, é ideal para o uso em casos de obstrução intestinal e ascaridíase nas vias biliares. Se usa uma dose única de 4 g – 50 a 75 mg/Kg (ou máximo de 3 g para crianças) de 2 a 5 dias. Ivermectina causa paralisação da musculatura os helmintos, matando-os e eliminando-os do corpo do hospedeiro; é um medicamento utilizado em dose única e deve ser administrado de acordo com o peso do paciente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010; BRASIL, 2010; NEVES, 2016; REY, 2010).

Em caso de ascaridíase biliar o tratamento baseia-se no uso de hidratação parenteral, anti-helmínticos, antibióticos e antiespasmódicos. No abscesso hepático causado por *Ascaris* a abordagem deve ser cirúrgica, acompanhada de terapia antimicrobiana.

O controle da cura de ascaridíase é feito com a repetição do exame parasitológico de fezes um mês após o tratamento. Devido a possibilidade de detecção de larvas de *Ascaris* presentes no pulmão, é necessário que o tratamento seja repetido 30 a 60 dias após o 1º tratamento (CRUA, 2003; MELO et al., 2004).

Quando se trata de semi-obstrução intestinal, o primeiro passo é a hospitalização do paciente e a desobstrução ocorre 8 a 30 horas após o tratamento clínico. Pacientes com quadro de desnutrição que venham a necessitar de tratamento cirúrgico podem ter seu quadro agravado, chegando à morte. Em casos de infestação maciça por *A. lumbricoides*, é possível a indicação de intervenção cirúrgica, uma vez que os helmintos tendem a enovelar-se formando um tampão que pode levar à oclusão intestinal parcial ou total, bem como quadros associados de necrose, perfuração intestinal e subsequente peritonite ou vólculo intestinal (CRUA, 2003, MOTA et al., 2004, DORIA e ROCHA, 2000).

PROFILAXIA

Um dos motivos de haver uma infecção tão grande por *Ascaris* no ambiente tem a ver com a própria biologia do parasita, mas também está relacionado ao ambiente em que os seus hospedeiros vivem. O tratamento de habitantes de áreas sem saneamento básico e tratamento de água e esgoto com drogas não-ovicidas pode facilitar que as fêmeas do helminto expelidas pelas fezes mantenham seus ovos fertilizados intactos, que contaminam o ambiente e conseqüentemente, o homem. Sabe-se que uma fêmea grávida de *Ascaris* pode conter em seu útero cerca de 27 milhões de ovos, portanto a contaminação ambiental também seria grande, seguindo este modelo teórico, criado para explicar o alto nível de infecção em áreas urbanas com precárias condições de higiene e alta concentração de população. Deste modo, o saneamento é essencial para a manutenção, a longo prazo, do

controle das helmintoses. Mesmo utilizando no ambiente uma série de desinfetantes, o ovo de *Ascaris* é bastante resistente, e consegue permanecer no ambiente com o peridomicílio funcionando como foco de infecção. Também as condições precárias de higiene e até a utilização de fezes humanas como adubo, além da temperatura anual elevada, são fatores que também favorecem a epidemiologia da ascariíase, contribuindo para a permanência desta helmintose em países em desenvolvimento (SELLA, 2013). Por tudo isto, é importante que algumas medidas sejam tomadas para o controle desta e de outras helmintoses intestinais (Neves, 2016).

As medidas profiláticas devem ser: fazer uso de repetidos tratamentos em massa dos habitantes de áreas endêmicas com drogas ovicidas por pelo menos 3 anos; tratar das fezes humanas que eventualmente, possam ser utilizadas como fertilizantes; fazer uso de calçados; construir redes de esgoto, com tratamento e/ou fossas sépticas e proteger os alimentos contra insetos e poeira (Neves, 2016).

Também é importante fazer a lavagem correta de alimentos e das mãos, ingerir água potável, introduzir campanhas de conscientização da população para os bons hábitos de higiene, para as medidas de prevenção, e orientação a respeito do parasita, além de promoção a educação no âmbito do sistema de saúde pública, o que possibilitaria a melhoria da condição de vida de crianças e adultos (BARBOSA et al., 2016).

REFERÊNCIAS

ALVES, E. B. S.; CONCEIÇÃO, M. J.; LELES, D. *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum* or “*Ascaris lumbricoides*”? *The Journal of Infectious Diseases*, v. 213, p.1355, 2016. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw027>.

ANDRADE, E. C. *et al.* **Parasitoses Intestinais: Uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos.** *Revista APS*, Juiz de Fora, Minas Gerais, v. 13, n. 2, p. 231-240, abr./jun. 2010. Disponível em: <<http://www.aps.ufjf.br/index.php/aps/article/view/736/319>>. Acesso em: 28 de março 2020.

BARBOSA, A. M. *et al.* **Ascariíase: Causas, prevenções e tratamento: Uma revisão bibliográfica.** *Revista Meio-Norte de Medicina Laboratorial*, Teresina, Piauí, v.2, n.1, 2016.

BARBOSA, W. B. **Hydrological influence in the occurrence of enteroparasitoses in two riverine communities of the Middle Solimões, Amazonas.** *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v.9, n.2, p. 113-118, 2010. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v9i2.4942>.

BASSO, R. M. C. *et al.* **Evolução da prevalência de parasitoses intestinais em escolares em Caxias do Sul, RS.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, v. 41, n. 3, p. 263-268, maio/jun. 2008. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000300008>.

BETHONY, J. *et al.* **Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm.** The Lancet. V. 367, issue 9521, p.1521-32, jun. 2006. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68653-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68653-4).

BROOKER, S. **Estimating the global distribution and disease burden of intestinal nematode infections: Adding up the numbers- A review.** International Journal of Parasitology. V.40, issue 10, p.1137-1144, 15 ago. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.04.004>.

BUDE, R. O. ;BOWERMAN, R. A. **Case 20: Biliary ascariasis.** Radiology. V. 214, n. 3, p. 844-7, 1 mar, 2000. <https://doi.org/10.1148/radiology.214.3.r00mr53844>.

CAMPOS, M. R. Spatial distribution of *Ascaris lumbricoides* infection. Revista de Saúde Pública, v. 36, n. 1, p. 69-74, fev. 2002. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102002000100011>.

CAVALLERO, S. *et al.* 2013. **Phylogeographical studies of *Ascaris* spp. based on Ribosomal and Mitochondrial DNA sequences.** PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 7, issue 4, p.1-9, 11 apr, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002170>.

CHAKRABARTI, I.; Giri, A. *et al.* **Radio-pathological diagnosis of hepatobiliary ascariasis: A rare entity.** J Cytol. 2011 Jul; 28(3):114-6. <https://doi.org/10.4103/0970-9371.83468>.

CHOI, J. H.; SEO, M. **A case of biliary ascariasis in Korea.** The Korean Journal of Parasitology, v. 55, p. 659-660, 2017. <https://doi.org/10.3347/kjp.2017.55.6.659>.

CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

CROMPTON, D. W. T. **Ascaris and ascariasis.** *Advances in parasitology.* 2001;48:285-375. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(01\)48008-0](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(01)48008-0).

CRUA, A.S. *et al.* **Parasitoses intestinais.** eds. *Gastroenterologia e Hepatologia em pediatria: diagnóstico e tratamento.* Rio de Janeiro: Medsi; 2003, p. 185-97.

DOLD, C.; HOLLAND, C. V. **Ascaris and ascariasis.** *Microbes and Infection,* v. 13, p.632-637, 2011.<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.09.012>.

DORIA, A. S.; ROCHA, M. S. **Achados radiológicos nas complicações da ascariíase: relato de casos e revisão da literatura** *Pediatria (São Paulo) 2000.* V. 22, n. 2, p.178-184, 2000.

DUTTO, M.; PETROSILLO, N. **Hybrid *Ascaris suum/lumbricoides* (Ascarididae) infestation in a pig farmer: a rare case of zoonotic ascariasis.** *Central European journal of public health.* 2013;21(4):224. <https://doi.org/10.21101/cejph.a3798>.

ECHAZÚ, A. *et al.* **Effect of poor access to water and sanitation as risk factors for soil-transmitted helminth infection: selectiveness by the infective route.** *PLoS Neglected Tropical Diseases,* v. 9, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004111>.

ELALDI, N. *et al.* **An unusual cause of cholecystitis: a worm in the bag.** *Emerg Med J.* 2003 Sep;20(5):489-90. <https://doi.org/10.1136/emj.20.5.489>.

FERREIRA, R. G.; ANDRADE, C. F. S. **Alguns aspectos socioeconômicos relacionados a parasitoses intestinais e avaliação de uma intervenção educativa em escolares de Estiva Gerbi, SP.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Estiva Gerbi, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 402-405, set./out. 2005.*

FRONTERA, E. *et al.* **Evidence of interaction between *Ascaris suum* and *Metastrongylus apri* in experimentally infected pigs.** *Veterinary Parasitology, v. 127, p.295-301, 2005.* <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.001>.

GREIGER, S. M. *et al.* **Cellular responses and cytokine production in post-treatment hookworm patients from an endemic area in Brazil.** *Clinical Experimental. Immunology.* 2004. V.126, p.334-340. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02449.x>.

HALL, A.; HOLLAND, C. **Geographical variation in *Ascaris lumbricoides* fecundity and its implications for helminth control.** *Parasitology Today, v. 16, p. 540-544, 2000.* [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(00\)01779-8](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(00)01779-8).

HOTEZ, P. J. *et al.* **The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases.** *PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 8, p. e2865, 2014.* <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002865>.

INNOCENTE, M.; OLIVEIRA, L. A.; GEHRKE, C. Surto de ascaridíase intradomiciliar em região central urbana, Jacareí, SP, Brasil, junho de 2008. *Bepa, v. 6, n. 62, p. 12-16. 2009.* Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/bepa62_ascaridiasis.pdf>. Acesso em: 28 de março de 2020.

ISMAILI-JAHA, V. *et al.* **Gallbladder ascariasis in Kosovo - focus64on ultrasound and conservative therapy: a case series.** *Journal of Medical Case Reports, v. 12, p. 8-12, 2018.* <https://doi.org/10.1186/s13256-017-1536-4>.

KANNEGANTI, K.; MAKKER, J. S.; REMY, P. *Ascaris lumbricoides*: to expect the unexpected during a routine colonoscopy. *Case Reports in Medicine, 2013, p. 4, 2013.* <https://doi.org/10.1155/2013/579464>.

KNECHT, D.; JANKOWSKA, A.; ZALESNY, G. The impact of gastrointestinal parasites infection on slaughter efficiency in pigs. *Veterinary Parasitology, v.184, p. 291-297, 2012.* <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.006>.

LOREILLE, Odile; BOUCHET, Françoise. **Evolution of ascariasis in humans and pigs: a multi-disciplinary approach.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v.98, supl. 1, p. 39-46, Jan. 2003.* <https://doi.org/10.1590/s0074-02762003000900008>.

LOZOFF, B.; JIMENEZ, E.; SMITH, J.B. **Double burden of iron deficiency in infancy and low socioeconomic status: a longitudinal analysis of cognitive test scores to age 19 years.** *Archives Pediatrics and Adolescent Medicine. V. 160, n. 11, p.1108-1113, nov. 2006.* <https://doi.org/10.1001/archpedi.160.11.1108>.

MASSARA, C.L. *et al.* **Effects of detergents and disinfectants on the development of *Ascaris lumbricoides* eggs.** Cadernos de Saúde Pública 19: p.335-340, 2003.

MELO, M.C.B. *et al.* **Parasitoses intestinais.** Rev Med 2004; 14:3-12.

Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso.** 8 ed. Brasília DF, 2010.

MOTA, J.A.C.; PENNA, F.J.; MELO, M.C.B. **Parasitoses intestinais.** In: Leão E, Corrêa EJ, Viana MB, Mota JAC, eds. *In: Pediatría Ambulatorial* 5ª ed. Belo Horizonte: Coopmed; 2004.

NEJSUM, P. *et al.* **Ascariasis is a zoonosis in Denmark.** Journal of clinical microbiology. V. 43, n. 3, p.1142-1148, 2005.

NETO, L. S.; VOLPI, R.; REIS, P. A. **Microbiologia e Parasitologia.** Goiânia: A.B editora, 2003.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana.** 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

_____. **Parasitologia Humana.** 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2016.p.259.

O'LORCAIN, P.; HOLLAND, C. V. **The public health importance of *Ascaris lumbricoides*.** Parasitology, v. 121, p. 51-71, 2000. <https://doi.org/10.1017/S0031182000006442>.

PENG, W. *et al.* **Mutation scanning-coupled analysis of haplotypic variability in mitochondrial DNA regions reveals low gene flow between human and porcine *Ascaris* in endemic regions of China.** Electrophoresis. v.26, n. 22, p. 4317-4326, 2005. <https://doi.org/10.1002/elps.200500276>.

PULLAN, R. L.; BROOKER, S. J. **The global limits and population at risk of soil-transmitted helminth infections in 2010.** Parasites & Vectors, v. 5, p. 81-95, 2012. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-81>.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

_____. **Bases da Parasitologia Médica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3 ed., p.391, 2010.

_____. **Bases da Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais.** Guanabara Koogan, 2008.

SABOYÁ, M. I. *et al.* **Update on the mapping of prevalence and intensity of infection for soil-transmitted helminth infections in Latin America and the Caribbean: a call for action.** PLoS Negl. Trop. Dis. V. 9, n. 7, p. 2419, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002419>.

SCOTT, M. E. ***Ascaris lumbricoides*: a review of its epidemiology and relationship to other infections.** Annales Nestlé, v. 66, p.7-22, 2008. <https://doi.org/10.1159/000151322>.

SELLA, Maria de Fátima Garla. **Os desafios da escola pública paranaense na perspectiva do professor PDE.** Produções Didático-Pedagógicas. Vol.11, 2013. ISBN 978-85-8015-075-9.

SILVA, A. V. M.; MASSARA, C. L. ***Ascaris lumbricoides***. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L. de.; LINARDI, P. M.; ALMEIDA VITOR, R. W. *Parasitologia Humana*, 13 ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2016. p. 295-301.

VLAMINCK, J.; LEVECKE, B.; VERCRUYSSSE, J.; GELDHOFF, P. **Advances in the diagnosis of *Ascaris suum* in pigs and their possible applications in humans**. *Parasitology*, v. 141, p. 1904-1911, 2014, <https://doi.org/10.1017/S0031182014000328>.

WANI, I. **Gallbladder ascariasis**. *Turk J Gastroenterol*. 2011;22(2):178-82;

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Soil-transmitted helminthiases: eliminating soil-transmitted helminthiases as a public health problem in children: progress report 2001-2010 and strategic plan 2011-2012**. 2012.

CAPÍTULO 4

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE DERMATOFIToses EM PACIENTES ATENDIDOS EM UM LABORATÓRIO DA REDE PRIVADA DE MACEIÓ - AL

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Rodrigo José Nunes Calumby

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/4983598747086439>

Yasmin Nascimento de Barros

Universidade Federal de São Paulo
Diadema – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/6980283990020398>

Jorge Andrés García Suárez

Universidade Federal de Ouro Preto
Ouro Preto – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/1560513075346316>

Davi Porfirio da Silva

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/2075807860933282>

Jayane Omena de Oliveira

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/9310170533694308>

Laís Nicolly Ribeiro da Silva

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/7328503872503669>

Íris Karolayne da Silva Santos

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/2878122343480251>

Camila França de Lima

Hospital Otávio de Freitas
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/1040372562991566>

Ana Carolina Santana Vieira

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/5611818807124868>

Valter Alvino

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/6288213544423787>

Rossana Teotônio de Farias Moreira

Universidade Federal de Alagoas
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/0930200680636809>

Maria Anilda dos Santos Araújo

Centro Universitário Tiradentes
Maceió – Alagoas
<http://lattes.cnpq.br/4956545586256253>

RESUMO: Dermatofitos são fungos filamentosos com habilidade de invadir substratos queratinizados e semi-queratinizados, tais como pele, pelos e unhas causando infecções superficiais em humanos e animais. O presente estudo teve como objetivo determinar o perfil epidemiológico de dermatofitoses em pacientes atendidos em um laboratório da rede privada de Maceió - Al. Trata-se de estudo transversal observacional descritivo, onde foram avaliados 102 pacientes com lesões sugestivas para dermatofitoses, durante o período de dezembro

de 2010 a março de 2011. Dos 102 pacientes avaliados, foram coletadas 142 amostras clínicas, e dessas, 22 (15,5%) apresentaram-se positivas para dermatófitos. A faixa etária mais afetada compreendeu indivíduos entre 31 e 45 anos (36,8%), sendo o sexo feminino o mais acometido, com 10 (52,6%) atendimentos. *Trichophyton tonsurans* foi à espécie mais frequente, representando 9 (41,0%) isolados. Considerando os sítios anatômicos avaliados, os pés (*tinea pedis*) foram os de maior prevalência, responsável por 31,9% dos casos. Esses achados orientam um melhor entendimento sobre os agentes etiológicos de dermatofitoses no estado de Alagoas e enfatizam a importância do diagnóstico micológico, visto a necessidade de se estabelecer a terapia baseada na correta identificação do agente infeccioso.

PALAVRAS-CHAVE: Dermatofitoses; *Trichophyton tonsurans*; Diagnóstico micológico.

EPIDEMIOLOGICAL PROFILE OF DERMATOPHYTOSIS IN PATIENTS SERVED IN A LABORATORY OF THE PRIVATE NETWORK OF MACEIÓ - AL

ABSTRACT: Dermatophytes are filamentous fungi with the ability to invade keratinized and semi-keratinized substrates, such as skin, hair and nails, causing superficial infections in humans and animals. The present study aimed to determine the epidemiological profile of dermatophytosis in patients seen in a private laboratory in Maceió - Al. This is descriptive observational cross-sectional study, in which 102 patients with lesions suggestive of dermatophytosis were evaluated during the period of December 2010 to March 2011. Of the 102 patients evaluated, 142 clinical samples were collected, and of these, 22 (15.5%) were positive for dermatophytes. The most affected age group comprised individuals between 31 and 45 years old (36.8%), with the female sex being the most affected, with 11 (52.6%) attendance. *Trichophyton tonsurans* was the most frequent species, representing 9 (41.0%) isolates. Considering the anatomical sites evaluated, the feet (*tinea pedis*) were the most prevalent, accounting for 31.9% of cases. These findings guide a better understanding of the etiologic agents of dermatophytosis in the state of Alagoas and emphasize the importance of mycological diagnosis, given the need to establish therapy based on the correct identification of the infectious agent.

KEYWORDS: Dermatophytosis; *Trichophyton tonsurans*; mycological diagnosis.

1 | INTRODUÇÃO

As dermatofitoses constituem um tipo de micose superficial produzida por vários gêneros de fungos, denominados dermatófitos, que utilizam a queratina como fonte de subsistência e, por esta razão, parasitam as porções queratinizadas ou semi-queratinizadas da epiderme, pelos e unhas. Os dermatófitos são representados por três gêneros importantes: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, responsáveis pela maioria das micoses superficiais com distribuição universal e

maior afinidade por regiões tropicais e subtropicais (SILVA-ROCHA et al., 2017; GNAT et al., 2019).

As espécies de dermatófitos são classificadas, de acordo com seu habitat, como antropofílicas (encontradas principalmente em humanos), geofílicas (vivem no solo, podendo ser encontradas também em humanos, animais ou em fontes de queratina no meio ambiente) ou zoofílicas (presentes em animais) (CHACCHIO et al., 2014). Estes agentes infecciosos apresentam predileção topográfica, de modo que *Trychophyton* pode ocasionar lesões de pele, pelos e unhas, enquanto *Microsporum* acomete pelos e pele e *Epidermophyton* atinge pele e unhas (SIDRIM; ROCHA, 2010).

Cerca de 40% da população mundial já foi acometida por infecções causadas por dermatófitos, o que corresponde a 30% de todas as dermatomicoses, afetando principalmente a pele. Acredita-se que o risco de infecção aumenta conforme a idade, sendo indivíduos adultos os principais acometidos (CHACCHIO et al., 2014).

Tendo em vista a importância das doenças causadas por fungos em regiões tropicais, bem como a escassez de dados sobre a ocorrência de dermatofitoses no estado de Alagoas, o objetivo desse estudo foi avaliar a frequência de dermatofitoses em pacientes atendidos em um laboratório da rede privada de Maceió - AL, a fim de se obter dados epidemiológicos sobre a dimensão do problema que servirão de informações para órgãos públicos e a comunidade científica.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal observacional descritivo, onde foram avaliados 102 pacientes com sintomatologia sugestiva de dermatofitose, durante o período de dezembro de 2010 a março de 2011 em um laboratório da rede privada da cidade de Maceió - Alagoas.

Após aprovação pelo comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Cesmac, sob nº de protocolo 1145/10, iniciou-se o estudo. Todos os participantes da pesquisa receberam explicação acerca da investigação e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

No momento da coleta, os paciente não estavam fazendo uso de antifúngicos tópicos ou sistêmicos por no mínimo 5 dias. Após antisepsia local com gaze embebida em álcool 70%, as amostras para pesquisa de dermatomicoses foram obtidas por raspagem superficial das bordas das lesões, fragmentos de unhas, material de decomposição subungueal e pelos, utilizando-se bisturi estéril, pinças ou tesouras. Todo material coletado foi depositado em placas de Petri e, em seguida, transportados para processamento no Laboratório de Micologia do Centro Universitário Cesmac.

O exame micológico direto do material coletado foi realizado com hidróxido de potássio (KOH) a 20% e mantido à temperatura ambiente por 20 minutos para dissolver a queratina da amostra, sendo consideradas positivas para dermatófitos quando observada a presença de artrósporos, hifas hialinas e estruturas conidiais específicas (LACAZ et al., 2002; SIDRIM e ROCHA, 2010; ZAITZ et al., 2010).

A cultura foi realizada por meio da inoculação do material clínico em cinco pontos equidistantes na superfície de placas de Petri contendo Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) acrescido de cloranfenicol (50 mg/mL) e incubadas à temperatura ambiente (T.A), por um período de 15 a 30 dias. Após constatação de crescimento fúngico, foram efetuadas purificações das colônias obtidas, através da transferência de estruturas fúngicas para preparo de uma suspensão em solução salina estéril (0,9%) e, em seguida, realizado o semeio por esgotamento em ASD. As placas foram mantidas à temperatura ambiente até o surgimento de colônias isoladas.

A identificação dos dermatófitos baseou-se na associação dos aspectos macroscópicos com as características microscópicas do exame direto da cultura, sendo os mesmos confirmados pela estimulação da esporulação pela técnica de microcultivo em lâmina (RIDDELL, 1950), utilizando-se ágar Lactrimel (LACAZ et al., 2002). As características microscópicas das estruturas reprodutivas, juntamente com as características macroscópicas da cultura foram comparadas às descritas em literatura especializada (HOOG et al., 2000; LACAZ et al., 2002; SIDRIM; ROCHA, 2010; ZAITZ et al., 2010), auxiliando na identificação da espécie fúngica. Provas fenotípicas complementares foram realizadas, tais como produção de urease, capacidade de perfuração do pelo *in vitro* e crescimento em grãos de arroz (SIDRIM; ROCHA, 2010).

A análise estatística para comparação entre os grupos foi realizada através do teste ANOVA e de Fisher.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 102 pacientes avaliados, foram obtidas 142 amostras clínicas, e dessas, 22 (15,5%) apresentaram-se positivas para dermatófitos, 84 (59,1%) para leveduras, 6 (4,2%) para fungos não dermatófitos e 30 (21,1%) foram negativas, conforme observado na tabela 1. As 22 amostras positivas para dermatófitos foram provenientes de 19 pacientes, uma vez que em alguns casos, mais de uma amostra clínica foi coletada no mesmo paciente.

AMOSTRAS	Nº CASOS	OCORRÊNCIA (%)
Positivas para dermatófitos	22	15,5%
Positivas para leveduras	84	59,2%
Positivas para fungos não-dermatófitos	6	4,2%
Negativas	30	21,1%
TOTAL	142	100%

Tabela 1. Frequência de amostras positivas e negativas para dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos não-dermatófitos em um laboratório da rede privada de Maceió, AL.

Dados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa foram verificados por Chiacchio et al. (2014), que ao avaliarem a epidemiologia das dermatomicoses em uma população atendida na Clínica de Dermatologia no Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo, observaram 29% de positividade para dermatófitos em 9042 amostras coletadas.

Entre os agentes infecciosos, as leveduras destacaram-se como os principais agentes causadores de micoses, especialmente onicomicoses. Esses achados são semelhantes aos encontrados por Souza et al. (2007) e Maranhão et al. (2019), que observaram 46,0% e 38,78% de amostras positivas para esses patógenos, respectivamente. Em contrapartida, alguns autores relatam predomínio de fungos dermatófitos na etiologia das micoses superficiais, tais como Schoeler et al. (2010) e Cai et al. (2016), que obtiveram 59,45% e 84,36% casos positivos, respectivamente.

De acordo com Chimelli et al. (2003) e Rezende et al. (2008), os dermatófitos constituem um dos grupos de fungos mais frequentemente isolados em laboratórios de micologia. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, esses patógenos afetam cerca de 40% da população mundial e estima-se que 30 a 70% dos adultos sejam portadores assintomáticos e que a incidência aumenta com a idade (PERES et al., 2010).

Amostras das unhas dos pés (43,0%), das mãos (23,2%) e das escamas epidérmicas dos pés (14,1%) apresentaram significado estatístico ($p=0,0001$), correspondendo aos espécimes clínicos mais avaliados para pesquisa de dermatófitos. Por conseguinte, as amostras clínicas mais prevalentes foram as escamas epidérmicas da perna (3,5%), escamas epidérmicas da virilha (3,5%), escamas epidérmicas da mão (2,8%) seguido das demais, conforme tabela 2.

ESPÉCIMES CLÍNICOS	Nº DE AMOSTRAS	OCORRÊNCIA (%)	VALOR DE <i>p</i>
Unhas do pé	61	43,0%	0,0001*
Unhas da mão	33	23,3%	0,0001*
Escamas epidérmicas do pé	20	14,1%	0,0001*
Escamas epidérmicas da mão	4	2,8%	0,0719
Escamas epidérmicas da nádega	1	0,7%	1,0000
Escamas epidérmicas da face	4	2,8%	0,0719
Escamas epidérmicas da virilha	5	3,5%	0,0369
Escamas epidérmicas do braço	3	2,1%	0,1489
Escamas epidérmicas da perna	5	3,5%	0,0369
Escamas epidérmicas da axila	2	1,4%	0,3458
Escamas epidérmicas das costas	1	0,7%	1,0000
Escamas epidérmicas do abdômen	2	1,4%	0,3458
Couro cabeludo	1	0,7%	1,0000
TOTAL	142	100,0%	

Tabela 2. Espécimes clínicos de maior ocorrência para pesquisa de dermatófitos em um laboratório da rede privada de Maceió, AL.

**p* com significado estatístico ao nível de 5%.

De acordo com Lima et al. (2007) e Sidrim e Rocha (2010), em algumas localidades, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, as onicomicoses chegam a ser responsáveis por mais de 90% dos casos de micoses superficiais, constituindo uma das principais causas de enfermidades ungueais a nível mundial. Sua lesão é caracterizada por uma borda livre na unha, iniciando-se por deslocamento da lâmina superficial que evolui nessa região, para se tornar opaca, esbranquiçada e espessa.

As onicomicoses podem ser causadas por leveduras, dermatófitos ou fungos filamentosos não-dermatófitos e os fatores predisponentes mais importantes para a ocorrência de onicomicoses são imunossupressão, idade avançada, disfunção hormonal, deficiência circulatória, diabetes *mellitus* e traumas ungueais (ARAÚJO et al., 2003; SOUZA et al., 2007; ARAÚJO et al., 2010).

Além disso, algumas atividades profissionais podem favorecer a ocorrência de onicomicoses, principalmente mulheres que mantêm contato constante com água em serviços domésticos e homens que desempenham atividades associadas ao manuseio do solo, manipuladores de frutas, jardineiros e operários de curtume. A

presença de fungos em unhas dos pés, também pode ser influenciada pelo uso de calçados fechados e por utilização de banheiros coletivos (FERREIRA; MARTINS, 2016).

Com relação ao diagnóstico micológico, as amostras foram consideradas positivas quando apresentaram exame micológico direto e/ou cultura positiva. Desta forma, 12 (54,5%) amostras ($p < 0,0001$) tiveram exame direto e cultura positivos, enquanto em 2 (9,1%) detectou-se a presença de dermatófitos apenas no exame direto; e nos 8 (36,4%) casos restantes somente a cultura mostrou-se positiva para o isolamento de espécies de dermatófitos (figura 1), concordante com os resultados observados por Brilhante et al. (2000) e Oliveira et al. (2006) que também verificaram maior positividade ao exame direto e cultura.

A deficiente positividade ao exame direto, em algumas amostras, pode ser justificada por técnica de coleta equivocada que por consequência não oferta uniformidade de estruturas fúngicas. Para o diagnóstico das dermatofitoses é importante observar o sítio de coleta, dando-se preferência à regiões periféricas, onde se encontram os elementos fúngicos mais ativos, e nas lesões ungueais, no limite entre a parte normal e a afetada (ARAÚJO et al., 2003; AQUINO et al., 2007).

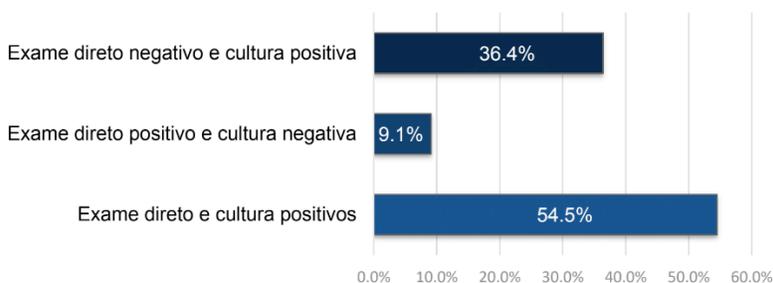


Figura 1. Correlação de positividade do exame micológico direto e da cultura nos casos de dermatofitoses identificados.

Entre os agentes causais das dermatofitoses, *Trichophyton tonsurans* foi a espécie de maior ocorrência com 9 (41,0%) casos ($p < 0,0001$), seguido por *T. rubrum* com 4 (18,2%), *T. mentagrophytes* com 3 (13,6%), *Microsporum canis* com 2 (9,1%) e *Epidermophyton floccosum* e *Trichophyton* sp. com 1 (4,5%). Duas espécies não foram identificadas (9,1%), uma vez que as amostras foram positivas apenas ao exame direto, não sendo possível isolar o agente infeccioso na cultura (figura 2).

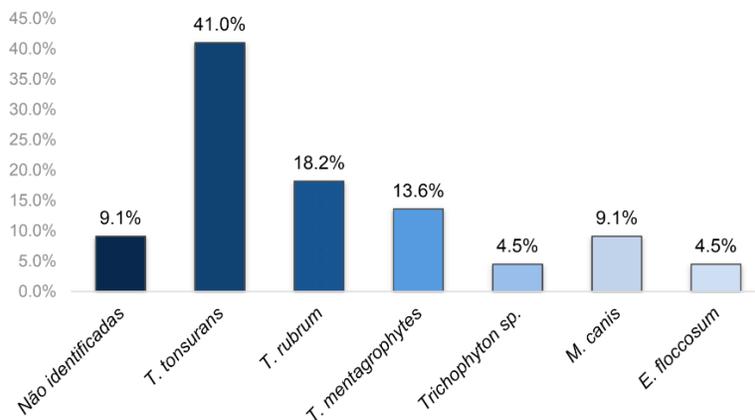


Figura 2. Espécies de dermatófitos isolados de amostras clínicas em um laboratório da rede privada de Maceió - AL.

Os resultados apresentados nesse estudo mostram-se diferentes de outros achados da literatura. Segundo estudo realizado por Leite Júnior et al. (2013) na região Centro-Oeste do Brasil, *T. rubrum*, *T. tonsurans* e *M. canis*, nesta sequência, foram os mais isolados. Já em estudo epidemiológico realizado por Rezende et al. (2008) na cidade de São Paulo, *T. rubrum* também foi o dermatófito mais evidenciado, porém, o segundo e o terceiro mais frequentes foram atribuídos a *M. canis* e *T. tonsurans*, respectivamente.

Vários autores têm relatado não só uma predominância do número de infecções causadas por *T. rubrum*, mas um aumento significativo em sua prevalência ao longo do tempo (AQUINO et al., 2007; DAMÁZIO et al., 2007; SEEBACHER et al., 2008; SILVA-ROCHA et al., 2017; MARANHÃO et al., 2019). Entretanto, em estudo realizado por Schoeler et al. (2010) em hospital particular de médio porte, na cidade de Chapecó, Santa Catarina, verificou-se predomínio de *T. mentagrophytes* como principal agente causador de dermatofitoses.

T. tonsurans foi a espécie de maior ocorrência e apresentou significado estatístico ($p < 0,0001$). De acordo com Calado et al. (2011) e Silva-Rocha et al. (2017), essa espécie vem se mostrando bastante adaptada à temperatura e umidade elevadas das regiões Norte e Nordeste do Brasil, o que não acontece nos estados do Sul e Sudeste, onde o clima é mais seco e a umidade relativa do ar tem níveis baixos, justificando sua maior prevalência naquelas regiões.

É relevante ressaltar que a distribuição das espécies de dermatófitos varia ao longo do tempo e de acordo com a região, refletindo as condições socioeconômicas da população; adaptando-se às condições de determinados ecossistemas, sendo considerado de importação, isto é, não fazendo parte da microbiota dermatofítica

própria do lugar (AQUINO et al., 2007; REZENDE et al., 2008).

Em relação à faixa etária, observou-se que a idade compreendida entre 31-45 anos (36,8%) apresentou maior ocorrência de amostras positivas para dermatófitos, com predomínio do sexo masculino (seis casos), entretanto no geral o sexo feminino foi mais prevalente com dez casos (52,6%). Observou-se também casos de dermatofitoses em quatro pacientes maiores de 61 anos, três pacientes entre 16-30 anos, três pacientes em 46-60 anos e dois entre 0-15 anos (figura 3).

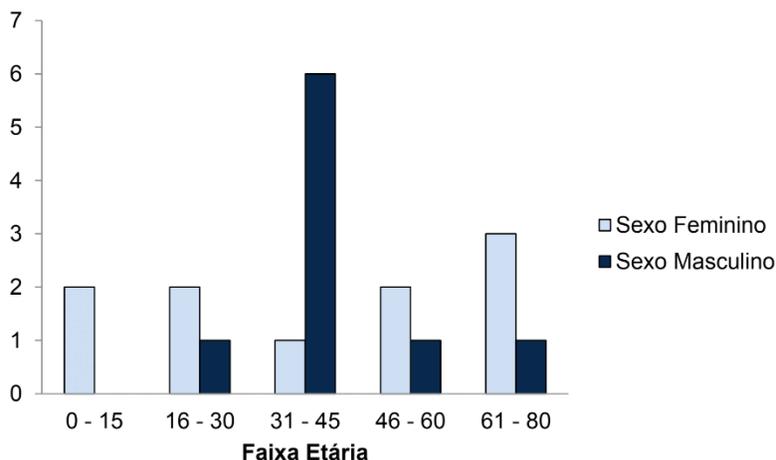


Figura 3. Frequência de casos positivos para dermatófitos de acordo com o sexo e a faixa etária dos pacientes.

O maior número de amostras positivas na faixa etária entre 31-45 anos, corroboram com dados da literatura, onde dermatofitoses ocorrem preferencialmente em adultos jovens, em regiões do corpo como unhas, pés e pele glabra (MARANHÃO et al., 2019). Os principais fatores predisponentes a essa parcela da população caracterizam-se pela profissão, traumas por atividade profissional e exposição a produto químico (SEEBACHER et al., 2008).

Entre as localizações das lesões avaliadas neste estudo, as dermatofitoses nos pés (*tinea pedis*) ($p=0,0197$) foram as mais prevalentes, representando sete (31,9%) casos, sendo *T. mentagrophytes* isolado em três amostras clínicas; seguido por unhas (*tinea unguium*) com cinco (22,7%) casos e predomínio de *T. tonsurans* em quatro amostras; dermatofitose na região inguinal (*tinea cruris*) com três (13,7%) dos casos, sendo *T. rubrum* isolado em duas amostras; dermatofitoses em pele glabra (*Tinea corporis*) com três (13,7%); dermatofitose na face (*tinea faciei*) com dois (9%); dermatofitose no couro cabeludo (*Tinea capitis*) e na mão (*Tinea manuum*) ambos com 1 caso (4,5%), conforme mostra a tabela 3.

SÍTIO ANATÔMICO DAS LESÕES	NÚMERO DE CASOS (%)	ESPÉCIES	VALOR DE <i>p</i>
<i>Tinea pedis</i>	7 (31,9%)	<i>T. mentagrophytes</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. rubrum</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. tonsurans</i> <i>E. floccosum</i>	0,0197*
<i>Tinea unguium</i>	5 (22,7%)	<i>T. tonsurans</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. tonsurans</i> Espécie não identificada	0,0719
<i>Tinea corporis</i>	3 (13,7%)	<i>T. tonsurans</i> <i>M. canis</i> Espécie não identificada	0,1489
<i>Tinea cruris</i>	3 (13,7%)	<i>T. rubrum</i> <i>T. rubrum</i> <i>Trichophyton</i> sp.	0,3458
<i>Tinea faciei</i>	2 (9%)	<i>T. tonsurans</i> <i>T. rubrum</i>	0,3458
<i>Tinea capitis</i>	1 (4,5%)	<i>M. canis</i>	1,0000
<i>Tinea manuum</i>	1 (4,5%)	<i>T. tonsurans</i>	1,0000

Tabela 3. Número de casos de dermatofitoses de acordo com o sítio anatômico e espécies identificadas.

**p* com significado estatístico ao nível de 5%.

O termo tinea do pé (*tinea pedis*) é usado para englobar, clinicamente, diferentes infecções que atingem a pele dessa região, podendo acometer os interdígitos e a região plantar (LACAZ et al., 2002; SIDRIM; ROCHA, 2010). Estudo desenvolvido por Rezende et al. (2008) demonstrou que a *tinea pedis* é a forma mais comum de dermatofitose, podendo simular outras doenças de pele e tende a ser crônica. A casuística dessa pesquisa apontou alta incidência de micose nesta região anatômica, o que pode ser explicado pelo hábito da população em usar sapatos fechados tornando um meio propício (umidade e temperatura) para o desenvolvimento de dermatófitos.

Embora tenha sido bastante variada, neste estudo houve predomínio no isolamento de *T. mentagrophytes* em amostras do pé. De acordo com a Schoeler et al. (2010), a patogenicidade das cepas antropofílicas de *T. mentagrophytes* são frequentemente associadas às infecções crônicas dos pés e das unhas.

T. tonsurans foi a espécie de maior ocorrência, sendo identificada em amostras

de 5 sítios anatômicos distintos. Esse achado corrobora com a literatura no sentido de que esta espécie é mais prevalente na região Nordeste do país, acometendo tanto a pele, quanto pelos e unhas (SCHOELER et al., 2010; MARANHÃO et al., 2019).

T. rubrum foi isolado em amostras dos pés e da região inguinal, esse resultado reforça os dados da literatura mundial que aponta essa espécie principalmente relacionada à região dos pés, inguino-crural e pele glabra (SEEBACHER et al., 2008; SCHOELER et al., 2010).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esses achados permitem um melhor entendimento sobre os agentes etiológicos de dermatofitoses no estado de Alagoas e enfatizam a importância do diagnóstico micológico, visto a necessidade de se estabelecer a terapia correta baseando-se na identificação do agente infeccioso.

Nesse sentido, estudos epidemiológicos futuros tonam-se necessários, a fim de se conhecer as espécies predominantes em cada região, visando auxiliar clínicos e dermatologistas na melhor conduta terapêutica dessas dermatomicoses.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, A. J. G. et al. **Ocorrência de onicomicoses em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos da cidade do Rio de Janeiro, Brasil.** Anais Brasileiros de dermatologia, v. 78, n. 3, p. 299-308, 2003.
- ARAÚJO, G. M. L. et al. **Micoses superficiais na Paraíba: análise comparativa e revisão literária.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 85, n. 6, p. 943-946, 2010.
- AQUINO, V. R. et al. **Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 82, n. 3, p. 239-244, 2007.
- BRILHANTE, R. S. N. et al. **Epidemiologia e ecologia das dermatofitoses na cidade de Fortaleza: o *Trichophyton tonsurans* como importante patógeno emergente da *Tinea capitis*.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 33, n. 5, p. 417-425, 2000.
- CAI, W. et al. **Epidemiology of superficial fungal infections in Guangdong, Southern China: a retrospective study from 2004 to 2014.** Mycopathologia, v. 181, n. 5-6, p. 387-395, 2016.
- CALADO, N. B. et al. **A 7-year survey of superficial and cutaneous mycoses in a public hospital in Natal, Northeast Brazil.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 42, n. 4, p. 1296-1299, 2011.
- CHIACCHIO, N. D. et al. **Superficial mycoses at the Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo between 2005 and 2011.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 89, n. 1, p. 67-71, 2014.

CHIMELLI, P. A. V. et al. **Dermatophyte agents in the city of São Paulo, from 1992 to 2002.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 45, n.5, p. 259-263, 2003.

DAMÁZIO, P. M. R. B. C. et al. **Epidemiologia, etiologia e formas clínicas das dermatofitoses em Pernambuco, 1995-2005.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 40, n. 4, n. 484-486, 2007.

FERREIRA, M. A.; MARTINS, D. **Ocorrência de espécies fúngicas isoladas a partir de mãos e unhas de trabalhadores.** Revista Brasileira de Medicina do Trabalho, v. 14, n. 1, p. 60-70, 2016.

GNAT, S. et al. **Host- and pathogen-dependent susceptibility and predisposition to dermatophytosis.** Journal of Medical Microbiology, v. 68, n. 6, p. 823–836, 2019.

HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FIGUERAS, M. J. **Atlas of Clinical Fungi.** 2ª ed. CBS, Spain. 2000.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Tratado de Micologia Médica.** 9ª ed. São Paulo (SP): Sarvier; 2002.

LEITE JÚNIOR, D. P. et al. **Dermatophytosis in military in the Central-West Region of Brazil: literature review.** Mycopathologia, v. 177, n. 1-2, p. 65-74, 2013.

LIMA, K. M. et al. **Espécies fúngicas isoladas a partir de unhas de manipuladores de alimentos.** Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 39, n. 3, p. 193-196, 2007.

MARANHÃO, F. C. et al. **Mycoses in northeastern Brazil: epidemiology and prevalence of fungal species in 8 years of retrospective analysis in Alagoas.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 50, n. 4, p. 969–978, 2019.

OLIVEIRA, J. A. A. et al. **Micoses superficiais na cidade de Manaus, AM, entre março e novembro/2003.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 81, n. 3, p. 238-243, 2006.

PERES, N. T. A. et al. **Dermatófitos: interação patógeno e resistência a antifúngicos.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 85, n. 5, p. 657-667, 2010.

REZENDE, C. et al. **Estudo epidemiológico das dermatofitoses em instituições públicas da cidade de Barretos, São Paulo, Brasil.** Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 40, n. 1, p. 13-16, 2008.

RIDDELL, R. W. **Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture.** Mycologia, v. 42, n. 2, p. 265-270, 1950.

SEEBACHER, N. et al. **Updates on the epidemiology of dermatophyte infections.** Mycopathologia, v. 166, n. 5-6, p. 335-352, 2008.

SCHOELER, A. P. et al. **Prevalência de dermatófitos na rotina de micologia em hospital particular de médio porte na cidade de Chapecó, estado de Santa Catarina, Brasil.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas, v. 31, n. 1, p. 103-106, 2010.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: 2ª Ed. Guanabara Koogan, 2010.

SILVA-ROCHA, W. P. et al. **Epidemiology and fungal species distribution of superficial mycoses in Northeast, Brazil**. *Journal de Mycologie Médicale*, v. 27, n. 1, p. 57–64, 2017.

SOUZA, E. A. F. et al. **Frequência de onicomicoses por leveduras em Maringá, Paraná, Brasil**. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 82, n. 2, p. 151-156, 2007.

ZAITZ, C.; CAMPBELL, I.; MARQUES, A. S.; RUIZ, L. R. B.; SOUZA, V. M. **Compêndio de Micologia Médica**. 2ª ed. São Paulo: Médica e Científica, 2010.

CAPÍTULO 5

PRINCIPAIS TÉCNICAS APLICADAS À DETECÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM TUMORES ASSOCIADOS: BREVE REVISÃO DE LITERATURA

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 24/08/2020

Thais Bastos Moraes Sobrinho

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão-LIME-HUUFMA
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/8298082185016600>

Gyl Eanes Barros Silva

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/8383692989202276>

Antonio Lima da Silva Neto

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão-LIME-HUUFMA
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/0989786743916492>

Wesliany Everton Duarte

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)-
(PPGSAD)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/0501265944470874>

Thalita Moura Silva Rocha

Universidade Federal do Maranhão-(PPGSAD)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/8953587534427576>

Marta Regina de Castro Belfort

Universidade Federal do Maranhão-(PPGCS)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/8437095239134844>

Juliana Melo Macedo Mendes

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão-LIME-HUUFMA
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3358379059734002>

José Ribamar Rodrigues Calixto

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/5052011357112870>

Antonio Machado Alencar Junior

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/931030398803321>

Francisco Sérgio Moura Silva do Nascimento

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/1253501482597929>

Joyce Santos Lages

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA)
São Luís, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3197054961853447>

Jaqueline Diniz Pinho

Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
Zé Doca, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/6694295336757147>

Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior

Universidade de São Paulo (USP) – (FMRP)
Ribeirão Preto, São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/6397459209414104>

RESUMO: O papel do papilomavírus humano (HPV) no surgimento de alguns tipos de tumores malignos tem sido cada vez mais demonstrado na literatura científica. Em câncer de colo do útero, essa associação foi constatada desde a década de 70, quando o médico alemão Harald Zur Hausen detectou a presença do vírus em biópsias de tumores. À medida que o conhecimento acerca da biologia viral e seus mecanismos de oncogênese são elucidados, diversas abordagens metodológicas surgem como ferramenta para detecção do vírus nos mais diversos tipos de amostras biológicas. Diante disso, no presente estudo realizamos uma breve revisão de literatura sobre o tema, abordando os aspectos gerais da infecção por HPV, seus mecanismos de oncogênese e a resposta celular à presença do vírus. Ademais, listamos os principais métodos utilizados na detecção do vírus, abordando técnicas que se baseiam na detecção do genoma viral (métodos moleculares), como a PCR (*polymerase chain reaction*) e a Captura Híbrida, e aqueles baseados na observação de alterações morfológicas induzidas pelo vírus (métodos histológicos), como a detecção de coilócitos e a imuno-histoquímica. Com base nesse levantamento, discutimos a importância da correta definição do método de detecção para cada tipo de amostra, bem como impacto desses fatores e do pré-analítico na sensibilidade, especificidade e positividade global dos métodos. Os tópicos abordados são importantes para compreensão do papel do HPV no surgimento de tumores, bem como dos principais métodos de detecção viral. A escolha metodológica adequada garante maior celeridade aos resultados, os quais possuem grande impacto na elucidação etiológica do tumor, estratificação de risco e definição terapêutica.

PALAVRAS-CHAVE: Papilomavírus humano (HPV); histopatológico; PCR; imuno-histoquímica; coilócitos.

MAIN TECHNIQUES APPLIED TO THE DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) IN ASSOCIATED TUMORS: BRIEF LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: The role of human papillomavirus (HPV) in the appearance of some types of malignant tumors has been increasingly demonstrated in the literature. In cervical cancer, this association has been observed since the 1970s, when doctor Harald Zur Hausen detected the presence of the virus in tumor biopsies. As the knowledge about viral biology and its mechanisms of oncogenesis are elucidated, several methodological approaches emerge as a tool for detecting the virus in the most diverse types of biological samples. Therefore, in the present study, we conducted a brief review on the field, highlighting the general aspects of HPV infection, its mechanisms of oncogenesis and the cellular response to the presence of the virus. We list the main methods used in the detection of the virus, addressing techniques that are based on the viral genome detection (molecular methods), such as PCR (polymerase chain reaction) and Hybrid Capture, and those based on the observation of morphological changes induced by the viruses (histological methods), such as koilocytes detection and immunohistochemistry. Based on this survey, we discussed the importance of the correct definition of the detection method for each type of sample, as well as the

impact of these factors and the pre-analytical on the sensitivity, specificity and overall positivity of the methods. The topics discussed are important for understanding the role of HPV in the appearance of tumors, as well as the main methods of viral detection. The appropriate methodological choice guarantees greater speed to the results, which have a great impact on the etiological elucidation of the tumor, risk stratification and therapeutic definition.

KEYWORDS: Human papillomavirus (HPV); histopathological; PCR; immunohistochemistry; koilocytosis.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Papilomavírus humano (HPV): Aspectos gerais

Durante anos os estudiosos procuravam determinar o agente causador do câncer de colo do útero, uma doença que estava associada normalmente a práticas sexuais. A elucidação etiológica desse tipo de neoplasia maligna só foi possível no final da década de 70, com os resultados da pesquisa de Harald Zur Hausen, que constatou a relação do Papilomavírus Humano (HPV) com a gênese desses tumores, sendo agraciado com o prêmio Nobel de medicina em 2008 (PYTYNIA et al., 2014).

O HPV pertence à família *Papillomaviridae* (VAN REGENMORTEL et al., 2000) e são classificados, segundo a Agência Internacional de Pesquisa em Avaliação do Câncer (IARC), em três principais grupos: HPV de baixo risco (HPV-6, 11, 26, 42, 43, 53, 54, 61, 70, 81), HPV de risco intermediário (HPV-32, 34, 53, 62, 64, 71, 72, 73, 82, 83, 84, 85, 89, 97, 102, 106) e HPV de alto risco oncogênico (HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 82). Os subtipos de baixo risco oncogênico estão normalmente envolvidos no aparecimento de verrugas na pele, em regiões orais (boca, lábios, cordas vocais e etc) e genitais. Ao ponto que, os de risco intermediário e de alto risco oncogênico são frequentemente encontrados em lesões pré-malignas e tumores invasivos (DE SANJOSÉ et al., 2018).

O genoma do HPV é composto por uma molécula de DNA circular, e seus genes são divididos em dois grupos: aqueles se expressam precocemente (do inglês, early), são eles E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7. Esses genes estão normalmente envolvidos no controle do ciclo celular hospedeiro e na regulação da transcrição e replicação viral (DOORBAR et al., 2012). O segundo grupo é o de expressão tardia (do inglês, late), representado pelos genes L1 e L2, responsáveis pela codificação das proteínas estruturais constituintes do capsídeo viral. Além dessas, há a região LCR (do inglês, long control region), que contém sequências estimuladoras e repressoras da transcrição viral, além da origem da replicação (BOOY et al., 1998).

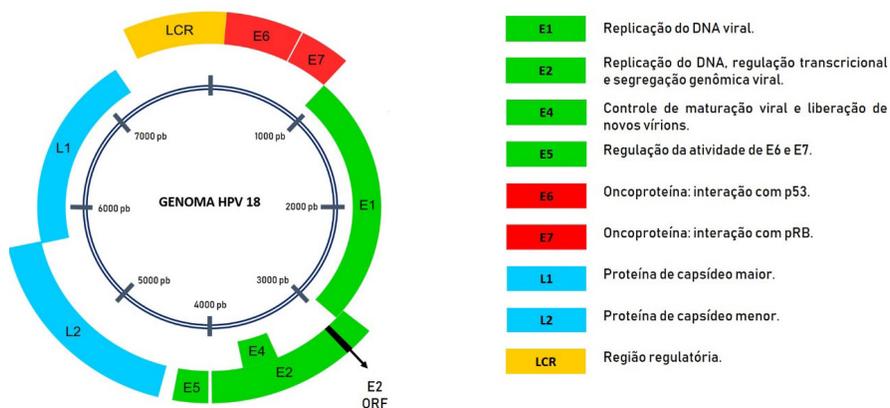


Figura 1. Representação esquemática do genoma do HPV 18 (alto risco). As regiões E3 e E8 não foram representadas devido à ausência de função biológica definida.

Fonte. Adaptado de Chakravorty e Sugden (2018).

O HPV é um vírus mucoepiteliotrópico, ou seja, possui tropismo pelo epitélio escamoso da mucosa e da pele (PYTYNIA et al., 2014). O ciclo de vida do vírus se inicia quando o vírus infecta as células da camada profunda (basal), tendo seu acesso facilitado através de fissuras no epitélio. Sua internalização ocorre a partir da interação entre as proteínas do capsídeo e os receptores específicos da superfície da célula, alguns estudos apontam a integrina alfa-6 como principal receptor viral (EVANDER et al., 1997; ABBAN et al., 2012). No interior da célula, o capsídeo é perdido e o seu DNA é exposto à ação de enzimas nucleares, facilitando a expressão dos genes virais.

Ao penetrar na célula, o genoma viral é mantido com um episódio de baixo número de cópias (DOORBAR et al., 2005), e se replica somente junto a célula hospedeira, sem causar nenhuma alteração citológica, sob a forma epissomal (PYTYNIA et al., 2014). Nesta fase, há um baixo nível de dos genes E6, E7, E1 e E2, suficiente para a manutenção genômica do vírus (DOORBAR et al., 2005). Para a produção de partículas virais, ocorre a amplificação do genoma do HPV, dependente da expressão dos genes E1, E2, E4 e E5 (DOORBAR et al., 2005). A montagem das partículas infecciosas ocorre nas camadas médias e superiores do epitélio. Na fase mais tardia, o vírus se replica para um número alto de cópias e expressa os genes do capsídeo, L1 e L2, resultando na formação de novos vírions da progênie que são liberados na superfície epitelial, caracterizando sua forma integrada (DE SANJOSÉ et al., 2018). Em síntese, após a infecção, as oncoproteínas virais integram com proteínas celulares do hospedeiro, repercutindo no perfil de expressão dessas

proteínas.

1.2 HPV e o ciclo celular hospedeiro

Como descrito anteriormente, o ciclo de vida do HPV é vinculado à diferenciação das células epiteliais do hospedeiro, que estão em processo de divisão em direção a camada superficial do epitélio (PYEON et al., 2009). Então, para melhor entender o ciclo de vida do HPV no organismo, é necessário compreender, também, os mecanismos envolvidos no controle celular em sua normalidade. As células do epitélio dividem-se por mitose, logo, seguem as seguintes fases no processo de divisão: fases G₁, S, G₂ (interface) e M (mitose) (figura 2).

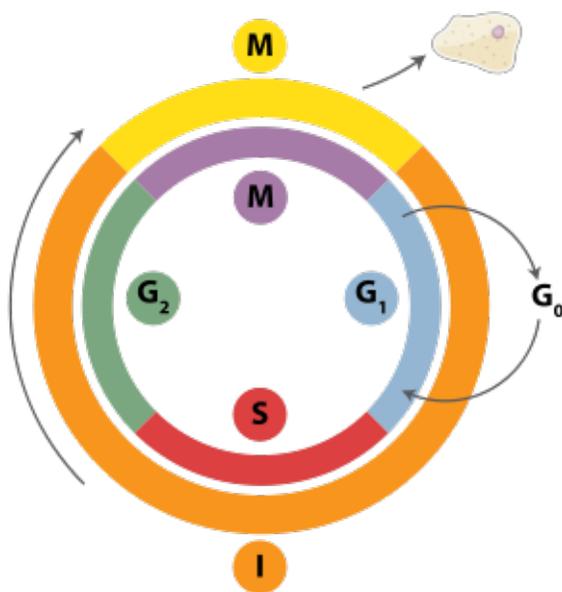


Figura 2. Esquema do ciclo celular.

A fase G₁ representa a fase mais longa do ciclo, ocorrendo crescimento celular devido à intensa síntese de enzimas e RNA. A progressão da fase G₁ para a fase S é regulada por dois pontos de controle: o ponto de restrição e o ponto de checagem de danos de DNA. Esses pontos são pausas no processo para verificação das etapas que deveriam ser cumpridas naquela fase, caso haja algum dano a célula para o ciclo e as corrige (MATHEWS et al., 2014). Curiosamente, esses pontos de verificação são frequentemente perdidos em células cancerosas, não havendo checagem de dados e consequentemente progressão do ciclo mesmo na presença de DNA danificado, o que o contribui para o acúmulo de mutações ao longo das divisões (MATHEWS et al., 2014; COOPER et al., 2000).

A fase S é responsável por estimular a divisão celular, e garantir que as células-filhas recebam as informações genéticas que determinarão suas características. Nesta fase as células duplicam seus cromossomos, responsáveis por toda a informação genética, e fazem uma cópia exata de si mesmos (COOPER et al., 2000), seguindo para a próxima fase. É a fase G2, onde há a síntese de proteínas necessárias para manipulação cromossômica. Nesta fase há mais um ponto de checagem, a fim de verificar se há algum “erro” (COOPER et al., 2000).

Diversos genes, moléculas e proteínas desempenham papéis importantes durante a divisão do ciclo celular, sejam como reguladores positivos ou negativos (ALVES et al., 2016). Dentre estes fatores, as ciclinas constituem uma importante família de proteínas que desempenham um papel essencial no controle do ciclo. Cada ciclina está associada a uma determinada fase, ajudando a conduzir os eventos desta fase ou período. Há, também, as quinases dependentes de ciclina (CDK's) que como o nome sugere, só se tornará uma enzima funcional e modificará proteínas alvo dentro da célula se estiver associada à uma ciclina. As ciclinas e as CDK's formam complexos, que podem atuar fosforilando as proteínas, no intuito de suprimir ou ativar sua função em uma determinada via bioquímica. Normalmente esse controle é positivo, ou seja, estimulando a ação de proteínas que atuam na progressão do ciclo celular (DURONIO et al., 2013).

Uma importante ciclina envolvida nesse processo, é a ciclina-D1, que se liga à CDK4/6, formando um complexo que é responsável por fosforilar a proteína do retinoblastoma (pRB), uma importante proteína que regula a passagem das células de G1 para a fase S. A proteína pRB em seu estado hiperfosforilado, libera o fator de transcrição E2F, o qual entrará no núcleo ativando a expressão de genes responsáveis pela progressão do ciclo celular para a fase S (ZHAO et al., 2016). Além de pRB, o ciclo celular conta também com a atuação de outras proteínas supressoras tumorais, como a p53 e a p16.

1.3 Proteína p16

Como citado anteriormente, os complexos Ciclina-CDK desempenham importante função na regulação do ciclo celular. No entanto, quando não há necessidade de estímulo da progressão do ciclo celular, precisam ser desativadas. Nesse contexto, a proteína p16 surge como um importante regulador dos complexos ciclina-D e CDK4/6, responsáveis por fosforilar a proteína Rb. A proteína p16 forma um complexo com a CDK4/6, impedindo a formação do complexo ciclina-CDK, e, conseqüentemente, a permanência de pRB em seu estado hipofosforilado. Dessa forma, o fator de transcrição E2F não é liberado, e a progressão do ciclo celular é inativada (WEINBERG et al., 1995).

Por desempenhar importante função no correto funcionamento do ciclo

celular, alterações no funcionamento de p16 ocasionam desregulação dos mecanismos normais de divisão celular. As alterações em p16 podem ser ocasionadas por mutações em seu gene codificante (CDKN2A), a exemplo de deleções ou perda de heteroziguidade, pela perda de função efetiva em consequência da infecção por HPV (LARQUE et al., 2015), e até mesmo por eventos epigenéticos (metilação) (ZHOU et al., 2017). A perda de função de p16 tem sido frequentemente relatada em diversos tipos de neoplasias malignas (RUIZ et al., 2016).

Em tumores HPV-associados, quando o epitélio é infectado pelo papilomavírus humano (HPV), as oncoproteínas virais interagem com as proteínas da célula hospedeira, geralmente induzindo sua degradação ou perda de função (SOUTO et al., 2005). As proteínas do HPV mais bem estudadas no processo de desregulação do ciclo celular são as oncoproteínas E6 e E7 (DA ROSA et al., 2009). A oncoproteína E6 atua na via do p53, sequestrando essa proteína e direcionando-a para degradação proteossômica (REUSCHENBACH et al., 2008). Enquanto a proteína E7 se liga a proteína pRB, que perderá sua função de regular negativamente o ciclo celular, conseqüentemente, o fator de transcrição E2F ficará livre e possibilitará a progressão da fase G1 para a fase S no ciclo (REUSCHENBACH et al., 2008).

No entanto, diante de eventos adversos, como a infecção pelo vírus, a célula possui mecanismos próprios para identificar esses eventos, e ao detectar erros no processo de divisão, lança mão de mecanismos específicos para frear o processo de divisão celular (CUBILLA et al., 2011). Um desses mecanismos consiste no bloqueio de formação dos complexos ciclina D- CDK4/6, como citado anteriormente. Em células infectadas pelo HPV, a inativação de pRB via E7-HPV gera um feedback negativo, aumentando a expressão da proteína p16 (Figura 3). O aumento da expressão de p16 é uma tentativa de inibir a formação do complexo ciclina D e CDK4/6, e conseqüentemente, a fosforilação da pRb e liberação do fator de transcrição E2F. Dessa forma, há superexpressão de p16 e acúmulo da proteína no citoplasma celular (ZHOU et al., 2017).

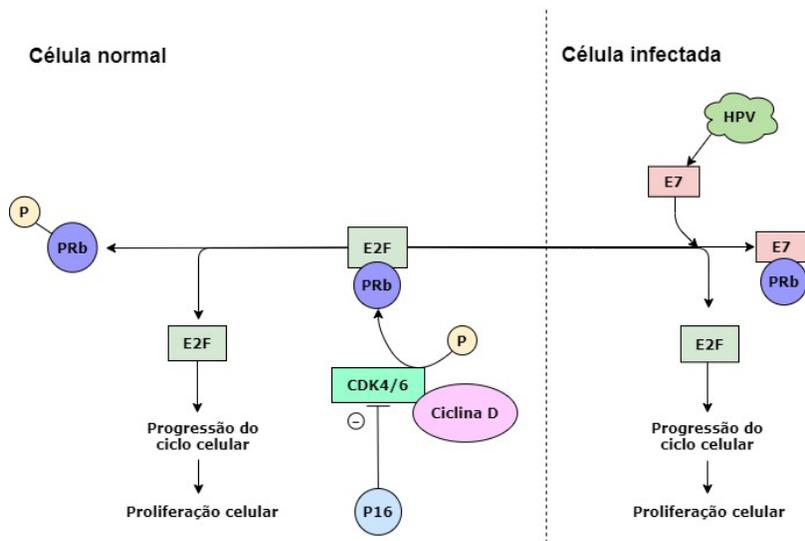


Figura 3. Esquema do funcionamento de uma célula normal e uma célula infectada pelo HPV.

Fonte: adaptado de Wai KC et al. (2020).

1.4 Detecção molecular do papilomavírus humano (HPV)

Tumores associados ao HPV podem ser identificados de diferentes maneiras na prática médica, partindo dos aspectos clínicos (macroscópicos), histopatológico (microscópicos), aos métodos de detecção específica do vírus (LETO et al., 2011). Como citado anteriormente, a imuno-histoquímica para p16 é um método bastante utilizado na rotina da patologia, no entanto, não é totalmente segura e não nos permite saber qual subtipo viral envolvido no processo. As técnicas moleculares, no entanto, geralmente nos permitem não somente a detecção, mas também a genotipagem viral (SOUTO et al., 2005). A definição de qual subtipo de HPV está presente na amostra é essencial para o entendimento da biologia do tumor, visto que há diferentes subtipos de HPV distribuídos em diferentes grupos de risco oncológicos. A PCR (do inglês, polymerase chain reaction) é considerada o método molecular padrão outro na detecção do HPV (LETO et al., 2011), mas outras metodologias também são utilizadas, como a captura híbrida e a hibridização in situ. Todas baseiam-se na detecção do genoma viral em amostras biológicas.

1.4.1 Captura Híbrida (CH)

A captura híbrida é um método de hibridização molecular bastante utilizado na detecção HPV devido sua boa sensibilidade (91,7%) e especificidade de (95,4%) quando comparada à técnica de PCR (CASTLE et al., 2002). Diversos estudos tem

mostrado que os resultados de CH possuem estreita associação com a evolução clínica dos casos, principalmente em amostras de rotina (assintomáticos), além de ser aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pela Food and Drugs Administration (FDA) (TULIO et al., 2017). O método usa quimioluminescência para detectar híbridos de DNA/RNA e assim avaliar quantitativamente e qualitativamente a presença do HPV (CARVALHO et al., 2003; YLITALO et al., 2000). Após a coleta do material, as amostras passam pelas seguintes etapas:

Desnaturação: Ocorre a lise celular DNA das células e a desnaturação dos ácidos nucleicos) (WANG, 2006);

Hibridização: Sondas de RNA diluídas no tampão são adicionadas. As sondas de RNA ligam-se ao DNA-alvo do vírus, criando os híbridos DNA-RNA (WANG, 2006);

Captura dos Híbridos: Depois de hibridizados, são transferidos para uma microplaca com as paredes recobertas por anticorpos monoclonais universais e específicos de DNA-RNA, que reconhecem e vinculam-se ao híbrido DNA-RNA (WANG, 2006);

Reação com conjugado: É adicionado uma solução contendo o anticorpo monoclonal anti-DNA-RNA conjugado a fosfatase alcalina, uma enzima que, na presença de substrato quimioluminescente produz luz e atua como amplificação de sinal. Elas se ligam em diferentes sítios dos híbridos que foram capturados, obtendo uma amplificação de até 3000 vezes (WANG, 2006);

Deteção dos híbridos: Por último, a deteção do sinal de quimioluminescência. A fosfatase alcalina cliva o substrato, expondo uma luz, e a sua intensidade depende da quantidade de enzimas que estão ligadas ao complexo. A luz é medida pelos quimioluminescentes.

Em seguida, a leitura é feita no quimioluminômetro e transmitida no computador, que analisa os dados recebidos e faz a quantificação dos controles positivos e negativos (WANG, 2006). Os controles positivos e negativos servem como parâmetro para diagnóstico das amostras em análise. Além da deteção HPV, a CH é também utilizada para deteção de outros agentes infecciosos, como a *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* (WANG, 2006).

1.4.2 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

A PCR é considerada padrão ouro para deteção de HPV e diversos outros microrganismos em amostras biológicas devido sua elevada sensibilidade e especificada. A técnica permite a amplificação do material genético in vitro, potencialmente gerando bilhões de cópias específicas a partir de uma única sequência alvo. A técnica utiliza mecanismos que simulam o que acontece no interior da célula durante a replicação do DNA (LETO et al., 2011). Os componentes para a

realização da técnica são:

A amostra de DNA que se deseja amplificar contendo a sequência que se deseja detectar por amplificação;

DNA polimerase, mais especificamente a Taq polimerase, inicialmente descoberta na bactéria extremófila *Thermus aquaticus*. Essa enzima é naturalmente estável em altas temperaturas, por isso se mantém ativa em todos os ciclos da PCR, mesmo com o aquecimento necessário para a desnaturação, que gira em torno dos 94°C (SIENA et al., 2018).

Um tampão que serve para evitar a variação do pH, ou seja, mesmo com a adição de substâncias de caráter ácido e básico, o pH se mantém estável (SIENA et al., 2018);

O cloreto de magnésio que funciona como um cofator da enzima DNA polimerase, essa interação tem a capacidade de aumentar a eficiência enzimática (SIENA et al., 2018);

Os primers ou iniciadores, são sequências curtas de nucleotídeos que se ligam a região alvo e possibilitam o início da síntese de DNA, sinalizando onde a Taq polimerase deve começar a adicionar nucleotídeos (SIENA et al., 2018).;

Os dNTP's, que são os desoxirribonucleotídeos trifosfatados contendo cada uma das quatro bases nitrogenadas presentes na molécula de DNA (A, T, C e G), em igual concentração (SIENA et al., 2018);

Água ultrapura, que devido ao seu caráter físico-químico, permite que substâncias polares ou iônicas formem soluções aquosas (SIENA et al., 2018). E como a PCR é um processo de grande sensibilidade, é necessário que a água esteja livre de nucleases e outros contaminantes.

O ensaio divide-se, em três etapas: (a) desnaturação, (b) termociclagem e (c) extensão. A primeira etapa da PCR é a desnaturação inicial, onde as duas cadeias do DNA-alvo são separadas pela temperatura de 95°C durante 5 minutos. O objetivo é garantir que toda a dupla fita seja aberta, um processo que *in vivo* é executado pelas helicases (SIENA et al., 2018; JOSHI et al., 2011). Logo após, a termociclagem se inicia. Essa etapa envolve a repetição de todas as etapas gerais do processo. A desnaturação na temperatura de 95°C, mas, em uma duração de 30 segundos. O anelamento, em uma temperatura em torno de 57°C. Essa diminuição de temperatura possibilita que os dois primers venham a se parear nas suas respectivas cadeias de DNA-alvo. Isso fornece à extremidade 3' OH livres, necessárias para a extensão da cadeia, mediada pela DNA polimerase, que vai adicionando nucleotídeos na direção 5'-3'. Esse ciclo é repetido em média de 30 a 35 vezes (SIENA et al., 2018; JOSHI et al., 2011). Por último, a extensão, que é a adição final dos nucleotídeos pela taq polimerase.

Na PCR convencional, após a ciclagem, os fragmentos amplificados (bilhões

de cópias) devem ser analisados em gel de agarose. Com base no tamanho dos fragmentos observados é possível realizar o diagnóstico positivo ou negativo da amostra (SIENA et al., 2018; JOSHI et al., 2011).

Devido a sua complexidade e necessidade de análise em gel pós-PCR, a técnica tem sido constantemente aprimorada, surgindo diversas variações, a exemplo da PCR em tempo real (SIENA et al., 2018). Na PCR em tempo real, a utilização de primers conjugados com corantes fluorescentes gera uma combinação de cores que é utilizada para diagnóstico. Se torna um processo mais rápido que a convencional pelo fato de não precisar de eletroforese. Além de gerar um resultado quantitativo, ou seja, se a sequência alvo está presente ou não na amostra, é possível quantificar (quantitativo) a cada ciclo a quantidade de produtos gerados pela PCR em tempo real (JOSHI et al., 2011).

Diante do exposto, a PCR é considerada padrão ouro na detecção de HPV, pois se baseia não somente na detecção do genoma do vírus (Captura híbrida), mas na amplificação de regiões específicas do genoma viral, o que aumenta as chances de detecção principalmente em amostras com baixa carga viral. É possível a utilização de iniciadores específicos para regiões intrínsecas de cada subtipo viral e assim realizar a detecção de genotipagem do vírus (DONG et al., 2017).

1.5 Detecção histológica do papilomavírus humano (HPV)

A análise histológica de tumores e tecidos normais fornecem importantes informações acerca dos aspectos histopatológicos em humanos, plantas e animais. A análise por microscopia óptica permite descrever visualmente diversas características da morfológica celular e elucidar alterações histológicas que diferem da organização normal do tecido/órgão em análise. No âmbito da detecção do HPV, a histologia pode nos fornecer importantes informações devido a capacidade do vírus de induzir alterações morfológicas nas células epiteliais que podem ser facilmente identificadas por microscopia óptica (JORDÃO et al., 2003).

1.5.1 Observação de alterações cito arquiteturais (coilocitos)

Dentre as possibilidades da detecção histológica do vírus, a coilocitose constitui-se como um importante aspecto da morfologia tecidual indicativa da presença do vírus. Os coilocitos são células epiteliais infectadas pelo HPV e que possuem uma citomorfologia diferente de outras células do epitélio que não foram infectadas pelo vírus (JORDÃO et al., 2003). Através da identificação dessas células, o patologista que avalia uma amostra suspeita ou um tumor com diagnóstico clínico, pode descrever as características gerais da amostra e se há ou não a presença de coilocitos, e, conseqüentemente, a presença do HPV.

Os coilocitos são geralmente identificados levando em consideração três

critérios majoritários quando analisadas lâminas de hematoxilina e eosina (HE), são eles: a presença de halo perinuclear (espaço entre o núcleo e o citoplasma); atipia nuclear (aparência anormal do núcleo, geralmente lembrando uma ameixa murcha); bi nucleações (célula com dois núcleos em um mesmo citoplasma) (ABADI et al., 1998; KRAWCZYK et al., 2008) (Figura 4).

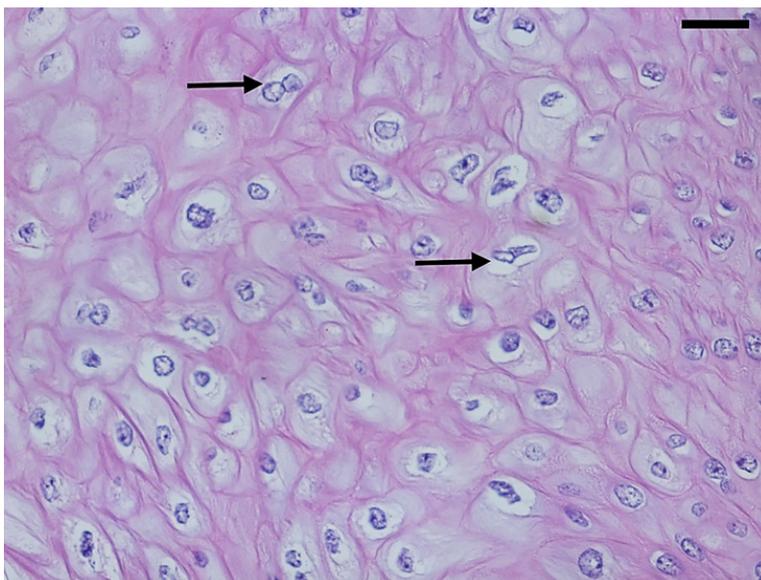


Figura 4. Amostra com presença de coilocitose.

Fonte: Teixeira, Junior A. A. L. (2018)

A principal vantagem da utilização desse método é sua inclusão nos laudos histopatológicos, que é rotina na análise de qualquer tipo de neoplasia para descrição dos aspectos microscópicos do tumor. Dessa forma, pode-se acrescentar ao laudo se na amostra em análise há presente ou não de coilócitos (KRAWCZYK et al., 2008). A observação de coilócitos é uma das principais ferramentas utilizadas por citopatologistas na análise classificação de alterações celulares do colo do útero em exames de rotina (Papanicolau) (KRAWCZYK et al., 2008).

Apesar disso, a principal desvantagem do método é que os coilócitos só são evidentes quando o vírus está se replicando intensamente, geralmente em seu estado epissomal. Quando o genoma do vírus se encontra integrado ao genoma da célula hospedeira, ele perde a capacidade de se replicar, e conseqüentemente a observação de coilócitos pode não ser possível análise tecidual, mesmo que o vírus esteja presente na amostra (KRAWCZYK et al., 2008).

1.5.2 *Ensaio de imuno-histoquímica (IHQ)*

A imuno-histoquímica é uma ferramenta amplamente utilizada no diagnóstico e classificação de tumores. A técnica se baseia na detecção de antígenos específicos em secções teciduais, podendo diferenciar subpopulações celulares em um mesmo tecido, ou até mesmo detectar a presença de proteínas exógenas provenientes de agentes infecciosos, como o HPV (NANGUZGAMBO et al., 2011). Existem diversas variações da técnica de imuno-histoquímica, no entanto, de modo geral o método se baseia no princípio de ligação entre um antígeno e um anticorpo (NANGUZGAMBO et al., 2011).

Inicialmente são feitas secções de tecidos previamente fixados, processados e incluídos em parafina a fim de se gerar um corte histológico, os quais são dispostos em lâminas apropriadas para o ensaio (NANGUZGAMBO et al., 2011). De forma geral, a lâmina contendo o corte tecidual é submetida a recuperação antigênica (etapa onde os epítomos do antígeno alvo serão expostos, pois o processamento histológico para preparação do bloco de parafina modifica a estrutura do alvo); aplicação de anticorpo primário que se ligará ao alvo que se deseja detectar no tecido, caso ele esteja presente (preferencialmente anticorpos monoclonais). A revelação da ligação anticorpo-antígeno pode ser feita de várias maneiras, na principal o anticorpo é conjugado com uma enzima, como a peroxidase, que na presença de um substrato específico pode catalisar uma reação produtora de cor (vermelha, marrom, etc.) (NANGUZGAMBO et al., 2011).

No âmbito da detecção do HPV, pode-se utilizar anticorpos específicos para as proteínas virais, como anticorpos que se ligam as oncoproteínas E6 e E7, ou a proteínas celulares específicas que sugiram a presença do vírus no tecido, como a proteína p16. A superexpressão de p16 é amplamente utilizada como marcador indireto de infecção por HPV de alto risco em diversos tipos de tumores associados ao vírus devido ao feedback negativo gerado pelo vírus nas células, como descrito anteriormente (ROMAGOSA et al., 2011; GEIBLER et al., 2013). A praticidade do método quando comparado aos métodos moleculares, que geralmente necessitam de maior aparato técnico e de infraestrutura é a principal vantagem. A Figura 4 evidencia a superexpressão de p16 em secção histológica de um caso de tumor de pênis (tumor HPV-assocido).

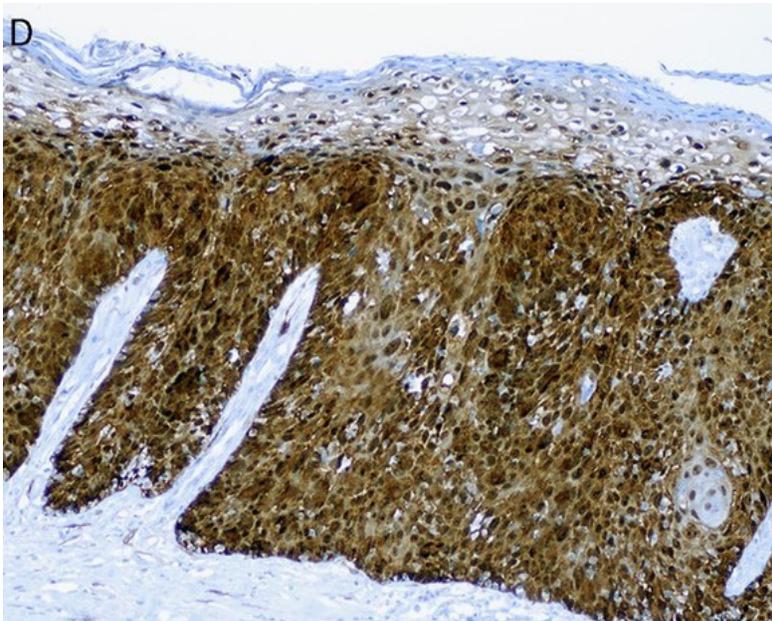


Figura 5. Epitélio escamoso evidenciado superexpressão de p16 em amostra de câncer de pênis.

Fonte. Cubilla et al., (2011).

No entanto, apesar de sua ampla utilização no diagnóstico de lesões associadas ao HPV, a análise imuno-histoquímica de p16 per se não constitui um método direto de detecção do vírus, podendo estar superexpressa em outras situações celulares que não infecção por HPV, da mesma forma que a ausência de expressão não significa ausência de infecção por HPV (CUBILLA et al., 2011). Além disso, a técnica de imuno-histoquímica, não diferente das outras metodologias moleculares, sofre direto impacto da etapa pré-analítica. Dessa forma, se o tecido não for fixado, processado e incluído em parafina da forma correta, o ensaio pode ser comprometido e gerar resultado duvidosos.

2 | QUAL MÉTODO ESCOLHER?

Todo método de diagnóstico possui duas principais vertentes a serem levadas em consideração, a especificidade e sensibilidade. A sensibilidade de um teste refere-se à capacidade de identificar corretamente as amostras positivas para o agente/doença que se deseja detectar. Já a especificidade diz respeito à capacidade do teste para identificar corretamente os casos negativos (LALKHEN et al., 2008).

Em suma, a escolha do teste depende de muitas variáveis, como o tipo de amostra a ser utilizado e o objetivo a ser alcançado. Por exemplo, de forma genérica, havendo disponibilidade apenas de material fixado e embebido em parafina, dá-se preferência aos métodos que melhor se adequam as condições desse tipo de amostra, que dentre os exemplos discutidos até aqui, seriam a detecção de coilócitos e a imuno-histoquímica. Quando há disponibilidade de tecido fresco, conhecidamente de melhor qualidade para obtenção de material genético íntegro e favorável para aplicação em ensaios moleculares, pode-se adotar a captura híbrida ou a PCR. A correta condução das etapas pré-analítica é de suma importância para confiabilidade dos dados obtidos a partir do teste escolhido.

Certamente um teste que detenha simultaneamente alta sensibilidade e especificidade seria a melhor escolha, entretanto, o que se observa é que os métodos variam em relação a essas duas vertentes. Testes que possuem alta especificidade geralmente possuem sensibilidade reduzida, e vice-versa. Dessa forma, uma alternativa frequentemente adotada é a aplicação de múltiplas metodologias para uma mesma finalidade, de forma a complementar os resultados e dar mais confiabilidade ao diagnóstico. Por exemplo, a utilização simultânea de PCR (alta sensibilidade) e da que Captura Híbrida (alta especificidade) na detecção de HPV.

Em um breve levantamento bibliográfico, selecionamos artigos que descreveram a sensibilidade e especificidade dos testes de captura híbrida e PCR aplicados à detecção de HPV (Tabela 1). Descrevemos também estudos que utilizaram métodos histológicos (Imuno-histoquímica) e moleculares como PCF, captura híbrida e hibridização *in situ* (não abordada nesse trabalho) (Tabela 2).

Fonte	Amostra	N	PCR			Captura híbrida		
			Positividade	Sensibilidade	Especificidade	Positividade	Sensibilidade	Especificidade
KO et al. (2017)	Colo do útero	900	27,4%	85,4%	91,9%	12,8%	83,5%	95,9%
CHUNG et al. (2014)	Colo do útero	619	39,7%	95,5%	61,6%	19,7%	100%	83,3%
PARK et al. (2012)	Colo do útero	356	27%	78,3%	99,2%	39,7%	96,6%	89,1%
LEE et al. (2011)	Colo do útero	173	51,4%	95,2%	73,0%	48,0%	93,5%	77,5%
POLJAK et al. (2011)	Colo do útero	4432	11,6%	98,2%	89,5%	13,3%	94,7%	87,7%
TSIODRAS et al. (2010)	Colo do útero	1270	31,2%	100%	69,6%	20,4%	73,3%	80,2%
GUSTAVSSON et al. (2009)	Colo do útero	391	45%	85%	73%	34%	91%	60%
HONG et al. (2009)	Colo do útero	199	48,7%	63,9%	65,7%	52,3%	74,2%	68,6%
SAINI et al. (2007)	Colo do útero	40	52,5%	81,8%	58,6%	12,5%	36,4%	96,6%
NOMELINI et al. (2007)	Colo do útero	80	87,5%	83,3%	13,3%	47,5%	66,7%	56,7%
CARESTIATO et al (2006)	Colo do útero	137	75%	97,1%	85,2%	71,3%	99,2%	86%
SCHIFFMAN et al. (2005)	Colo do útero	5026	40,8%	89,3%	48,5%	45,7%	93,6%	41,2%
CARVALHO et al. (2004)	Colo do útero	40	75%	96,5%	100%	70%	86,2%	100%
CLAVEL et al. (1998)	Colo do útero	42	81%	96,4%	66,7%	76,2%	92,8%	66,7%

Tabela 1. Estudos comparativos das técnicas moleculares PCR e Captura híbrida.

Fonte	Amostra	N	Positividade p16 (%)	Positividade PCR (%)
LINGE et al. (2018)	Cabeça e pescoço	175	36%	29,1%
RAZMPOOSH et al. (2014)	Colo do útero	64	46,9%	93,8%
MELKANE et al. (2014)	Cabeça e pescoço	46	61%	63%
WALLINE et al. (2013)	Orofaringe	330 ^a	60% ^a	58% ^a
		184 ^b		
MESHER et al. (2013)	Colo do útero	895 ^a	54,4% ^a	72,9% ^b
		1173 ^b		
JORDAN et al. (2012)	Orofaringe	231 ^a	70,2% ^a	78,3% ^b
		233 ^b		
EVANS et al. (2011)	Amígdalas	26 ^a	84,6% ^a	83% ^b
		30 ^b		
BENEVOLO et al. (2010)	Cérvix uterino	143 ^a	58% ^a	46,4% ^b
		84 ^b		
LEWIS et al. (2010)	Orofaringe	239 ^a	78% ^a	39,6% ^b
		48 ^b		
LICITRA et al. (2006)	Orofaringe	90	35,6%	19%
YOSHIDA et al. (2004)	Colo do útero	98	61%	61%

Tabela 2. Estudos comparativos da Imuno-histoquímica para p16 e PCR.

* As letras A e B indicam o resultado de cada N amostral

Utilizando o recurso de pesquisa avançada de dois bancos de dados (PubMed e Google Acadêmico), com as seguintes palavras-chaves: (PCR); (HPV); (Hybrid Capture); (P16), foram selecionados 43 artigos, dos quais 26 foram submetidos à análise, seguindo os seguintes critérios de inclusão: (1) descrição de positividade global para cada método; (2) descrição de sensibilidade e especificidade de cada método, ou os valores de falsos-positivos e falsos-negativos para cálculo; (3) artigos que apresentassem a positividade global para no mínimo dois testes. E os critérios de não inclusão foram: (1) estudos que apresentavam apenas sensibilidade e especificidade, e não a positividade global; (2) artigos que apresentavam positividade total apenas para um dos métodos.

Na Tabela 1 foram avaliados 14 artigos que adotaram simultaneamente a PCR e captura híbrida como métodos de detecção. Na maioria dos estudos, a positividade global foi maior através da técnica de PCR (71,4%), assim como a sensibilidade (57,1%). Já a especificidade foi maior na técnica de captura híbrida (66,7%). Dentre os estudos selecionados, quando comparadas as técnicas de PCR e captura híbrida, a sensibilidade analítica da PC é geralmente alta, no entanto, há alto risco de contaminação durante a realização do teste, aumentando as chances de obtenção de resultados falso-positivos. Na captura híbrida, há redução da sensibilidade em função da restrição de subtipos virais detectáveis pelo método, que geralmente é direcionado para o grupo de HPV de alto risco, no entanto, há aumento na especificidade. Dessa forma, a realização de ambos os testes, se disponíveis, ocasionaria um aumento simultâneo na especificidade e sensibilidade na detecção do vírus. Essa possibilidade

tem sido discutida em alguns estudos, a exemplo de Carvalho e colaboradores (2003), que demonstraram que a positividade para HPV utilizando apenas um teste foi de 68%, e quando combinados, aumentou para 89%. Embora haja variações nos protocolos de PCR para detecção do HPV, a concordância entre os testes de Captura híbrida e PCR em vários estudos é geralmente alta, superior a 80%.

Os casos falsos negativos podem ocorrer devido à presença de novos tipos virais (não incluídos nos painéis dos testes), principalmente na PCR. Enquanto que, na captura híbrida, as lesões podem apresentar poucas cópias virais, ainda não detectáveis por esse método.

Na Tabela 2 elencamos alguns estudos que comparam a positividade por um método direto-molecular (PCR) e um método indireto-histológico (imuno-histoquímica). Na Tabela 1, apesar da PCR ser considerada o padrão ouro e ter apresentado maior positividade global quando comparada à captura híbrida, ainda sim em alguns casos a captura híbrida obteve melhores resultados. Com base nessas observações, é possível sugerir que há influência das etapas pré-analíticas nos resultados obtidos. Da mesma forma, que na tabela 2, foi observado que em alguns estudos há maior positividade por imuno-histoquímica que por PCR, diferente do esperado já que a PCR em tese detectaria todos os casos que de fato apresentassem infecção por HPV, e a imuno-histoquímica somente aqueles em que o *feedback* negativo tivesse ocorrido (discutido anteriormente). Quando avaliamos somente os estudos em que isso ocorreu, notamos que todos utilizaram amostras de fixadas em formol e embebidas em parafina para extração de DNA e realização da PCR, o que possivelmente pode ter reduzido de sensibilidade do método em comparação a imuno-histoquímica, que melhor se adequa a esse tipo de amostra.

Dessa forma, é importante reforçar que para cada tipo de método é preciso ter cautela nas etapas pré-analíticas para que se obtenha resultados satisfatórios e confiáveis. Além do tipo de amostras, a PCR pode ser influenciada também por fatores como: a metodologia de extração escolhida para determinado tipo de amostra, a concentração e a integridade de DNA, contaminação com outras amostras, etc. Da mesma maneira, os métodos histológicos, como a imuno-histoquímica, sofrem influência direta de processos fixação tecidual inadequados, variação no tipo e clonalidade de anticorpos, etc.

Diante disso, a escolha do teste apropriado para cada tipo de amostra, bem como os cuidados pré-analíticos da coleta ao processamento são fatores decisivos na elucidação diagnóstica. Em muitos tumores, como câncer de orofaríngea, os casos HPV positivos possuem sobrevida aumentada em comparação aos negativos, bem como os protocolos terapêuticos, o que torna correta detecção de HPV crucial para elucidação etiológica da lesão e estratificação dos grupos.

3 | CONCLUSÃO

Tumores associados à infecção pelo papilomavírus humano (HPV) constituem um importante grupo de neoplasias malignas com características distintas. A compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na carcinogênese induzida pelo vírus é essencial para definição dos métodos adequados para detecção viral nesses tumores. A escolha metodológica adequada garante maior celeridade aos resultados, os quais possuem grande impacto na elucidação etiológica do tumor, estratificação de risco e definição terapêutica. Dessa forma, no presente estudo foi possível revisar os principais mecanismos virais associados à carcinogênese, bem como seus principais métodos de detecção.

REFERÊNCIAS

- ABADI, M. A. et al. Stringent criteria for histological diagnosis of koilocytosis fail to eliminate overdiagnosis of human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia grade 1. **Human Pathology**, v. 29, n. 1, p. 54–59, 1998.
- ABBAN, C. Y.; MENESES, P. I. Usage of heparan sulfate, integrins, and FAK in HPV16 infection. **Virology**, v. 403, n. 1, p. 1–16, 2010. DOORBAR, J. et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, n. SUPPL.5, p. F55–F70, 2012.
- ALVES, Â. V. F. et al. Expressão KI-67 e P16INK4a em carcinomas espinocelulares periorais quimicamente induzidos em camundongos. **Revista do Colegió Brasileiro de Cirurgioes**, v. 43, n. 2, p. 72–79, 2016.
- BOOY, F. P. et al. Two antibodies that neutralize papillomavirus by different mechanisms show distinct binding patterns at 13 Å resolution. **Journal of Molecular Biology**, v. 281, n. 1, p. 95–106, 1998.
- BENEVOLO, M. et al. Comparative evaluation of nm23 and p16 expression as biomarkers of high-risk human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia 2+ lesions of the uterine cervix. **Histopathology**, v. 57, n. 4, p. 580–586, 2010.
- CARESTIATO, F. N. et al. Analysis of molecular biology techniques for the diagnosis of human papillomavirus infection and cervical cancer prevention. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 5, p. 428–432, 2006.
- CARVALHO, M. O. O. et al. Comparative analysis of the polymerase chain reaction and the Hybrid Capture assay for the detection of Human Papillomavirus infection. **DST- J bras. Doenças sex. transm.** 16(1): 26-30, 2004.
- CASTLE, P. E. et al. Results of human papillomavirus DNA testing with the Hybrid Capture 2 assay are reproducible. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 1088–1090, 2002.
- CHUNG, H. S.; HAHM, C.; LEE, M. Comparison of the clinical performances of the AdvanSure HPV Screening Real-Time PCR, the Abbott Real-Time High-Risk HPV Test, and the Hybrid Capture High-Risk HPV DNA Test for Cervical Cancer Screening. **Journal of Virological Methods**, v. 205, p. 57–60, 2014.

CLAVEL, C. et al. Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. **Journal of Clinical Pathology**, v. 51, n. 10, p. 737–740, 1998.

COOPER, G. M. The Eukaryotic cell cycle. 2nd edition. **Sinauer associates**. 2000.

CUBILLA, A. L. et al. Value of p16INK4a in the pathology of invasive penile Squamous cell carcinomas: A report of 202 cases. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 35, n. 2, p. 253–261, 2011.

DA ROSA, M. I. et al. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. **Cadernos de Saude Publica**, v. 25, n. 5, p. 953–964, 2009.

DE SANJOSÉ, S.; BROTONS, M.; PAVÓN, M. A. The natural history of human papillomavirus infection. **Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 47, p. 2–13, 2018.

DONG, L. et al. Changes in genotype prevalence of human papillomavirus over 10-year follow-up of a cervical cancer screening cohort. **Zhonghua liu xing bing xue za zhi= Zhonghua liuxingbingxue zazhi**, v. 38, n. 1, p. 20-25, 2017.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of Clinical Virology**, v. 32, n. SUPPL., p. 7, 2005.

DOORBAR, J. et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, n. SUPPL.5, p. F55–F70, 2012.

DURONIO, R. J.; XIONG, Y. Signaling pathways that control cell proliferation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 5, n. 3, 2013.

EVANDER, M. et al. Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. **Journal of virology**, v. 71, n. 3, p. 2449–2456, 1997.

EVANS, M. F. et al. Discrimination of “Driver” and “Passenger” HPV in Tonsillar Carcinomas by the Polymerase Chain Reaction, Chromogenic In Situ Hybridization, and p16 INK4a Immunohistochemistry. **Head and Neck Pathology**, v. 5, n. 4, p. 344–348, 2011.

GEIBLER, C. et al. The role of p16 expression as a predictive marker in HPV-positive oral SCCHN--a retrospective single-center study. **Anticancer Res**, n.3, v. 33, p. 913-16, 2013.

GUSTAVSSON, I. et al. Comparison between the Hybrid Capture 2 and the hpVIR real-time PCR for detection of human papillomavirus in women with ASCUS or low grade dysplasia. **Journal of Clinical Virology**, v. 45, n. 2, p. 85–89, 2009.

HONG, J. H. et al. Comparison of the novel human papillomavirus 4 auto-capillary electrophoresis test with the hybrid capture 2 assay and with the PCR HPV typing set test in the detection of high-risk hpv including HPV 16 and 18 genotypes in cervical specimens. **Journal of Korean Medical Science**, v. 24, n. 4, p. 579–584, 2009.

JORDAN, R. C. et al. Validation of methods for oropharyngeal cancer HPV status determination in US cooperative group trials. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 36, n. 7, p. 945–954, 2012.

JORDÃO, A. V. et al. Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico citológico de papilomavírus humano. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 1, p. 81–89, 2003.

JOSHI, M.; DESHPANDE, J. D. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles and Application. **International Journal of Biomedical Research**, v. 2, n. 1, 2011.

KRAWCZYK, E. et al. A cooperative interaction between the human papillomavirus E5 and E6 oncoproteins. **American Journal of Pathology**, v. 173, n. 3, p. 682–688, 2008.

KO, K. et al. Comparison of GeneFinder human papillomavirus (HPV) Liquid Beads Microarray PCR Kit and Hybrid Capture 2 Assay for Detection of HPV Infection. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 31, n. 2, p. 1–6, 2017.

LALKHEN, A. G.; MCCLUSKEY, A. Clinical tests: Sensitivity and specificity. **Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care and Pain**, v. 8, n. 6, p. 221–223, 2008.

LARQUE, A. B. et al. p16INK4a overexpression is associated with CDKN2A mutation and worse prognosis in HPV-negative laryngeal squamous cell carcinomas. **Virchows Archiv**, v. 466, n. 4, p. 375–382, 2015.

LEE, J. H. et al. Establishment of an efficient multiplex real-time PCR assay for human papillomavirus genotyping in cervical cytology specimens: Comparison with hybrid capture II. **Cytopathology**, v. 22, n. 4, p. 261–268, 2011.

LETO, M. DAS G. P. et al. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 86, n. 2, p. 306–17, 2011.

LEWIS, J. S. et al. P16 positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: An entity with a favorable prognosis regardless of tumor HPV status. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 34, n. 8, p. 1088–1096, 2010.

LICITRA, L. et al. High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 36, p. 5630–5636, 2006.

LINGE, A. et al. Comparison of detection methods for HPV status as a prognostic marker for loco-regional control after radiochemotherapy in patients with HNSCC. **Radiotherapy and Oncology**, v. 127, n. 1, p. 27–35, 2018.

M.WALLINE, H. et al. High-risk human papillomavirus detection in oropharyngeal, nasopharyngeal, and oral cavity cancers comparison of multiple methods. **JAMA Otolaryngology - Head and Neck Surgery**, v. 139, n. 12, p. 1320–1327, 2013.

MATHEWS, L. A.; HURT, E. M.; CABARCAS, S. M. DNA repair of cancer stem cells. **DNA Repair of Cancer Stem Cells**, p. 1–178, 2014.

MELKANE, A. E. et al. HPV-related oropharyngeal squamous cell carcinomas: A comparison between three diagnostic approaches. **American Journal of Otolaryngology - Head and Neck Medicine and Surgery**, v. 35, n. 1, p. 25–32, 2014.

MESHER, D. et al. Comparison of human papillomavirus testing strategies for triage of women referred with low-grade cytological abnormalities. **European Journal of Cancer**, v. 49, n. 9, p. 2179–2186, 2013.

NANGUZGAMBO, A. B. et al. Immunochemistry and lung cancer: Application in diagnosis, prognosis and targeted therapy. **Oncology**, v. 80, n. 3–4, p. 247–256, 2011.

NOMELINI, R. S. et al. Utilization of human papillomavirus testing for cervical cancer prevention in a university hospital. **Cadernos de Saude Publica**, v. 23, n. 6, p. 1309–1318, 2007.

PARK, Y. et al. Comparison of the abbot realtime high-risk human papillomavirus (HPV), roche cobas HPV, and hybrid capture 2 assays to direct sequencing and genotyping of HPV DNA. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 7, p. 2359–2365, 2012.

POLJAK, M. et al. Comparison of clinical and analytical performance of the Abbott RealTime High Risk HPV test to the performance of hybrid capture 2 in population-based cervical cancer screening. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 5, p. 1721–1729, 2011.

PYEON, D. et al. Establishment of human papillomavirus infection requires cell cycle progression. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 2, 2009.

PYTYNIA, K. B.; DAHLSTROM, K. R.; STURGIS, E. M. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. **Oral Oncology**, v. 50, n. 5, p. 380–386, 2014.

RAZMPOOSH, M. et al. Assessment of correlation between p16INK4a staining, specific subtype of human papillomavirus, and progression of LSIL/CIN1 lesions: First comparative study. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 142, n. 1, p. 104–110, 2014.

REUSCHENBACH, M. et al. Characterization of humoral immune responses against p16, p53, HPV16 E6 and HPV16 E7 in patients with HPV-associated cancers. **International Journal of Cancer**, v. 123, n. 11, p. 2626–2631, 2008.

ROMAGOSA, C. et al. p16Ink4a overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors. **Oncogene**, v. 30, n. 18, p. 2087–2097, 2011.

RUIZ, M. et al. Epidemiologia e biomarcadores em câncer de cabeça e pescoço. **Arq. ciênc. saúde**, v. 13, n. 1, p. 34–38, 2006.

SAINI, R. et al. Evaluation of polymerase chain reaction (PCR) method and hybrid capture II (HCII) assay for the detection of human papillomavirus in cervical scrapings. **Medical Journal of Malaysia**, v. 62, n. 3, p. 206–209, 2007.

SCHIFFMAN, M. et al. A comparison of a prototype PCR assay and Hybrid Capture 2 for detection of carcinogenic human papillomavirus DNA in women with equivocal or mildly abnormal Papanicolaou smears. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 124, n. 5, p. 722–732, 2005.

SIENA, A. D. D., et al. Princípios da PCR convencional. 1ª edição. **SBG**, 2018.

SOUTO, R.; FALHARI, J. P. B.; CRUZ, A. D. DA. O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 2, p. 155–160, 2005.

TEIXEIRA JÚNIOR, A. A. L. Perfil imuno-histoquímico e estado físico genômico do Papilomavírus humano (HPV) em tumores de pênis. 2019. 141 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto e da Criança/ CCBS) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

TSIODRAS, S. et al. Hybrid capture vs. PCR screening of cervical human papilloma virus infections. Cytological and histological associations in 1270 women. **BMC Cancer**, v. 10, 2010.

TULIO, S. et al. Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico citológico de lesões de alto grau. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 1, p. 31–35, 2007.

VAN REGENMORTEL, M. H. V. et al. Virus nomenclature: Consensus versus chaos. **Archives of Virology**, v. 145, n. 10, p. 2227–2232, 2000.

YLITALO, N. et al. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: A nested case-control study. **Lancet**, v. 355, n. 9222, p. 2194–2198, 2000.

YOSHIDA, T. et al. Usefulness of Liquid-Based Cytology Specimens for the Immunocytochemical Study of p16 Expression and Human Papillomavirus Testing: A Comparative Study Using Simultaneously Sampled Histology Materials. **Cancer**, v. 102, n. 2, p. 100–108, 2004.

WAI, K. C. et al. Molecular Diagnostics in human Papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma. **Cells**, 9, 500. 2020.

WANG, Y. F. Signal amplification techniques: BDNA, hybrid capture. **Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology**, p. 228–242, 2006.

WEINBERG, R. A. The retinoblastoma protein and cell cycle control. **Cell**, v. 81, n. 3, p. 323–330, 1995.

ZHAO, R. et al. Implications of Genetic and Epigenetic Alterations of CDKN2A (p16INK4a) in Cancer. **EBioMedicine**, v. 8, p. 30–39, 2016.

ZHOU, C.; LI, J.; LI, Q. CDKN2A methylation in esophageal cancer: A meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 30, p. 50071–50083, 2017.

CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS: RELATO DE CASO E REVISÃO DE LITERATURA

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 06/07/2020

Júlia Eduarda Nóbrega de Melo e Castro

Centro Universitário UNIFAMINAS
Angra dos Reis - Rio de Janeiro
<http://lattes.cnpq.br/6100548633657846>

Alice Marge de Aquino Guedes

Universidade Federal de Juiz de Fora - *campus*
Governador Valadares (UFJF/GV)
Muriaé - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/4703830283703170>

Ana Carolina dos Santos Lopes Peixoto

Universidade de Vassouras
Angra dos Reis - Rio de Janeiro

José Eduardo Lage de Castro

Centro Universitário de Valença
Angra dos Reis - Rio de Janeiro

Letícia Silveira Meurer

Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF)
Juiz de Fora - Minas Gerais

Maria Cecília Dias Corrêa

Centro Universitário FIPMoc
Muriaé - Minas Gerais

RESUMO: O carcinoma de células escamosas (CEC) oral acomete principalmente homens acima de 50 anos, tabagistas e etilistas. O local mais acometido é a borda posterior da língua e se manifesta através de úlceras com áreas necróticas centrais e bordas elevadas. O

presente trabalho tem como objetivo abordar a caracterização clínica, a sintomatologia, o diagnóstico e o tratamento do CEC de língua. Este projeto foi fundamentado no relato de caso de uma paciente pertencente à Clínica Angratrab e OncoBarra. Ademais, foi realizada uma revisão de literatura acerca do assunto para a construção do trabalho. Foram utilizados artigos científicos disponíveis nas bases de dados do SCIELO, do PubMed, na revista Nature e o livro-texto Bases Patológicas das Doenças de Robbins e Cotran. Atualmente, a classificação TNM é utilizada para definir o estágio do tumor e orientar a conduta. Quanto ao diagnóstico, a biópsia incisional é a mais utilizada, sendo interessante para a avaliação do perfil microscópico da lesão. A cirurgia é a terapêutica de escolha para o CEC bucal, sendo que a modalidade varia de acordo com o estadiamento da doença. A radioterapia (RT) é o método realizado para pacientes com baixo performance status ou quando o tumor se apresenta em fase avançada no momento do diagnóstico e a lesão não pode ser removida cirurgicamente com margem de segurança. O caso relatado traz à luz a discussão acerca do CEC oral, sua sintomatologia, epidemiologia e tratamento. O tabagismo é um dos agentes primordiais na carcinogênese oral e o etilismo potencializa seus efeitos. O estadiamento clínico influencia a escolha terapêutica, sendo importante salientar a anamnese e exame físico minuciosos para o diagnóstico precoce.

PALAVRAS-CHAVE: Carcinoma de células escamosas; Radioterapia; Neoplasias da língua.

ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA: CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: Oral squamous cell carcinoma (SCC) affects mainly men over 50 years with a history of high tobacco and alcohol consumption, being located mainly in the tongue, especially in the lateral posterior border. Oral SCC usually manifests through an ulceration with central necrotic area and raised edges. This project aims to identify the clinical characterization, symptoms, diagnosis and treatment of tongue cancer. It was based on a patient who presented herself at the Clínica Angratrab and OncoBarra. A literature review was carried out on the subject for the construction of the work. In addition, were used scientific articles available in SCIELO and PubMed databases, in Nature Journal and the textbook Pathologic Basis of Disease by Robbins and Cotran. Currently, SCC is based on mouth cancer TNM classification criteria to define the tumor stage and guide the conduct. As for the diagnosis of tongue cancer, the incisional biopsy is the most used, being interesting for the evaluation of the microscopic profile of the lesion. Surgery is the choice therapy for oral SCC, and the modality varies according to the stage of the disease. Patients with low performance status or when the tumor is in an advanced stage at the time of diagnosis and the lesion cannot be surgically removed with a safety margin are treated with radiotherapy. In conclusion, this case report brings to light the discussion about oral squamous cell carcinoma, its symptoms, epidemiology and treatment. Regarding the etiology, smoking is one of the primary agents in oral carcinogenesis and alcoholism potentiates the effects. Clinical staging influences the choice therapy and it is important to highlight the anamnesis and physical examination for early diagnosis.

KEYWORDS: Squamous cell carcinoma; Radiotherapy; Tongue neoplasms.

1 | INTRODUÇÃO

O câncer de boca é o sétimo tipo de câncer mais comum entre os homens e ocupa o décimo segundo lugar em relação às mulheres. Dentre todos os países da América Latina, o Brasil é o país que possui a maior incidência de neoplasias malignas da boca, sendo em 90% dos casos classificados como carcinoma de células escamosas (CEC) ou carcinoma epidermoide (EMERICK, 2020).

Quanto ao perfil socioepidemiológico, o carcinoma de células escamosas bucal acomete principalmente homens, com idade entre 60 e 70 anos, tabagistas e etilistas. Além disso, fatores de riscos adicionais estão sendo estudados, tais como predisposição genética, infecção por HPV, infecção por *Candida*, deficiência nutricional e exposição à radiação ultravioleta (especialmente no caso de acometimento labial) (EMERICK, 2020).

Os locais mais acometidos incluem língua (borda lateral e 2/3 anteriores), orofaringe (1/3 posterior e palato mole), lábio, assoalho e gengiva. O CEC bucal, geralmente, se manifesta através de uma úlcera com áreas necróticas centrais e bordas elevadas. Quando superficial, na maioria das vezes é assintomático, mas

também pode estar associado a dor, disfagia, halitose e dificuldades na fala (FÁBIO, 2013).

Atualmente, a classificação TNM (Tumor, Node, Metastasis) é utilizada para definir o estágio do tumor e orientar a conduta. As diferentes formas de abordagem incluem a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia, sendo por vezes necessário o tratamento combinado (NÓBREGA, 2018).

O carcinoma de células escamosas da língua pode apresentar-se com comportamento agressivo, mesmo quando diagnosticado em fases iniciais. Apesar da importância, há pouca disponibilidade de estudos referentes ao tema. Objetiva-se, portanto, através deste relato de caso, ampliar o acervo de conhecimentos quanto à questão (MIGUELÁÑEZ-MEDRÁN, 2019).

2 | OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo abordar a caracterização clínica, sintomatologia, diagnóstico e tratamento do carcinoma de células escamosas de língua.

3 | METODOLOGIA

Este projeto foi fundamentado no relato de um caso clínico-cirúrgico de uma paciente pertencente à Clínica Angratrab e OncoBarra. A partir da aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foi permitida a divulgação de dados clínicos e laboratoriais, bem como imagens fotográficas. Ademais, foi realizada uma revisão de literatura acerca do assunto para a construção do trabalho. Foram utilizados artigos científicos disponíveis nas bases de dados do SCIELO, do PubMed, da revista Nature e o livro-texto Bases Patológicas das Doenças de Robbins e Cotran. Os descritores utilizados na construção foram: Carcinoma Epidermoide de língua; Carcinoma de Células Escamosas; Fisiopatologia de Carcinoma de Células Escamosas; Radioterapia.

4 | RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, branca, 84 anos, do lar, natural e residente de Angra dos Reis, apresentou-se ao ambulatório de Clínica Médica, queixando-se de dor intensa associada a lesão na língua, com vinte meses de duração. Ao exame físico, na borda lateral direita da língua, observou-se lesão tumoral úlcero-infiltrante medindo 2,2 x 2,0 cm e, no dorso, área esbranquiçada e eritematosa, sugestiva de leucoplasia, associada à dor à palpação e ausência de linfonodomegalia (Figuras 1 e 2). A prótese total superior foi elaborada há mais de trinta anos e possuía

higienização satisfatória. Do ponto de vista funcional, encontrava-se desgastada e bem adaptada. Hipertensa e portadora de Artrite Reumatoide, em uso de Losartana e Metotrexato, negava história de tabagismo e etilismo. Em relação à história familiar, constatou-se mãe falecida por câncer colorretal. Estava em uso de Benzidamina spray, Nistatina suspensão oral, Lidocaína pomada e Triancinolona acetona. Foi submetida à Endoscopia Digestiva Alta, na qual verificou-se hérnia de hiato e pangastrite com teste de urease negativo.



Figura 1: Lesão de borda lateral direita da língua com placa leucoplásica de consistência endurecida.



Figura 2: Lesão em dorso da língua com placa leucoplásica.

Foi encaminhada ao estomatologista, o qual levantou as hipóteses diagnósticas de CEC, estomatite aftosa e monilíase oral e, posteriormente, foi realizada biópsia incisional de tumor com margem profunda. O resultado anatomopatológico foi de carcinoma de células escamosas de língua moderadamente diferenciado (Figura 3), estendendo-se até o músculo esquelético, sendo a neoplasia classificada como

T2N0M0 (estádio II), baseada no critério de classificação TNM de câncer de boca da UICC/AJC (American Joint Committee for Cancer Staging).

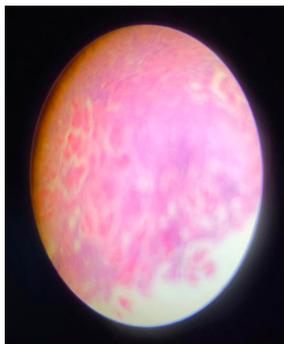


Figura 3: Carcinoma de células escamosas de língua moderadamente diferenciado.

A paciente foi encaminhada ao serviço OncoBarra, de Barra Mansa. Em relação à terapêutica, foi instituída glossectomia parcial associada a esvaziamento cervical bilateral. Entretanto, como a paciente não realizou a dissecação cervical, devido à idade e ausência de adenomegalia cervical, o tratamento foi complementado com radioterapia adjuvante. Atualmente, paciente encontra-se sob controle periódico, incluindo acompanhamento por fonoaudióloga e cirurgião de cabeça e pescoço.

5 | DISCUSSÃO

Um estudo transversal retrospectivo foi realizado buscando avaliar o perfil dos pacientes diagnosticados com carcinoma de células escamosas bucal. Quanto à localização, 48,75% localizavam-se na língua, seguidos por 10,25% localizados no assoalho da boca, 10% no lábio inferior e 31% em outras regiões (EMERICK, 2020).

Ainda sobre o estudo, o padrão de lesões mais encontrado foi a úlcera (49,75%), enquanto nódulos e placas foram identificados em porcentagens de 18,75% e 16,25% respectivamente. Histologicamente, 85% eram moderadamente ou bem diferenciadas. Quanto às outras características epidemiológicas, 70% eram homens, 80% tinham 60 anos ou mais, 70% eram brancos, 77,5% tabagistas e 55% estilistas (EMERICK, 2020).

Analisando o relato de caso que está sendo apresentado, pode-se perceber que muitas características são congruentes com o protótipo de pacientes que apresenta CEC bucal. Trata-se de uma pessoa branca, idosa, apresentando lesão do tipo ulcerosa na língua e que estava associada à dor, um sintoma comum.

A incidência de CEC de cabeça e pescoço, em geral, está decaindo, fato que se correlaciona à redução do tabagismo, considerado fator de risco importante. Em contrapartida, há um aumento da incidência especificamente do CEC de língua, o que contribui para a necessidade de maiores estudos quanto à identificação de possíveis fatores de riscos distintos para esse tipo de neoplasia (MESQUITA, 2014).

Alguns CEC de cabeça e pescoço, como os de orofaringe, ocorrem devido à colonização por HPV e também tiveram a incidência aumentada nos últimos anos, no entanto, segundo uma metanálise recente, em apenas 6,5% dos carcinomas de língua foi identificada a colonização por HPV. Os métodos para identificação do HPV se restringem a alguns subtipos, o que talvez possa justificar o fato, exigindo melhor elucidação (KIM, 2020).

Da mesma forma, esse aumento da identificação de CEC de língua aconteceu predominantemente em mulheres, que estatisticamente consomem menos cigarro do que os homens e cuja prevalência de tabagismo caiu entre os anos 1985 até 2015. Salienta-se, assim, a importância de se investigar outros fatores contribuintes para o surgimento do CEC lingual (KIM, 2020).

Quanto ao diagnóstico da neoplasia maligna de língua, a biópsia incisional é a mais utilizada, sendo interessante para a avaliação do perfil microscópico da lesão. Porém, não é a melhor escolha para a avaliação do estadiamento e do prognóstico, visto que áreas pouco diferenciadas podem não ser incluídas na amostra, por isso o prognóstico é melhor estabelecido a partir da avaliação clínica (EMERICK, 2020).

A cirurgia é a terapêutica de escolha para o CEC bucal, sendo que a modalidade varia de acordo com o estadiamento da doença. O procedimento cirúrgico está indicado para as fases III e IV, entretanto, 45% dos pacientes apresentam recidiva locoregional ou à distância. Desse modo, indica-se a quimioterapia (QT) adjuvante para lesões em estágios avançados ou em casos de lesões irrecutíveis, sem que tenha-se verificado redução na taxa de mortalidade. Considerando-se que a QT apresenta resultados inesperados, no Reino Unido, ela é indicada somente para CEC oral no estágio IV, inoperável ou recorrente (BRENNER, 2006).

A radioterapia (RT) é o método realizado para pacientes com baixo performance status ou quando o tumor se apresenta em fase avançada no momento do diagnóstico e a lesão não pode ser removida cirurgicamente com margem de segurança. Entretanto, a RT neoadjuvante aumenta as taxas de complicações cirúrgicas, pois dificulta a realização desta em um intervalo menor do que seis semanas após o término da RT. Ademais, pacientes com CEC oral avançado necessitam da RT adjuvante, isto é, após o procedimento cirúrgico (BRENNER, 2006).

De acordo com levantamento realizado na cidade de São Paulo, não foi constatada diferença entre a modalidade de tratamento e a taxa de sobrevida.

Entretanto, o prognóstico é mais favorável em pacientes submetidos à cirurgia, associada ou não à RT (FILHO, 2003).

6 | CONCLUSÃO

O caso relatado traz à luz a discussão acerca do carcinoma epidermoide oral, sua sintomatologia, epidemiologia e tratamento. Indivíduos acima de 40 anos de idade constituíram o grupo de risco predominante em todos os estudos, com destaque para o sexo masculino. O tabagismo é um dos agentes primordiais na carcinogênese oral e o etilismo potencializa seus efeitos. Entretanto, fatores como predisposição genética, imunodeficiência e higiene oral também devem ser investigados. O local mais comum de acometimento do CEC bucal foi a língua (48.75%), e o padrão ulceroso foi encontrado com maior frequência (49.75%). (BRENNER, 2006).

O estadiamento clínico influencia a escolha terapêutica, sendo a anamnese e o exame físico minuciosos importantes como forma de se estabelecer o diagnóstico precoce e contribuir para o melhor prognóstico dos pacientes.

REFERÊNCIAS

BRENER, Sylvie; *et. al.* Carcinoma de células escamosas bucal: uma revisão de literatura entre o perfil do paciente, estadiamento clínico e tratamento proposto. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Belo Horizonte, v. 53, ed. 1, p. 63-69, 2006. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/site/arquivos/n_53/v01/pdf/revisao4.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2020.

CARVALHO, M. B.; *et. al.* Características clínico-epidemiológicas do Carcinoma Epidermoide de Cavidade Oral no sexo feminino. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 47, ed. 3, 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302001000300032>. Acesso em: 22 jun. 2020.

EMERICK, Camila; *et al.* Perfil sociodemográfico e clinicopatológico de 80 casos de carcinoma de células escamosas de boca. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, 56: 1-6, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/jbpm/v56/pt_1676-2444-jbpm-56-e1492020.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2020.

FILHO, Francisco S. Amorim; *et. al.* Estudo de variáveis demográficas, ocupacionais e co-carcinogênicas no carcinoma espinocelular da base de língua nas mulheres. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 69, ed. 4, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-72992003000400006>. Acesso em: 22 jun. 2020.

HIROTA, Silvio K.; MIGLIARI, Dante A.; SUGAYA, Norberto N. Carcinoma epidermoide oral em paciente jovem: Relato de caso e revisão da literatura. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, São Paulo, p. 251-254, 2006. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/abd/v81n3/v81n03a07.pdf>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

KIM, Yi-Jun; KIM, Jin Ho. Increasing incidence and improving survival of oral tongue squamous cell carcinoma. **Scientific reports**, República da Coreia, 10:7877, 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-64748-0>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran. **Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

MESQUITA, Janaina Almeida; *et al.* Clinical and histopathological evidence of oral squamous cell carcinoma in young patients: systematized review. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 1, p. 67-74, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442014000100067>. Acesso em: 22 jun. 2020.

MIGUELÁÑEZ-MEDRÁN, Blanca del Carmen; *et al.* Oral squamous cell carcinoma of tongue: Histological risk assessment. A pilot study. **Medicina Oral Patologia Oral Cirurgia Bucal**, Madrid, 1;24 (5):e603-9, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6764715/pdf/medoral-24-e603.pdf>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

NÓBREGA, Thamirys-Dantas; *et al.* Clinicopathological evaluation and survival of patients with squamous cell carcinoma of the tongue. **Medicina Oral Patologia Oral Cirurgia Bucal**, Rio Grande do Norte, 1;23 (5):e579-87, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6167096/pdf/medoral-23-e579.pdf>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

PIRES, Fábio Ramôa; *et al.* Oral squamous cell carcinoma: clinicopathological features from 346 cases from a single Oral Pathology service during an 8-year period. **Journal of Applied Oral Science**, Rio de Janeiro, 21(5):460-7, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3881836/pdf/jaos-21-05-0460.pdf>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

RODRIGUES, Renata Miranda; *et al.* How pathological criteria can impact prognosis of tongue and floor of the mouth squamous cell carcinoma. **Journal of applied oral Science**, Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31800876/>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

SANTOS, F. S.; *et al.* Carcinoma epidermóide de língua: diagnóstico, tratamento e acompanhamento. **Arquivos de Ciências da Saúde**, São José do Rio Preto, p. 198-200, 2010. Disponível em: <http://repositorio-racs.famerp.br/racs_ol/vol-17-4/IDR%206.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2020>.

POLÍMERO POLI- ϵ -CAPROLACTONA ASSOCIADO A FÁRMACOS PARA CONTROLE DA DOR E INFECÇÃO: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 23/07/2020

Luciano Serpe

Universidade Estadual de Ponta Grossa
UEPG-PR
Ponta Grossa - PR
<https://orcid.org/0000-0001-6701-9361>

Luciana Dorochenko Martins

Universidade Estadual de Ponta Grossa
UEPG-PR
Ponta Grossa - PR
<https://orcid.org/0000-0001-7073-434X>

RESUMO: Este trabalho tem por objetivo revisar a literatura sobre os sistemas de liberação controlada a base do polímero poli- ϵ -caprolactona (PCL), focando em seu uso associado aos anestésicos locais, antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) e antibióticos. A PCL foi estável associada a diversas estruturas como nanocápsulas, nanofibras, nanoesferas e nanopartículas, sozinhas ou em uso concomitante com hidrogéis e outros tipos de aparatos, formando complexos úteis para liberação controlada de fármacos. A associação da PCL com anestésicos locais traz vários benefícios nos testes *in vitro* e *in vivo*, como aumento do tempo de anestesia, aumento do fluxo de permeação, prolongamento do efeito e diminuição da toxicidade celular. O mesmo foi observado com sua associação com AINEs, trazendo muitos benefícios para o uso

clínico. Os testes com antibióticos trazem boa ação contra as espécies de bactérias testadas, e bom perfil de liberação da droga. A PCL apresentou boa associação com os antibióticos testados, tanto para uso em pele, tecido ósseo, em mucosa oral ou em associação a implantes dentais. Concluímos que a PCL é um polímero bastante versátil em uso como sistema de liberação controlada de fármacos, conseguindo otimizar a terapêutica com os fármacos testados, justificando, desta forma, a continuidade das pesquisas por novas formulações.

PALAVRAS - CHAVE: Poli- ϵ -Caprolactona; Analgésicos, Antibióticos, Anestésicos Locais.

POLY- ϵ -CAPROLACTONE POLYMER ASSOCIATED WITH DRUGS FOR PAIN AND INFECTION CONTROL: A LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: This work aims to review the literature on controlled release systems based on the poly- ϵ -caprolactone polymer (PCL), focusing on its use associated with local anesthetics, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and antibiotics. PCL was stable associated with several structures such as nanocapsules, nanofibers, nanospheres and nanoparticles, alone or in concomitant use with hydrogels and other types of apparatus, forming complexes useful for controlled drug release. The association with PCL with local anesthetics brings several benefits in *in vitro* and *in vivo* tests, such as increase in anesthesia time, increased permeation flow, prolonged effect and decreased cellular toxicity. The same was observed with its association with

NSAIDs, bringing many benefits for clinical use. Antibiotic tests bring good action against the species of bacteria tested, and a good drug release profile. PCL showed a good association with the antibiotics tested, both for use on skin, bone tissue, oral mucosa or in association with dental implants. We conclude that PCL is a very versatile polymer in use as a controlled drug release system, managing to optimize therapy with the tested drugs, thus justifying the research for new formulations.

KEYWORDS: Poly-ε-Caprolactone; Analgesics, Antibiotics, Local Anesthetics.

INTRODUÇÃO

O tratamento farmacológico de um paciente cirúrgico em ciências da saúde comumente recai sobre os antiinflamatórios não esteroidais e anestésicos locais para controle da dor, e antibióticos para controle da infecção, sendo essas drogas a base de tratamento médico/odontológico para muitos pacientes. A capacidade do controle da dor através da descoberta a anestesia por Horace Wells (BORGHI, 2015) foi um dos grandes marcos da Medicina, e um avanço histórico para os tratamentos médico/cirúrgicos. Fatores como a ansiedade gerada pelo medo de sentir dor durante o atendimento já foram demonstrados em literatura como sendo causa da falta de aderência ao tratamento odontológico (NUTTALL et al., 2001) e em aumento da dose de anestésico durante a indução à anestesia geral (MARANETS; KAIN, 1999). A ansiedade pré-operatória causa flutuações no sistema autônomo (CELIK; EDIPOGLU, 2018) e que pode levar a efeitos indesejáveis durante o procedimento. Por isso, uma anestesia local feita de forma indolor, com ação profunda e por tempo adequado melhora a qualidade do atendimento. Neste mesmo íterim, os antiinflamatórios não esteroidais são de fundamental importância para a manutenção do controle da dor, e juntamente com os anestésicos locais, constituem a base para muitos tratamentos. Desde o início do uso da aspirina para tratar quadros álgicos há cerca de 3500 nos atrás (MONTINARI; MINELLI; DE CATERINA, 2019), os antiinflamatórios não esteroidais progrediram bastante em termos de sua eficácia. Porém, alguns quadros como toxicidade (BRUNE; RENNER; TIEGS, 2015; MARSICO; PAOLILLO; FILARDI, 2017; TAI; MCALINDON, 2018) e interferência em funções renais (MURRAY; BRATER, 1997; PRIETO-GARCÍA et al., 2016) ainda persistem. Outro divisor de águas dentro da medicina foi a descoberta dos antibióticos por Fleming, o que iniciou um novo campo de pesquisa, com descoberta de muitas outras drogas da classe (NICOLAOU; RIGOL, 2018). Como as outras classes de drogas já citadas, esta possui seus problemas ligados à toxicidade (RUTKA, 2019; YILMAZ; ÖZCENGİZ, 2017), alergias (BLUMENTHAL et al., 2018; BLUMENTHAL et al. 2019; DORN et al e, 2018) e problemas com a indução da resistência bacteriana (ALÓS, 2015; DODDS, 2017; MUNITA; ARIAS, 2016). Uma forma de amenizar estes possíveis efeitos deletérios dos fármacos supracitados é a sua associação com sistemas de liberação controlada. Estes se constituem de substâncias

químicas que são capazes de manter a liberação constante da droga por tempo longo (HENG, 2018), diminuir sua toxicidade aumentando assim sua eficácia. Existem vários sistemas de liberação em pesquisa como lipossomas, ciclodextrinas, nanocápsulas, nanoesferas, nanofibras etc. Nesta revisão abordaremos os sistemas de liberação controlada de fármacos a base de poli- ϵ -caprolactona, um polímero biodegradável (MELO et al., 2018) extensamente utilizado para o preparo deste tipo de formulação (MUNIZ et al., 2018). A literatura recente traz testes utilizando a poli- ϵ -caprolactona com analgésicos de uso cotidiano como ibuprofeno (CHEN et al., 2019; SHALUMON et al., 2018), piroxicam (RAHMANI DEL BAKHSHAYESH et al., 2020) e nimesulida (SENGEL-TURK et al., 2017) e antibióticos para uso médico em infecções ósseas (DING et al., 2018; MALIKMAMMADOV et al., 2018; PUGA et al., 2012; ROTMAN et al., 2020; ZHOU et al., 2018), pele (EZHILARASU et al., 2019; RAMALINGAM et al., 2019; RANJBAR-MOHAMMADI; BAHRAMI, 2015; RANJBAR-MOHAMMADI et al., 2016) e para uso odontológico (DIAS; DA SILVA; MONTEIRO; PINZÓN-GARCÍA et al., 2019; LAN et al., 2013; MIYAI et al., 2008; MONTEIRO et al., 2017; SCHUCKERT; JOPP; TEOH, 2009; SHAHI et al., 2017; WANG et al., 2019). A poli- ϵ -caprolactona é um polímero bastante versátil, utilizado no preparo de muitos sistemas de liberação controlada, como nanopartículas, nanoesferas, nanofibras e nanocápsulas. As nanopartículas poliméricas são esferas coloidais sólidas, que variam de 10 a 1000 nm, e podem ser classificadas, dependendo da composição e organização estrutural, em nanoesferas ou nanocápsulas. As nanoesferas possuem um núcleo e uma parede polimérica, já as nanocápsulas são compostas por núcleo líquido envolto por uma parede polimérica. Em ambos os casos, o fármaco pode estar dissolvido no núcleo ou adsorvido à parede polimérica (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; SCHAFFAZICK et al., 2003; SINGH; LILLARD, 2009). As nanocápsulas são estruturas vesiculares, com um conteúdo oleoso, utilizadas para transporte de drogas (MELO et al., 2018). As nanofibras, que são estruturas em forma de rede ou malha, que servem de aparato para retenção de drogas em seu interior (DING et al., 2018; DZIKOWSKI et al., 2017; EZHILARASU et al., 2019; MALIKMAMMADOV et al., 2018; RAMALINGAM et al., 2019; RANJBAR-MOHAMMADI; BAHRAMI, 2015). Este artigo visa revisar a literatura sobre os sistemas de liberação controlada de fármacos a base de poli- ϵ -caprolactona (PCL) complexadas com fármacos para controle da dor e da infecção, focando em antiinflamatórios não esteroidais, anestésicos locais e antibióticos e seus usos dentro da Odontologia e da Medicina.

POTENCIAL DA POLI- ϵ -CAPROLACTONA (PCL) COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE ANESTÉSICOS LOCAIS

Melo *et al.* (2018)(MELO; CAMPOS; FRANZ-MONTAN; PAULA *et al.*,

2018), estudaram uma formulação de hidrogel a base de poli- ϵ -caprolactona (PCL) complexada com articaína. Os resultados de caracterização do gel mostraram resultados promissores para início dos testes clínicos, com percentual de encapsulação de 78% para este anestésico local. A mesma autora já havia testado em estudo prévio uma formulação de nanocápsulas de polietilenoglicol/PCL complexadas com a forma carregada da articaína. Os resultados mostraram boa estabilidade da formulação em 120 dias, e taxa de encapsulação de 60%, além da diminuição da toxicidade celular *in vitro* (SILVA DE MELO et al., 2014). Em estudo com as nanoesferas de PCL, Campos *et al.*, (2012)(RAMOS CAMPOS et al., 2013), testaram pela primeira vez com êxito a encapsulação da lidocaína em nanoesferas de PCL. Os resultados mostraram uma boa liberação da droga pela formulação com nanoesferas, tendo 60 % da droga sendo liberada em 350 minutos, em comparação com 100% para a formulação controle neste mesmo tempo. A lidocaína encapsulada em nanoesferas apresentou um bloqueio sensorial na técnica de bloqueio do nervo ciático de 420 minutos, contra 240 minutos para o controle com lidocaína. Dado interessante é de que o bloqueio motor permaneceu igual para o controle e a formulação encapsulada, tendo os autores considerado esse efeito como positivo. Muniz *et al.*, (2018)(MUNIZ et al., 2018) estudaram hidrogéis a base de carbopol contendo PCL encapsulada com mistura de lidocaína e prilocaína para ação tópica intra oral em mucosa jugal e palato. Os resultados demonstraram boa estabilidade da formulação (com percentual de encapsulação da lidocaína chegando 83%) e boa compatibilidade celular. A lidocaína demonstrou melhor fluxo de permeação para a mucosa jugal, e ambas as drogas apresentaram maiores fluxos de permeação para a mucosa palatina do que os controles com a formulação comercial EMLA®. Este resultado é especialmente importante, pois é conhecida a dor causada à punção no palato durante a anestesia local (AL-MAHALAWY et al., 2018; GUPTA et al., 2018). Os resultados de testes de analgesia *in vivo* em ratos, com teste de tail flick, mostraram superioridade da formulação de nanocápsulas PCL em relação com controle com EMLA®. Assim, o creme foi considerado promissor para início de testes clínicos (MUNIZ et al., 2018). Zhang *et al.* (2017) (ZHANG; YUE; CHANG, 2017) testaram uma combinação de ropivacaína e dexametasona para otimizar a analgesia, encapsuladas com nanopartículas de PCL revestidas com Chitosan. Segundo o autor, a mistura de dexametasona com anestésicos locais prolongam a ação do anestésico pela redução da descarga neuronal causada pelo corticóide, pela atenuação de mediadores inflamatórios e pela inibição dos canais de potássio presentes nas fibras C nociceptoras. A taxa de encapsulação foi de 90% para a ropivacaína e de 85% para a dexametasona. A citotoxicidade foi menor nos grupos encapsulados do que nos controles e a permeação da droga pela pele nos grupos encapsulados chegou a 5,5 vezes maior do que nos controles. O teste *in vivo* em ratos de analgesia, utilizando a metodologia tail flick, mostrou superioridade nos tempos de anestesia para os grupos

encapsulados, em relação aos controles (ZHANG; YUE; CHANG, 2017). Isso aponta para um potencial uso clínico da formulação testada. Ainda com a Ropivacaína, Li *et al.*, (2019)(LI; YANG; XIN; BAI, 2019) estudando um polímero híbrido utilizando poli-diéstero-fosfatidietanolamina-etilenoglicol como envoltório hidrofílico e poli- ϵ -caprolactona como núcleo hidrofóbico. A droga encapsulada mostrou melhores resultados na permeação pela pele, com quantidade final de droga permeada sendo 2,6 vezes maior do que a solução controle com ropivacaína. A analgesia também apresentou melhores resultados, sendo foi 10 vezes melhor do que o controle nos testes *in vivo* de tail flick e resposta vocal a estímulo elétrico, além de menor citotoxicidade. Os autores concluíram que a formulação tem potencial para ser utilizada como anestésico de longa duração.

POTENCIAL DA POLI- ϵ -CAPROLACTONA (PCL) COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS

Chen et al. (2019) tiveram resultados positivos estudando ibuprofeno e o fator de crescimento para fibroblasto, encapsulados um gel micelar termosensível a base de poli- ϵ -caprolactona. O resultado foi um gel em consistência injetável enquanto em temperatura ambiente, e um hidrogel enquanto em temperatura ambiente, com boa capacidade de liberação das drogas hidrofílicas e hidrofóbicas. Além disso, o gel possui capacidade de promover crescimento e adesão de fibroblastos, e exercer efeito antiinflamatório. Os autores concluem que o gel resultante pode ajudar nas cirurgias de implantes dentais, ajudando na cicatrização de tecidos moles, evitando a mucosite periimplantar (CHEN; ZHI; FENG; GAO *et al.*, 2019). Outras estratégias como otimizar o uso oral de antiinflamatórios também são testadas com a nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona. Rahmani Del Bakhshayesh *et al.* (2020)(RAHMANI DEL BAKHSHAYESH *et al.*, 2020) testaram nanopartículas de PCL em compósito de colágeno. O compósito a nanocapsulado a base de colágeno mostrou um bom volume e baixa solubilidade, o que proporcionou uma liberação lenta do piroxicam (aproximadamente 63% da droga encapsulada liberada em 12 h). O composto nanoparticulado também mostrou uma ótima biocompatibilidade celular, e os autores apontam que este tipo de complexação nanoparticulada do piroxicam junto com colágeno pode ser utilizado em doenças artríticas, especialmente osteoartrite (RAHMANI DEL BAKHSHAYESH *et al.*, 2020). As nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona também foram testadas por Sengel-Turk et al. (2016)(SENGEL-TURK *et al.* 2017) como meio de encapsulação da nimesulida, mas para uso no tratamento do câncer. Segundo os autores, o uso de inibidores da ciclooxigenase-2 (COX2) tem efeito sobre a progressão do câncer, especialmente o de mama por 3 principais meios: inibição da prostaglandinas-2 diminui a angiogênese, o que diminui sua invasividade e progressão; inibe a ação das

cinases, que promovem a formação de fatores de crescimento tumorais e e reduz a síntese da aromatase, que é a mais importante enzima para a formação do estrógeno. Os resultados mostraram que as nanopartículas do tamanho de 150 a 250nm foram as mais eficazes em liberar a nimesulida nas células tumorais do câncer de mama (SENGEL-TURK et al. 2017). Shalumon *et al.* (2016)(SHALUMON et al., 2018), estudaram membranas nanofibras revestidas com nanopartículas de prata em polietilenoglicol/ poli- ϵ -caprolactona como envoltório e núcleo com ácido hialurônico e ibuprofeno. O estudo foi feito em aplicação da formulação para prevenção de adesão de fibroblastos e otimização da lubrificação e analgesia pós-cirúrgica em tendões de ratos. Os resultados mostraram que as nanopartículas de prata e o ácido hialurônico tiveram efeito positivo na diminuição da adesão dos fibroblastos nos tendões sem causar citotoxicidade, e inibiram o crescimento da *E. coli* e *S. aureus*, justificando seu uso.

POTENCIAL DA POLI- ϵ -CAPROLACTONA (PCL) COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PARA USO ODONTOLÓGICO

Wang *et al.*, (2019)(WANG et al., 2019), estudaram nanofibras de nanohidroxiapatita com envoltório composto de poli- ϵ -caprolactona e nanohidroxiapatita, e núcleo gelatinoso com metronidazol. Segundo os autores, o material tem aplicação em membranas de regeneração óssea guiada, para evitar a infecção do sítio cirúrgico, otimizando a indução óssea. Os resultados demonstraram que a não só que a formulação efetivamente incorporou o metronidazol, mas foi capaz de fazer a liberação controlada do mesmo, com a formulação testada diminuindo de 80 para 55% o pico de liberação inicial da droga e aumentou o tempo de liberação, em comparação com controle sem nanofibras. Além disso, a nanofibra mostrou boa capacidade osteoindutora, possuindo dessa forma potencial candidata para elaboração de futuras membranas de regeneração óssea guiada com potencial anti-infeccioso. Ainda testando o metronidazol dentro de aplicação na odontologia, Lan *et al.* (2013)(LAN et al., 2013), testaram anéis para acoplamento em implantes dentais feitos de poli- ϵ -caprolactona e alginato carregados com metronidazol. Os resultados mostraram uma eficácia na liberação do metronidazol por 30 dias, além do método de confecção eficaz e personalizado dos anéis contendo a formulação. Schuckert *et al.* (2009)(SCHUCKERT; JOPP; TEOH, 2009), em relato de caso, utilizaram com êxito uma membrana feita com PCL, em combinação com plasma rico em plaquetas (PRP) e proteína morfogenética recombinante humana para cobrir um defeito anterior em mandíbula, oriundo de infecção por periimplantite. A PCL foi utilizada sob a forma de tela e arcabouço para conter o PRP e a proteína morfogenética. Os resultados mostraram uma nova formação óssea em 4 meses. Monteiro *et al.* (2017)

(MONTEIRO et al., 2017), estudaram dois tipos de nanofibras a base de PCL, uma contendo o antibiótico tetraciclina e outra contendo o mesmo antibiótico encapsulado em β -ciclodextrinas para tratamento em doenças periodontais. Os resultados mostraram a formação da nanofibra a base de PCL com êxito, e ainda a formação do complexo tetraciclina- β -ciclodextrina. A formulação complexada com β -ciclodextrina liberou 50% da carga de tetraciclina em 4h, comparado com 48h para a mesma quantidade de droga formulação contendo apenas PCL – tetraciclina, tendo ambas mantido a liberação por 14 dias. Ambas as formulações mostraram boa eficiência contra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*, porém a formulação com β -ciclodextrina demonstrou melhor adesão à dentina e menor desmineralização na mesma *in vitro*. Ainda em estudos com tetraciclina, Shahi et al. (2016)(SHAHI et al., 2017) testaram um tipo de fibra a base de PCL e poli-DL-lactídeo associadas a gel de tetraciclina nas concentrações de 5, 10 e 25%, em ação contra as bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. As fibras de PCL contendo antibiótico inibiram o crescimento das bactérias com ação patogênica na periimplantite, diferindo estatisticamente dos controles sem PCL. Isso, segundo os autores, conferiu às microfibras importância para futura aplicação como revestimento de implantes dentais. Ainda em estudo com derivados da tetraciclina, Dias et al. (2019) (DIAS et al., 2019), testaram nanofibras de PCL em associação com dois antibióticos (Oxitetraciclina e óxido de zinco) para uso contra doença periodontal. As nanofibras de PCL obtiveram uma boa liberação da oxitetraciclina por 5 dias (com 54% de retenção da drogas nas nanofibras), e uma boa atividade antibacteriana para espécies causadoras de doença periodontal, além de baixa citotoxicidade, o que, segundo os autores, faz com que seja candidata para aplicação em tratamento clínico da doença periodontal. O mesmo grupo de pesquisa já havia publicado em 2018 bons resultados com a doxicilina encapsulada em nanofibras de nano-hidroxiapatita e PCL, estudando seu efeito antitumoral e antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* e *Porphyromonas gingivalis* (RAMÍREZ-AGUDELO et al., 2018). Miyai et al. (2008) (MIYAI et al., 2008), estudaram um compósito poroso feito de fosfato β -tricálcico associado com poli- ϵ -caprolactona carregada com o antibiótico gatifloxacino para tratamento da osteomielite. A droga foi liberada no tecido ósseo *in vivo* por 4 semanas para ambas as formulações (PCL em fosfato β -tricálcico e somente PCL), porém a porcentagem de liberada para a formulação de PCL em fosfato β -tricálcico foi de $91\pm 8\%$, comparada a $55\pm 10\%$ para a formulação de PCL. O compósito contendo PCL manteve a atividade bactericida contra *S. milleri* e *B. fragilis* depois de aquecido, correspondendo a $92\pm 6\%$ da capacidade bactericida da droga livre não aquecida. O compósito foi capaz de controlar a infecção dentro do espaço morto causado pelo debridamento da infecção experimental na mandíbula de coelhos. Nos grupos-teste

com o compósito não houve formação de tecido fibroso inflamatório em 4 semanas, e houve neo formação óssea pelos poros do compósito. Os autores concluem que o compósito possui aplicação clínica para tratamento da osteomielite, especialmente se associado ao uso de antibióticos sistêmicos.

POTENCIAL DA POLI- ϵ -CAPROLACTONA (PCL) COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PARA USO MÉDICO

Um dos principais problemas em tratamentos com antibióticos em medicina é a disponibilização do mesmo para tratar infecções em locais com pouca vascularização, como é o caso dos ossos e da pele. Neste sentido, os sistemas de liberação controlada possuem papel importante. Malikmammadov *et al.* (2017)(MALIKMAMMADOV *et al.*, 2018), estudaram matrizes fibrosas e porosas da base de PCL e fosfato tricálcico complexadas com microesferas de ceftriaxona para uso em cicatrização óssea. Em testes *in vitro*, a formulação foi complexada com êxito, tendo taxa de aderência nas microesferas na matriz foi de ~77% e a taxa de droga dentro das microesferas foi de 37%. A liberação do antibiótico foi consistente por 7 dias, e acabou depois de 15 dias, tendo boa ação contra *E.coli*, sugerindo os autores que testes *in vivo* com a formulação podem ser feitos. Em dois trabalhos independentes, Puga *et al.* (2012) (PUGA *et al.*, 2012) e Ding *et al.*, (2018)(DING *et al.*, 2018) e testaram as drogas ciprofloxacino e levofloxacino, respectivamente, utilizando matrizes a base de PCL para uso em cicatrização óssea. Puga *et al.* (2012), testaram uma matriz implantável de PCL e poloxamina, contendo ciprofloxacino. O sistema foi eficaz em manter a liberação da droga, sendo que algumas variedades de PCL testadas mantiveram a liberação constante da droga por 2 meses. Além disso, a formulação foi biocompatível com osteoblastos e com boa atividade antibacteriana contra *S. aureus*. Resultados semelhantes foram obtidos posteriormente por Ding *et al.*, (2018) ao estudarem dois diferentes suportes fibrosos, um feito de polihidroxibutirato/ poli- ϵ -caprolactona (PHB/ PBL) e outro de PHB/PBL em fase gel/sol derivado de sílica. O levofloxacino foi bem incorporado em ambos os suportes, mas o PHB/PCL em fase gel-sol apresentou melhores características por não apresentar droga cristalizada na superfície. Ambas as formulações apresentaram bons resultados clínicos contra a *E. coli* e o *S. aureus*, e baixa citotoxicidade em osteoblastos. O autor concluiu que a formulação contendo levofloxacino em PCL e a fase gel/sol tem boas aplicações para a engenharia de tecidos ósseos. Rotman *et al.* (2018)(ROTMAN *et al.*, 2020) tiveram sucesso em testes com microesferas biodegradáveis de poliésteres feitas de poli- ϵ -caprolactona e poli- D, L - ácido láctico, contendo o antibiótico gentamicina e otimizadas com a droga alendronato para melhorar penetração óssea. Os testes mostraram boa eficácia contra o *S. aureus*, e que a complexação com o alendronato melhorou em 15 vezes a ligação das microesferas com a estrutura óssea, além de diminuir o potencial de reabsorção

dos osteoclastos em 35%, comparando com uma redução de apenas 25% quando o alendronato não foi adicionado. Zhou *et al.* (2018)(ZHOU *et al.*, 2018) estudaram microesferas de ácido polilático e ácido glicólico contendo o antibiótico vancomicina revestidas em estruturas de poli- ϵ -caprolactona para tratamento de infecções ósseas. Os resultados mostraram boa porcentagem de encapsulação, e de liberação da droga de 82,53%, e o efeito antibacteriano *in vitro* perdurou por 28 dias. A PCL também é extensamente utilizada para tratamento de infecções em pele. Ranjbar-Mohammadi *et al.* (2015,2016)(RANJBAR-MOHAMMADI *et al.*, 2016) (RANJBAR-MOHAMMADI; BAHRAMI, 2015) em dois estudos demonstraram a utilidade de nanofibras de poli- ϵ -caprolactona e goma adragante em controle de infecções em pele. No primeiro estudo foi feita a caracterização da PCL em uso concomitante com a goma adragante. Os resultados foram positivos, demonstrando boa morfologia da nanofibras, aderência de fibroblastos e baixa citotoxicidade. No segundo estudo, a goma adragante foi carregada com curcumina e associada as nanofibras de poli- ϵ -caprolactona e para uso em feridas de pele em ratos diabéticos. As nanofibras foram eficazes em liberar a curcumina nas feridas por 20 dias. As áreas tratadas evoluíram clinicamente melhores do que as áreas sem tratamento. Ainda em associação da poli- ϵ -caprolactona com fitoterápicos, Ramalingam *et al.*, (2019)(RAMALINGAM *et al.*, 2019) estudaram uma malha fibrosa a base de PCL e associada a estrato de folha da *Gymnema sylvestre*. As malhas fibrosas inibiram o crescimento bacteriano, porém sem causar halo de inibição. O crescimento foi inibido sobre as malhas, sugerindo inibição por contato. Os autores apontam este resultado como positivo, pois favoreceria a migração das células para o local da ferida. Em trabalho semelhante na temática de fitoterápicos associados ao PCL, Ezhilarasu *et al.* (2019)(EZHILARASU *et al.*, 2019) estudaram a tetraciclina, e os fitoterápicos *Aloe vera* e curcumina complexados com poli- ϵ -caprolactona. As nanofibras de PCL complexadas com *Aloe vera* e tetraciclina obtiveram melhores resultados de biocompatibilidade e antimicrobianos (contra bactérias Gram positivas e Gram negativas) do que o controle com curcumina e ainda forneceu suporte para crescimento de fibroblastos com um maior depósito de colágeno.

CONCLUSÃO

Concluimos com esta revisão da literatura que a poli- ϵ -caprolactona é um material extremamente versátil no que se refere à composição de sistemas de liberação controlada de fármacos. Sua característica de biodegradável e capacidade de ser estável quando junto de outros polímeros a torna base para vários outros sistemas de liberação controlada, o que faz com que seja aplicável em uma grande variedade de especialidades nas ciências da saúde. Sua utilização é importante clinicamente pois otimiza a terapêutica, trazendo uma melhora na qualidade de vida do paciente, e

diminuindo sua morbidade.

REFERÊNCIAS

AL-MAHALAWY, H.; ABUHASHISH, H.; CHATHOTH, S.; AL-MASOUD, N. *et al.* **Articaine Versus Lidocaine Concentration in the Palatal Tissues After Supraperiosteal Buccal Infiltration Anesthesia.** *J Oral Maxillofac Surg*, 76, n. 2, p. 315.e311-315.e317, 02 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29102601/>

ALÓS, J. I. [**Antibiotic resistance: A global crisis**]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 33, n. 10, p. 692-699, Dec 2015. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25475657/>

BLUMENTHAL, K. G.; LI, Y.; BANERJI, A.; YUN, B. J. *et al.* **The Cost of Penicillin Allergy Evaluation.** *J Allergy Clin Immunol Pract*, 6, n. 3, p. 1019-1027.e1012, 2018 May - Jun 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28958738/>

BLUMENTHAL, K. G.; PETER, J. G.; TRUBIANO, J. A.; PHILLIPS, E. J. **Antibiotic allergy.** *Lancet*, 393, n. 10167, p. 183-198, 01 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30558872/>

BORGHI, L. The monuments men: in the history of anesthesia, too. **Anesthesiology**, 122, n. 3, p. 521-523, Mar 2015. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25539077/>

BRUNE, K.; RENNER, B.; TIEGS, G. Acetaminophen/paracetamol: A history of errors, failures and false decisions. **Eur J Pain**, 19, n. 7, p. 953-965, Aug 2015. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25429980/>

CELIK, F.; EDIPOGLU, I. S. **Evaluation of preoperative anxiety and fear of anesthesia using APAIS score.** *Eur J Med Res*, 23, n. 1, p. 41, Sep 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30205837/>

CHEN, W.; ZHI, M.; FENG, Z.; GAO, P. *et al.* **Sustained co-delivery of ibuprofen and basic fibroblast growth factor by thermosensitive nanoparticle hydrogel as early local treatment of peri-implantitis.** *Int J Nanomedicine*, 14, p. 1347-1358, 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30863065/>

DIAS, A. M.; DA SILVA, F. G.; MONTEIRO, A. P. F.; PINZÓN-GARCÍA, A. D. *et al.* **Polycaprolactone nanofibers loaded oxytetracycline hydrochloride and zinc oxide for treatment of periodontal disease.** *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 103, p. 109798, Oct 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31349501/>

DING, Y.; LI, W.; CORREIA, A.; YANG, Y. *et al.* **Electrospun Polyhydroxybutyrate/Poly(ϵ -caprolactone)/Sol-Gel-Derived Silica Hybrid Scaffolds with Drug Releasing Function for Bone Tissue Engineering Applications.** *ACS Appl Mater Interfaces*, 10, n. 17, p. 14540-14548, May 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29624366/>

DODDS, D. R. **Antibiotic resistance: A current epilogue.** *Biochem Pharmacol*, 134, p. 139-146, 06 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27956111/>

DORN, J. M.; ALPERN, M.; MCNULTY, C.; VOLCHECK, G. W. **Sulfonamide Drug Allergy**. *Curr Allergy Asthma Rep*, 18, n. 7, p. 38, 06 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29876667/>

DZIKOWSKI, M.; CASTANIÉ, N.; GUEDON, A.; VERRIER, B. *et al.* **Antibiotic incorporation in jet-sprayed nanofibrillar biodegradable scaffolds for wound healing**. *Int J Pharm*, 532, n. 2, p. 802-812, Nov 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28864389/>

EZHILARASU, H.; RAMALINGAM, R.; DHAND, C.; LAKSHMINARAYANAN, R. *et al.* **Biocompatible Aloe vera and Tetracycline Hydrochloride Loaded Hybrid Nanofibrous Scaffolds for Skin Tissue Engineering**. *Int J Mol Sci*, 20, n. 20, Oct 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31635374/>

GUPTA, S.; KUMAR, A.; SHARMA, A. K.; PUROHIT, J. *et al.* **“Sodium bicarbonate”: an adjunct to painless palatal anesthesia**. *Oral Maxillofac Surg*, 22, n. 4, p. 451-455, Dec 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30324508/>

HENG, P. W. S. **Controlled release drug delivery systems**. *Pharm Dev Technol*, 23, n. 9, p. 833, 11 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30375914/>

LAN, S. F.; KEHINDE, T.; ZHANG, X.; KHAJOTIA, S. *et al.* **Controlled release of metronidazole from composite poly- ϵ -caprolactone/alginate (PCL/alginate) rings for dental implants**. *Dent Mater*, 29, n. 6, p. 656-665, Jun 2013. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23602170/>

LI, A.; YANG, F.; XIN, J.; BAI, X. **An efficient and long-acting local anesthetic: ropivacaine-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles for the control of pain**. *Int J Nanomedicine*, 14, p. 913-920, 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30774342/>

MALIKMAMMADOV, E.; TANIR, T. E.; KIZILTAY, A.; HASIRCI, V. *et al.* **PCL-TCP wet spun scaffolds carrying antibiotic-loaded microspheres for bone tissue engineering**. *J Biomater Sci Polym Ed*, 29, n. 7-9, p. 805-824, 2018 May - Jun 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28705112/>

MARANETS, I.; KAIN, Z. N. **Preoperative anxiety and intraoperative anesthetic requirements**. *Anesth Analg*, 89, n. 6, p. 1346-1351, Dec 1999. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10589606/>

MARSICO, F.; PAOLILLO, S.; FILARDI, P. P. **NSAIDs and cardiovascular risk**. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 18 Suppl 1: Special Issue on The State of the Art for the Practicing Cardiologist: The 2016 Conoscere E Curare Il Cuore (CCC) Proceedings from the CLI Foundation, p. e40-e43, Jan 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27652819/>

MELO, N. F. S.; CAMPOS, E. V. R.; FRANZ-MONTAN, M.; PAULA, E. *et al.* **Characterization of Articaine-Loaded Poly(J Nanosci Nanotechnol**, 18, n. 6, p. 4428-4438, Jun 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29442800/>

MIYAI, T.; ITO, A.; TAMAZAWA, G.; MATSUNO, T. *et al.* **Antibiotic-loaded poly-epsilon-caprolactone and porous beta-tricalcium phosphate composite for treating osteomyelitis**. *Biomaterials*, 29, n. 3, p. 350-358, Jan 2008. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17977596/>

MONTEIRO, A. P.; ROCHA, C. M.; OLIVEIRA, M. F.; GONTIJO, S. M. *et al.* **Nanofibers containing tetracycline/ β -cyclodextrin: Physico-chemical characterization and antimicrobial evaluation.** *Carbohydr Polym*, 156, p. 417-426, Jan 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27842841/>

MONTINARI, M. R.; MINELLI, S.; DE CATERINA, R. **The first 3500 years of aspirin history from its roots - A concise summary.** *Vascul Pharmacol*, 113, p. 1-8, 02 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30391545/>

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. **Polymer-based nanocapsules for drug delivery.** *Int J Pharm*, 385, n. 1-2, p. 113-142, Jan 2010. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19825408/>

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. **Mechanisms of Antibiotic Resistance.** *Microbiol Spectr*, 4, n. 2, 04 2016. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27227291/>

MUNIZ, B. V.; BARATELLI, D.; DI CARLA, S.; SERPE, L. *et al.* **Hybrid Hydrogel Composed of Polymeric Nanocapsules Co-Loading Lidocaine and Prilocaine for Topical Intraoral Anesthesia.** *Sci Rep*, 8, n. 1, p. 17972, 12 2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30568251/>

MURRAY, M. D.; BRATER, D. C. **Effects of NSAIDs on the kidney.** *Prog Drug Res*, 49, p. 155-171, 1997. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9388387/>

NICOLAOU, K. C.; RIGOL, S. **A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis.** *J Antibiot (Tokyo)*, 71, n. 2, p. 153-184, 02 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28676714/>

NUTTALL, N. M.; BRADNOCK, G.; WHITE, D.; MORRIS, J. *et al.* **Dental attendance in 1998 and implications for the future.** *Br Dent J*, 190, n. 4, p. 177-182, Feb 2001. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11270384/>

PRIETO-GARCÍA, L.; PERICACHO, M.; SANCHO-MARTÍNEZ, S. M.; SÁNCHEZ, Á. *et al.* **Mechanisms of triple whammy acute kidney injury.** *Pharmacol Ther*, 167, p. 132-145, 11 2016. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27490717/>

PUGA, A. M.; REY-RICO, A.; MAGARIÑOS, B.; ALVAREZ-LORENZO, C. *et al.* **Hot melt poly- ϵ -caprolactone/poloxamine implantable matrices for sustained delivery of ciprofloxacin.** *Acta Biomater*, 8, n. 4, p. 1507-1518, Apr 2012. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22251935/>

RAHMANI DEL BAKHSHAYESH, A.; AKBARZADEH, A.; ALIHEMMATI, A.; TAYEFI NASRABADI, H. *et al.* **Preparation and characterization of novel anti-inflammatory biological agents based on piroxicam-loaded poly- ϵ -caprolactone nano-particles for sustained NSAID delivery.** *Drug Deliv*, 27, n. 1, p. 269-282, Dec 2020. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32009480/>

RAMALINGAM, R.; DHAND, C.; LEUNG, C. M.; ONG, S. T. *et al.* **Antimicrobial properties and biocompatibility of electrospun poly- ϵ -caprolactone fibrous mats containing *Gymnema sylvestre* leaf extract.** *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 98, p. 503-514, May 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30813052/>

RAMOS CAMPOS, E. V.; SILVA DE MELO, N. F.; GUILHERME, V. A.; DE PAULA, E. *et al.* **Preparation and characterization of poly(ϵ -caprolactone) nanospheres containing the local anesthetic lidocaine.** J Pharm Sci, 102, n. 1, p. 215-226, Jan 2013. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23108693/>

RAMÍREZ-AGUDELO, R.; SCHEUERMANN, K.; GALA-GARCÍA, A.; MONTEIRO, A. P. F. *et al.* **Hybrid nanofibers based on poly-caprolactone/gelatin/hydroxyapatite nanoparticles-loaded Doxycycline: Effective anti-tumoral and antibacterial activity.** Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 83, p. 25-34, Feb 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29208285/>

RANJBAR-MOHAMMADI, M.; BAHRAMI, S. H. **Development of nanofibrous scaffolds containing gum tragacanth/poly (ϵ -caprolactone) for application as skin scaffolds.** Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 48, p. 71-79, Mar 2015. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25579898/>

RANJBAR-MOHAMMADI, M.; RABBANI, S.; BAHRAMI, S. H.; JOGHATAEI, M. T. *et al.* **Antibacterial performance and in vivo diabetic wound healing of curcumin loaded gum tragacanth/poly(ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers.** Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 69, p. 1183-1191, Dec 2016. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27612816/>

ROTMAN, S. G.; THOMPSON, K.; GRIJPMA, D. W.; RICHARDS, R. G. *et al.* **Development of bone seeker-functionalised microspheres as a targeted local antibiotic delivery system for bone infections.** J Orthop Translat, 21, p. 136-145, Mar 2020. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32309139/>

RUTKA, J. **Aminoglycoside Vestibulotoxicity.** Adv Otorhinolaryngol, 82, p. 101-110, 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30947191/>

SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R.; DALLA-COSTA, T.; GUTERRES, S. S. **Freeze-drying polymeric colloidal suspensions: nanocapsules, nanospheres and nanodispersion. A comparative study.** Eur J Pharm Biopharm, 56, n. 3, p. 501-505, Nov 2003. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14602195/>

SCHUCKERT, K. H.; JOPP, S.; TEOH, S. H. **Mandibular defect reconstruction using three-dimensional polycaprolactone scaffold in combination with platelet-rich plasma and recombinant human bone morphogenetic protein-2: de novo synthesis of bone in a single case.** Tissue Eng Part A, 15, n. 3, p. 493-499, Mar 2009. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18767969/>

SENGEL-TURK, C. T.; HASCICEK, C.; BAKAR, F.; SIMSEK, E. **Comparative Evaluation of Nimesulide-Loaded Nanoparticles for Anticancer Activity Against Breast Cancer Cells.** AAPS PharmSciTech, 18, n. 2, p. 393-403, Feb 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27007742/>

SHAHI, R. G.; ALBUQUERQUE, M. T. P.; MÜNCHOW, E. A.; BLANCHARD, S. B. *et al.* **Novel bioactive tetracycline-containing electrospun polymer fibers as a potential antibacterial dental implant coating.** Odontology, 105, n. 3, p. 354-363, Jul 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27585669/>

SHALUMON, K. T.; SHEU, C.; CHEN, C. H.; CHEN, S. H. *et al.* **Multi-functional electrospun antibacterial core-shell nanofibrous membranes for prolonged prevention of post-surgical tendon adhesion and inflammation.** *Acta Biomater*, 72, p. 121-136, 05 2018. Texto disponível em:

SILVA DE MELO, N. F.; CAMPOS, E. V.; GONÇALVES, C. M.; DE PAULA, E. *et al.* **Development of hydrophilic nanocarriers for the charged form of the local anesthetic articaine.** *Colloids Surf B Biointerfaces*, 121, p. 66-73, Sep 2014. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24934456/>

SINGH, R.; LILLARD, J. W. **Nanoparticle-based targeted drug delivery.** *Exp Mol Pathol*, 86, n. 3, p. 215-223, Jun 2009. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19186176/>

TAI, F. W. D.; MCALINDON, M. E. **NSAIDs and the small bowel.** *Curr Opin Gastroenterol*, 34, n. 3, p. 175-182, 05 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29438118/>

WANG, Y.; JIANG, Y.; ZHANG, Y.; WEN, S. *et al.* **Dual functional electrospun core-shell nanofibers for anti-infective guided bone regeneration membranes.** *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 98, p. 134-139, May 2019. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30813013/>

YILMAZ, Ç.; ÖZCENGİZ, G. **Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps.** *Biochem Pharmacol*, 133, p. 43-62, 06 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27765485/>

ZHANG, Y.; YUE, Y.; CHANG, M. **Local anaesthetic pain relief therapy: In vitro and in vivo evaluation of a nanotechnological formulation co-loaded with ropivacaine and dexamethasone.** *Biomed Pharmacother*, 96, p. 443-449, Dec 2017. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29031203/>

ZHOU, Z.; YAO, Q.; LI, L.; ZHANG, X. *et al.* **Antimicrobial Activity of 3D-Printed Poly(ϵ -Caprolactone) (PCL) Composite Scaffolds Presenting Vancomycin-Loaded Poly(lactic Acid-Glycolic Acid) (PLGA) Microspheres.** *Med Sci Monit*, 24, p. 6934-6945, Sep 2018. Texto disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30269152/>

PREVALÊNCIA DE DOENÇA RENAL CRÔNICA E SUA RELAÇÃO COM O NT-PRÓBNP EM PACIENTES DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO NO PARANÁ

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 04/07/2020

Natieli Flores Fernandes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE
Cascavel – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/9306451409995390>

Mônica Tereza Suldotski

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE
Cascavel – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5605003552953101>

RESUMO: A Doença Renal Crônica (DRC) é um problema de saúde mundial e estima-se que cerca de 3 a 6 milhões de brasileiros convivam com ela. Objetivos: identificar a prevalência dos estágios de DRC em uma população de pacientes que realizaram dosagem de NT-PróBNP e verificar relação entre níveis deste marcador e Taxa de Filtração Glomerular (TFG) calculada por CKD-EPI. Estudo retrospectivo com dados coletados no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2019. Sendo excluídos <18 anos e os que não possuíam dados necessários para calcular CKD-EPI (creatinina, idade, sexo e etnia). Foram divididos conforme TFG para classificação da DRC, seguindo KDOQUI. O programa para análise estatística foi XLSTAT® e os resultados obtidos através da metodologia de regressão linear, considerando

significativo $p < 0,05$. O número final de pacientes foi 614, a idade média 65 anos, 51,14% eram do sexo masculino e 2,77% eram negros. O nível de NT-próBNP teve média de 9.034,45 pg/mL. A prevalência de DRC foi 56% e o estágio 4 foi predominante, seguido de 3B, 3A e 5. Os estágios 3B, 4 e 5 apresentaram diferença significativa em relação às concentrações de NT-PróBNP e ele apresentou correlação direta com a TFG calculada por CKD-EPI. Conclui-se que na população de estudo há alta prevalência de DRC e em predominância um estágio que já é considerado de redução severa da TFG. A correlação de NT-PróBNP e TFG, serve de alerta para seu uso em pacientes com Insuficiência Cardíaca e DRC concomitantes.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças Renais, Taxa de Filtração Glomerular, Insuficiência Cardíaca, Biomarcadores.

PREVALENCE OF CHRONIC KIDNEY DISEASE AND ITS RELATIONSHIP WITH NT-PROBNP IN PATIENTS OF A UNIVERSITY HOSPITAL IN PARANÁ

ABSTRACT: Chronic Kidney Disease (CKD) is a global health issue and it is estimated that 3 to 6 million brazilians live with this disease. Objectives: identify the prevalence of CKD stages in a population of patients who underwent NT-ProBNP measurement and check the relationship between levels of this marker and Glomerular Filtration Rate (GFR) calculated by CKD-EPI. Retrospective study with data collected at the Western Parana University Hospital (HUOP), from january 2017 to december 2019. Patients under 18 years old and those who did not have

the necessary data in the medical report to calculate CKD-EPI (e. g. creatinine, age, sex and ethnicity) were excluded. The patients were divided according to the GFR for classification of CKD, following KDOQI. The program for statistical analysis was XLSTAT® and the results obtained through the linear regression approach, considering $p < 0.05$ of significance. The final number of patients was 614, the mean age was 65 years, 51.14% were male and 2.77% were black. The NT-proBNP mean level was 9,034.45 pg/mL. The prevalence of CKD was 56% and stage 4 of the disease was predominant, followed by 3B, 3A and 5. Stages 3B, 4 and 5 presented a significant difference in regarding NT-proBNP concentrations and it showed a direct correlation with GFR calculated by CKD-EPI. It is concluded that in the studied population there is a high prevalence of CKD and in a predominance stage that is already considered of severe reduction of GFR. The correlation of NT-ProBNP and GFR serves as a warning for its use in patients with concomitant heart failure and CKD.

KEYWORDS: Kidney Diseases, Glomerular Filtration Rate, Heart Failure, Biomarkers.

1 | INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) é considerada um importante problema de saúde pública mundial. A prevalência desta enfermidade na população adulta nos países desenvolvidos varia entre 10 e 13%. Estima-se que cerca de 3 a 6 milhões de brasileiros teriam DRC.

É definido como portador desta doença, segundo a Kidney Disease Outcome Quality Initiative (KDOQI), aquele com Taxa de Filtração Glomerular (TFG) $< 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ ou $> 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ juntamente a outro marcador de dano renal, por exemplo, proteinúria por um período de pelo menos 3 meses. KDOQI também sugere que a DRC deve ser classificada em estágios conforme a TFG. Esses estágios são definidos como: estágio 1 (normal) - $\text{TFG} \geq 90 \text{ mL/min/1,73m}^2$, estágio 2 (redução discreta) - $\text{TFG} 60\text{-}89 \text{ mL/min/1,73m}^2$, estágio 3A (redução discreta a moderada) - $\text{TFG} 45\text{-}59 \text{ mL/min/1,73m}^2$, estágio 3B (redução moderada a severa) - $\text{TFG} 30\text{-}44 \text{ mL/min/1,73m}^2$, estágio 4 (redução severa) - $\text{TFG} 15\text{-}29 \text{ mL/min/1,73m}^2$ e estágio 5 (falência renal) - $\text{TFG} < 15 \text{ mL/min/1,73m}^2$, sendo conforme definição, os estágios 1 e 2 acompanhados de outro marcador de dano renal.

Neste contexto, a monitorização da função renal é de suma importância e pode ser feita através de marcadores isolados e fórmulas para estimar a TFG. Atualmente o que é mais indicado e aceito, devido à precocidade, facilidade de obtenção de dados, precisão (principalmente quando $\text{TFG} > 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$) e também por ter sido desenvolvido com a avaliação em pacientes diversos (com e sem DRC, ambos os sexos e etnias), é a fórmula do CKD-EPI. Proposta por Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, esta fórmula leva em consideração a dosagem de creatinina sérica, idade, sexo e etnia do paciente.

A TFG é aceita como a melhor medida da função renal tanto no paciente

saudável como no que já possui dano. Além disso, é a forma de avaliação desta função melhor compreendida pela comunidade médica e também pelos pacientes. Ela expressa o volume de sangue que é completamente depurado em determinada unidade de tempo. Os pacientes com DRC apresentam alto risco de doenças cardiovasculares fatais. A detecção precoce de alterações na TFG é importante na prevenção e tratamento da DRC e evita desfechos irreversíveis, que resultem em transplante ou diálise, por exemplo.

O Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP) foi isolado primeiramente no cérebro de porcos, porém através de estudos verificou-se que é até 10 vezes mais concentrado no coração. Por isso, atualmente é utilizado como marcador para Insuficiência Cardíaca e prognóstico de risco cardiovascular. Tem origem no Pré-pró-BNP que é secretado no miócito, ocorrendo uma clivagem, formando PróBNP e um peptídeo sinalizador. Este PróBNP por sua vez, é dividido em duas moléculas, o BNP, que tem função natriurética e vasodilatadora e a porção N-terminal do Peptídeo Natriurético Cerebral, o NT-PróBNP, que é um metabólito inativo. Ambos podem ser dosados na prática clínica e vem se tornando comuns na mesma. A única forma de excreção do NT-PróBNP é por meio renal e por isso, alguns autores propõem que a TFG diminuída está associada ao aumento dos níveis deste marcador mesmo na ausência de problemas cardíacos. Desta forma, sugere-se que ele pode ter seus níveis alterados por ambas as enfermidades.

2 | OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram: identificar a prevalência dos estágios de DRC em uma população de pacientes de um Hospital Universitário do Paraná e verificar a relação entre níveis de NT-PróBNP e a TFG calculada por CKD-EPI.

3 | MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Seleção de pacientes

Estudo retrospectivo realizado com dados coletados no prontuário eletrônico Tasy® de todos os pacientes que realizaram exame de NT-PróBNP no Hospital Universitário do Oeste do Paraná, de janeiro de 2017 a dezembro de 2019. Foram excluídos os menores de 18 anos e os que não possuíam os dados necessários para calcular o CKD-EPI (creatinina, idade, sexo e etnia). A creatinina selecionada foi a mais próxima a dosagem de NT-PróBNP, não ultrapassando 1 dia a mais ou a menos.

3.2 Quantificação da creatinina

A creatinina foi dosada no soro através das metodologias: química seca e cinética (reação de Jaffé modificada) realizadas nos aparelhos Ortho-Clinical

Diagnostics VITROS™ 3600 Immunodiagnostic System. E também no sangue total através da metodologia enzimática no aparelho ABL800 FLEX blood gas analyzer. Todas as metodologias utilizam calibradores rastreáveis ao método ID-MS (espectrometria de massas com diluição isotópica), critério exigido para o uso da fórmula CKD-EPI.

3.3 Quantificação do NT-PróBNP

O NT-PróBNP foi dosado no soro dos pacientes através da técnica Enzyme-Linked Fluorescent Assay (ELFA) no imunoanalisador multiparamétrico compacto Mini VIDAS® da bioMérieux. Por ser comumente usado como marcador de Insuficiência Cardíaca (IC), seus valores de referência estão relacionados a esta patologia. São eles: >450 pg/mL para pacientes abaixo de 50 anos e >900 pg/mL para pacientes a partir de 50 anos.

3.4 Cálculo do CKD-EPI

O cálculo do CKD-EPI foi realizado através da fórmula $eFTG = 141 \times \min(Cre/\kappa, 1)^\alpha \times \max(Cre/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0,993^{idade} \times 1,018$ [se mulher] $\times 1,159$ [se negro]. Onde: Cre: é creatinina sérica, κ : é 0,7 para mulheres e 0,9 para homens, α : é -0,329 para mulheres e -0,411 para homens, min: indica o mínimo de Cre/ κ ou 1; max: indica o máximo de Cre/ κ ou 1. A fórmula diferencia apenas negros, portanto indivíduos declarados brancos, pardos ou orientais foram considerados para a mesma variação da equação. Os pacientes foram divididos em grupos de acordo com a TFG para classificação da DRC, seguindo o critério estabelecido pelo KDOQUI. Apesar de não ter associado outro marcador de dano renal, os pacientes que se encontravam nos estágios 1 e 2 também foram considerados para algumas estatísticas do estudo.

3.5 Análise Estatística

O banco de dados foi montado no Programa Microsoft Excel, onde também foi aplicada a fórmula do CKD-EPI. Para as variáveis numéricas, adotou-se a apresentação dos valores como média e desvio padrão (DP). Para descrever o perfil da amostra segundo as variáveis qualitativas em estudo, foi adotada a apresentação do número de indivíduos e frequência. O programa utilizado para a análise estatística foi XLSTAT® e os resultados foram obtidos através da metodologia de regressão linear. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi $p < 0,05$.

4 | CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo cumpre as normativas do Conselho Nacional de Saúde (Resolução CNS 466/2012) e da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa e foi aprovado pelo comitê de ética CAAE 17514219.5.0000.0107 sob parecer número 3.464.311.

5 | RESULTADOS

O número final de pacientes foi 614 e a idade variou entre 18 e 101 anos (média 65,8 anos e DP 58,69). Destes, 314 (51,14%) eram do sexo masculino e 300 (48,86%) do sexo feminino. Quanto à etnia, 17 (2,77%) eram negros e 597 (97,23%) eram brancos. O nível de NT-próBNP variou de 4,60 pg/mL a 167.062,00 pg/mL (média 9.034,45 pg/mL e DP 16.387,66).

Ao avaliar o perfil dos estágios de DRC dos indivíduos do estudo, foi observado o predomínio dos estágios 1 e 2, com 22% cada. Como não foi avaliado nenhum outro marcador renal, apenas a TFG, conforme a recomendação do KDOQI, somente pode-se considerar DRC os estágios 3A, 3B, 4 e 5. Desta forma, a prevalência de DRC foi de 344 pacientes, 56% dos avaliados. O detalhamento da distribuição nos estágios de DRC segundo o cálculo da TFG por CKD-EPI está demonstrado na Figura 1.

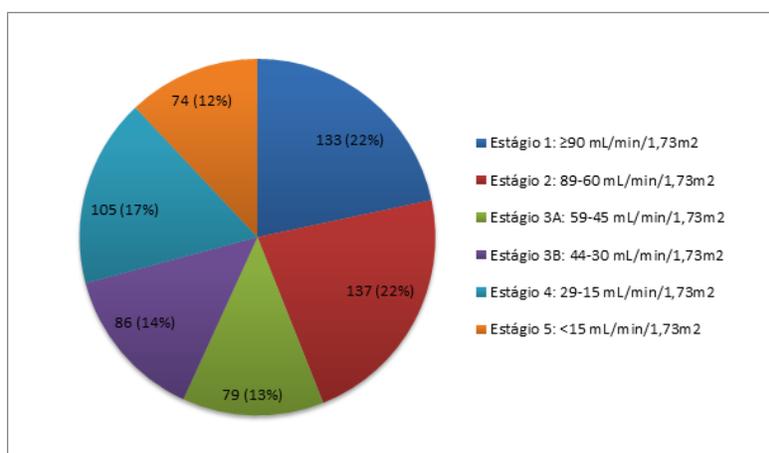


Figura 1 – Número absoluto de pacientes e frequência da distribuição nos estágios de DRC segundo o cálculo da TFG por CKD-EPI.

Fonte: o autor.

Através do programa XLSTAT® por metodologia de regressão linear, foram obtidos os resultados a seguir.

Quando relacionados os estágios de DRC com os níveis de NT-PróBNP, apenas os estágios 3B, 4 e 5 apresentaram diferença significativa (Tabela 1).

Estágios de DRC	NT-PróBNP (pg/mL)	P
Estágio 3A	5.716(9.178)	0,292
Estágio 3B	9.263(12.862)	0,002
Estágio 4	12.748(16.900)	< 0,0001
Estágio 5	21.658(26.608)	< 0,0001

Tabela 1 – Estágios de Doença Renal Crônica e diferença nos níveis da Porção N-terminal do Peptídeo Natriurético tipo B

I - As variáveis numéricas estão apresentadas em média e desvio-padrão (entre parênteses). II - Os valores de P <0,05 são considerados estatisticamente significativos.

Fonte: o autor.

Em nosso estudo, o marcador NT-PróBNP apresentou correlação direta com a TFG calculada por CKD-EPI (Figura 2).

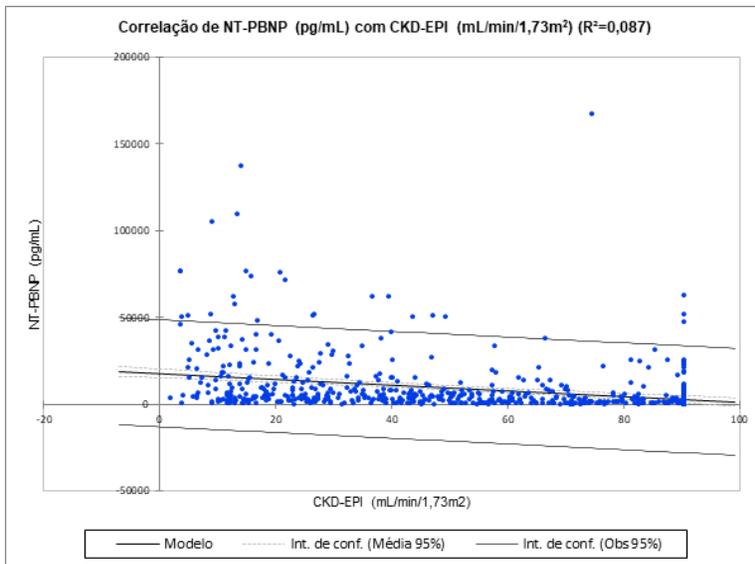


Figura 2 - Correlação de NT-PróBNP (pg/mL) com CKD-EPI (mL/min/1,73m²) através de regressão linear.

Fonte: o autor.

6 | DISCUSSÃO

Este trabalho obteve um número expressivo de 614 pacientes e uma população bem distribuída quanto ao sexo (número próximo a 50% de cada) e abrangente quanto à idade (mínimo 18 e máximo 101), resultando em uma população

representativa e heterogênea. Fatos relevantes, uma vez que para o cálculo do CKD-EPI são consideradas estas variáveis e que além de hipertensão arterial, diabetes e disparidades socioeconômicas, gênero e envelhecimento, estão relacionados ao aumento do número de casos de DRC.

Uma limitação do estudo foi o fato de apenas 2,77% dos participantes serem negros. Porém, a definição de negros usada para a fórmula, foi estabelecida nos Estados Unidos considerando indivíduos norte-americanos africanos e estes padrões raciais não são bem definidos quanto à população brasileira. Podem apenas ser usados como referência, seguindo a recomendação da Sociedade Brasileira de Nefrologia, que sugere relatar no laudo tanto o resultado para negros como o para outras etnias, ficando a critério do clínico qual considerar.

Piccolli *et al*, grupo de pesquisa em Curitiba, encontraram resultados semelhantes em relação ao fato de haver predomínio dos estágios 1 e 2, entretanto a porcentagem deles de 91,58%, foi muito superior à nossa de 44%. Mas tendo em vista que não realizamos dosagem de outro marcador de dano renal, precisamos considerar DRC a partir dos estágios seguintes. A respeito deles, este mesmo estudo encontrou predomínio do estágio 3A (7,2%), divergindo de nosso trabalho, onde o estágio 4 foi o mais expressivo, contendo 17% dos pacientes.

Em estudo realizado por Pinho *et al.*, em um hospital universitário de São Paulo, com dados coletados de 2010 a 2013 e população semelhante (adultos (≥ 18 anos), 48,49% de sexo feminino), a prevalência de DRC foi de 27,20%. Porém, este valor demasiado inferior ao encontrado em nosso estudo (56%), pode ser explicado pelo fato de no estudo citado, a metodologia de avaliação ter levado em consideração a dosagem de duas creatininas séricas presentes nos prontuários dos pacientes. Sabe-se que as alterações da creatinina não são precoces e são pouco sensíveis, havendo aumento significativo apenas com perda de aproximadamente 50% da função renal. Além disso, sofre influência de idade, sexo, estado nutricional e massa muscular. Já a TFG detecta alterações renais muito antes da dosagem isolada de creatinina, o que pode gerar esta elevação no número de casos, demonstrando a importância do uso da fórmula nas avaliações clínicas. A precocidade na detecção da DRC e o tratamento em estágios iniciais colaboram na prevenção de morbidade, melhoram a qualidade de vida dos pacientes e ainda reduzem custos em saúde.

Embora seja descrito que há aumento de NT-PróBNP em pacientes com insuficiência renal, ainda não está bem clara a relação entre o marcador e os estágios da DRC. Em nosso estudo, os estágios 3B, 4 e 5 de DRC quando relacionados os níveis de NT-PróBNP, apresentaram diferença significativa, enquanto 3A não apresentou. Entende-se que estágios iniciais de DRC ainda não são capazes de elevar os níveis de NT-PróBNP, demonstrando merecer atenção a partir do estágio 3B. Sandeep *et al.*, publicaram resultados semelhantes, onde a faixa normal de TFG (≥ 90 mL/min/1,73m²)

não foi associada ao NT-PróBNP, porém no estudo deste grupo, valores a partir de $<90 \text{ mL/min/1,73m}^2$ já tiveram aumento significativo e associação inversa, divergindo em parte de nossos resultados, que apresentaram diferença somente a partir de 3B ($44\text{-}30 \text{ mL/min/1,73m}^2$).

Analisando a TFG calculada por CKD-EPI (sem classificar por estágios e incluindo todos os pacientes) e o NT-PróBNP, encontramos correlação direta entre eles. A maioria dos estudos sugere que para valores normais de TFG não há correlação com o peptídeo. Bruch *et al.* por exemplo, também avaliaram a relação entre a TFG e os níveis de NT-PróBNP e seus resultados sugerem que faixas normais de TFG ($97 \text{ mL/min/1,73m}^2$, neste estudo) não estão associadas ao aumento de NT-PróBNP. Já em valores de TFG abaixo de $90 \text{ mL/min/1,73m}^2$, a concentração de NT-PróBNP aumentou de forma exponencial conforme a diminuição da TFG. Concluíram um efeito linear entre a função renal e os níveis de NT-PróBNP, corroborando com nossos resultados. Em outro estudo realizado no Texas, quando $<90 \text{ mL/min/1,73m}^2$, ocorreu aumento de aproximadamente duas vezes os níveis de NT-PróBNP e também foi observada uma associação inversa entre o aumento deste marcador e a TFG, assim como em nosso trabalho. Outro grupo com 213 pacientes com DRC encontrou os mesmos resultados de aumento de NT-PróBNP conforme a diminuição da TFG e ainda, demonstraram que NT-PróBNP teve maior associação com a TFG do que BNP.

A observação de que a TFG diminuída está associada ao aumento de NT-PróBNP na população em geral, pode ter implicações clínicas importantes, uma vez que o peptídeo é usado como triagem em pacientes com possível doença cardíaca. A influência do decréscimo da TFG nas concentrações de NT-PróBNP pode ser significativa no momento do diagnóstico da IC. Um estudo demonstrou que a função renal comprometida foi associada aos peptídeos mesmo na ausência de aterosclerose coronariana ou anormalidades na estrutura e função cardíaca (verificado por ressonância magnética), deixando claro que NT-PróBNP não é específico para eventos patológicos cardiovasculares.

Desta forma, nossos resultados corroboram com alguns já encontrados na literatura e agregam, uma vez que definimos os estágios em que já havia alteração. Considerando isso, é necessária atenção para pacientes com suspeita de DRC e IC. Sabe-se que cerca de 33% a 56% dos pacientes com IC tem função renal diminuída e como podemos observar, as duas enfermidades podem alterar o mesmo biomarcador. Em pacientes sem DRC, um ponto de corte de $<100\text{pg/mL}$ para BNP e $<300\text{pg/mL}$ para NT-PróBNP tem valor preditivo negativo de 99% para IC. É de se esperar que o ponto de corte seja maior em pacientes com DRC, como demonstrado na análise de pacientes com TFG $<60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ (se enquadrariam no estágio 3A, 3B, 4 ou 5), onde um ponto de corte foi descrito por McCullough *et al.*, como de 200pg/mL para BNP. Também foi observado em pacientes Chineses com ≥ 80 anos em estágio 3 de

DRC, que níveis $\geq 413,3$ pg/mL de NT-PróBNP tem risco significativamente maior de causa de morte e grandes eventos cardíacos adversos. Neste contexto, o significado clínico de NT-PróBNP como diagnóstico e prognóstico para IC em pacientes com DRC deve ser adotado com cautela e em conjunto com outros sinais e sintomas verificados no exame clínico.

7 | CONCLUSÃO

Conclui-se que na população de estudo de nosso hospital há alta prevalência de DRC e em predominância temos o estágio 4, que já é um estágio considerado de redução severa da TFG. NT-PróBNP e TFG obtiveram correlação direta, demonstrando ser auxiliar no diagnóstico de DRC e servindo de alerta para seu uso em pacientes com IC e DRC concomitantes.

REFERÊNCIAS

ABBOUD, Hanna; HENRICH William L. **Stage IV chronic kidney disease**. N Engl J Med, v. 362, n. 1, p. 56-65, 2010.

BASTOS, Marcus Gomes; KIRSZTAJN Gianna Mastroianni. **Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise**. J bras Nefrol, v. 33, n. 1, p. 93-108, 2011.

BRUCH, Chistian *et al.* **Comparison of the prognostic usefulness of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with heart failure with versus without chronic kidney disease**. Am J Cardiol, v. 102, p. 469-474, 2008.

COLLINS, Allan J *et al.* **United States Renal Data System public health surveillance of chronic kidney disease and end-stage renal disease**. Kidney Int Suppl, v. 5, n. 1, p. 2-7, 2015.

FILIPPI, Christopher *et al.* **Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide testing in renal disease**. Am J Cardiol, v. 101, p. 82-88, 2008.

FLATO, Uri Adrian Prync *et al.* **Peptídeo natriurético na emergência: quando usar?** Rev Bras Clin Med, v. 7, p. 398-405, 2009.

GAO, Peng *et al.* **Prognostic value of plasma NT-proBNP levels in very old patients with moderate renal insufficiency in China**. Z Gerontol Geriatr, v. 51, n. 8, p. 889-896, 2018.

GLASSOCK, Richard; WINEARLS, Christopher. **The global burden of chronic kidney disease: how valid are the estimates?** Nephron Clin Pract, v. 110, n. 1, p. 39-47, 2008.

KIDNEY DISEASE OUTCOME QUALITY INICIATIVE. **Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification**. Am J Kidney Dis, v. 39, n. 2, p. 1-246, 2002.

LEVEY, Andrew *et al.* **A new equation to estimate glomerular filtration rate**. Ann Intern Med, v. 150, n. 604-612, 2009.

MAGALHÃES, Janine *et al.* **O NT-PróBNP da admissão versus da alta como preditor prognóstico na insuficiência cardíaca agudamente descompensada.** Int J Cardiovasc Sci, v. 30, n. 6, p. 469-475, 2017.

MAGRO, Márcia Cristina da Silva; VATTIMO, Maria de Fátima. **Avaliação da função renal: creatinina e outros biomarcadores.** Rev bras ter intensive, v. 19, n. 2, p. 182-185, 2007.

MAISEL, Alan *et al.* **State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice.** Eur J Heart Fai, v. 10, p. 824-839, 2008.

MARINHO, Ana Wanda Guerra Barreto *et al.* **Prevalência de doença renal crônica em adultos no Brasil: revisão sistemática da literatura.** Cad Saúde Colet, v. 25, n. 3, p. 379-388, 2017.

MCCULLOUGH, Peter *et al.* **B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis from the Breathing Not Properly Multinational Study.** Am J Kidney Dis, v. 41, p. 571-579, 2003.

PARK, Ji In; BAEK, Hyunjeong; JUNG, Hae Hyuk. **Prevalence of Chronic Kidney Disease in Korea: the Korean National Health and Nutritional Examination Survey.** J Korean Med Sci, v. 31, n. 6, p. 915-923, 2016.

PICCOLLI, Ana Paula; NASCIMENTO, Marcelo Mazza; RIELLA, Miguel Carlos. **Prevalência da Doença Renal Crônica em uma população do Sul do Brasil (estudo Pro-Renal).** J Bras Nefrol, v. 39, n. 4, p. 384-390, 2017.

PINHO, Natalia Alencar; SILVA, Giovânio Vieira; PIERIN, Angela Maria Geraldo. **Prevalência e fatores associados à doença renal crônica em pacientes internados em um hospital universitário na cidade de São Paulo, SP, Brasil.** J Bras Neurol, v. 37, n. 1, p. 91-97, 2015.

SALAZAR, Jorge Andrés Gonzéles; SÁNCHEZ, Elisanny; CONTRERAS, Miguel. **Péptido Natriurético (BNP).** Med Interna (Caracas), v. 34, n. 3, p. 184-188, 2018.

SAENGER, Amy *et al.* **Specificity of B-Type Natriuretic Peptide Assays: Cross-Reactivity with Different BNP, NT-proBNP, and proBNP Peptides.** Clinical Chemistry, v. 63, n. 1, p. 351-358, 2017.

SANDEEP, R Das *et al.* **Association between renal function and circulating levels of natriuretic peptides (from the Dallas Heart Study).** Am J Cardiol, v. 102, n. 1, p. 394-398, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Biomarcadores na Nefrologia.** [periódicos na internet]. 2019. Disponível em: <https://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Passo a passo para a implantação da estimativa da Taxa de Filtração Glomerular.** 2015; ed 2.

VICKERY, Susan *et al.* **B-Type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with CKD: relationship to renal function and left ventricular hypertrophy.** Am J Kidney Dis, v. 46, p. 610-620, 2005.

CAPÍTULO 9

TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA NO FUTEBOL FEMININO DE ELITE: ANÁLISE DE MEMBROS INFERIORES EM REPOUSO DURANTE AS FASES DO CICLO MENSTRUAL

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Carlos Roberto Padovani

Universidade Estadual Paulista - Instituto de
Biotecnologia – UNESP
Botucatu – São Paulo – Brasil
<http://orcid.org/0000-0002-7719-9682>

Angélica Tamara Tuono

FEF UNICAMP
São Pedro – São Paulo – Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0762167518368367>

João Paulo Borin

FEF UNICAMP
Campinas – São Paulo – Brasil
<http://lattes.cnpq.br/4831980080200951>

Nathália Arnosti Vieira

FEF UNICAMP
Rio Claro – São Paulo – Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6134051743181776>

Vivian Paranhos

FEF UNICAMP
Valinhos – São Paulo – Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1391654533284183>

Ana Lúcia Gonçalves

FEF UNICAMP
Valinhos – São Paulo – Brasil

Renata Pelegatti

FEF UNICAMP
Valinhos – São Paulo – Brasil

Thiago Augusto do Prado

FEF UNICAMP
Valinhos – São Paulo – Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0296235506371605>

Daniel Novais Guedes

FEF UNICAMP
Campinas – São Paulo – Brasil

Mayara Rodrigues

FEF UNICAMP
Campinas – São Paulo – Brasil

RESUMO: A termografia infravermelha tem contribuído para a avaliação de funções fisiológicas de atletas em diversas modalidades, mostrando sua eficácia no entendimento de respostas orgânicas frente ao esforço. No entanto, existem poucas informações sobre o comportamento da temperatura da pele nas diferentes fases do ciclo menstrual. Sendo assim, o objetivo deste manuscrito foi analisar a temperatura da pele dos membros inferiores em repouso, de jogadoras de futebol de elite do Brasil, durante as diferentes fases do ciclo menstrual. Foram coletados 154 termogramas (FLIR®Systems EUA, E8) de membros inferiores, divididos em dominante (D) e não dominante (ND) e nas regiões de interesse (ROI's), quadríceps, tibial, isquiotibiais e panturrilhas de jogadoras de elite do futebol brasileiro (22,9 ± 4,3 anos, 1,6 ± 0,06 m, 58,3 ± 2,7 kg), que apresentavam ciclo menstrual regular e não faziam uso de contraceptivo oral. As fases do ciclo foram divididas em: folicular, ovulatória e lútea. As coletas foram feitas durante o período competitivo do Campeonato Paulista da série A1.

Os resultados indicaram: i) na fase folicular - quadríceps D ($27,5 \pm 1,1$) e ND ($27,5 \pm 1,1$); tibiais D ($28 \pm 0,7$) e ND ($28 \pm 0,8$); isquiotibiais D ($27,9 \pm 0,3$) e ND ($27,8 \pm 0,2$); bezerros D ($27,7 \pm 1,2$) e ND ($27,8 \pm 1,2$). ii) na fase ovulatória - quadríceps D ($27,3 \pm 0,2$) e ND ($27,2 \pm 0,3$); tibiais D ($28 \pm 0,6$) e ND ($27,9 \pm 0,8$); isquiotibiais D ($27,6 \pm 0,7$) e ND ($27,6 \pm 0,6$) e panturrilhas D ($27,2 \pm 1,3$) e ND ($27,2 \pm 0,9$) e, iii) na fase lútea - quadríceps D ($27,6 \pm 1,0$) e ND ($27,2 \pm 0,3$); tibiais D ($28,2 \pm 0,7$) e ND ($28 \pm 0,2$); isquiotibiais D ($27,9 \pm 0,9$) e ND ($27,9 \pm 1,1$) e panturrilhas D ($27,4 \pm 0,8$) e ND ($27,5 \pm 0,5$). Concluiu-se que a temperatura da pele dos membros inferiores em repouso, de jogadoras de elite do futebol brasileiro, mantém-se estável e simétrica durante o ciclo menstrual.

PALAVRAS-CHAVE: Temperatura da pele; futebol feminino; fisiologia do esporte; treinamento desportivo.

INFRARED THERMOGRAPHY IN WOMEN'S ELITE SOCCER: ANALYSIS OF LOWER MEMBERS AT REST DURING THE PHASES OF THE MENSTRUAL CYCLE

ABSTRACT: Infrared thermography has contributed to physiological functions evaluation in several modalities, showing its effectiveness in understanding organic responses to effort. However, there is little information on the behavior of skin temperature at different phases of the menstrual cycle. Therefore, the objective of this manuscript was to analyze the skin temperature of the lower limbs at rest of elite soccer players from Brazil, during the different phases of the menstrual cycle. 154 thermograms (FLIR®Systems EUA, E8) were collected from lower limbs, divided in dominant (D) and non-dominant (ND) and regions of interest (ROI's): quadriceps, tibial, hamstrings and calves of the Brazilian elite of soccer players (22.9 ± 4.3 years, 1.6 ± 0.06 m, 58.3 ± 2.7 kg), who had regular menstrual cycle and did not use oral contraceptives. The phases of the cycle were divided into: follicular, ovulatory and luteal. The collections were made during the competitive period of the Paulista Championship. The results indicated: i) in follicular phase - quadriceps D (27.5 ± 1.1) and ND (27.5 ± 1.1); tibial D (28.0 ± 0.7) and ND (28.0 ± 0.8); hamstrings D (27.9 ± 0.3) and ND (27.8 ± 0.2) and calves D (27.7 ± 1.2) and ND (27.8 ± 1.2). ii) in ovulatory phase: quadriceps D (27.3 ± 0.2) and ND (27.2 ± 0.3); tibial D (28.0 ± 0.6) and ND (27.9 ± 0.8); hamstrings D (27.6 ± 0.7) and ND (27.6 ± 0.6) and calves D (27.2 ± 1.3) and ND (27.2 ± 0.9) and, iii) in luteal phase - quadriceps D (27.6 ± 1.0) and ND (27.2 ± 0.3); tibialis D (28.2 ± 0.7) and ND (28.0 ± 0.2); hamstrings D (27.9 ± 0.9) and ND (27.9 ± 1.1) and calves D (27.4 ± 0.8) and ND (27.5 ± 0.5). It was concluded that the skin temperature of the lower limbs at rest, of elite Brazilian soccer players, remains stable and symmetrical during the menstrual cycle.

KEYWORDS: Skin temperature; female soccer; sport physiology; sports training.

1 | INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a termografia infravermelha tem contribuído para a

avaliação de alterações fisiológicas por meio da temperatura da pele, mostrando sua eficácia no entendimento das respostas orgânicas frente ao esforço em diversas modalidades, como o futebol, duathlon e handebol. Particularmente no futebol, as ações utilizadas durante as partidas e sessões de treinamento nessa modalidade, como saltos, mudanças de direção, acelerações e desacelerações em diferentes intensidades elevam a exigência de membros inferiores ressaltando a necessidade da compreensão das alterações provocadas nessas regiões (STØLEN et al., 2005; BEZERRA et al., 2016; CÔGO et al., 2017; CORTE et al., 2018).

Especificamente no futebol feminino, alguns trabalhos apresentam a termografia infravermelha como método a ser utilizado no controle e monitoramento do treinamento, alertando para a importância da padronização quanto à metodologia na coleta de dados e apontando para a relação entre a temperatura da pele e a prevenção de lesões articulares (STROPPA et al., 2017), o desempenho da velocidade (VIEIRA et al., 2019) e o efeito agudo de diferentes sessões de treinamento (TUONO et al., 2019). Além disso, o conhecimento acerca dos valores de referência da temperatura da pele em repouso de acordo com as particularidades da modalidade e do atleta, torna-se essencial para a interpretação das possíveis alterações provocadas por uma sessão de treino ou competição (TUONO et al., 2020).

Destacadamente nas mulheres nota-se um aumento dos estudos relacionados ao funcionamento do corpo humano em relação à prática esportiva e informações quanto ao ciclo menstrual têm se mostrado interessante para a compreensão do desempenho feminino em diferentes capacidades biomotoras (RIBEIRO; PADOVANI; BORIN, 2020), uma vez que este processo promove alterações hormonais que podem influenciar nas respostas corporais frente ao exercício físico (LEBRUN; RUMBALL, 2001).

Nesse sentido, torna-se relevante o monitoramento do ciclo menstrual e das possíveis influências de suas diferentes fases no desempenho (JULIAN et al., 2017; NEIS; PIZZI, 2018). No entanto, existem poucas informações sobre o comportamento da temperatura da pele nas diferentes fases do ciclo menstrual em repouso, o que pode deixar lacunas a respeito da análise e interpretação dos dados e conseqüentemente da utilização das informações obtidas no controle e monitoramento do treinamento em atletas de futebol.

2 | OBJETIVO

O objetivo desse manuscrito foi analisar a temperatura da pele dos membros inferiores, em repouso, de jogadoras de futebol de elite do Brasil, durante as diferentes fases do ciclo menstrual.

3 | METODOLOGIA

Foram coletados 154 termogramas (câmera FLIR® Systems EUA, modelo E8) dos membros inferiores de 18 atletas profissionais da elite do futebol brasileiro ($22,9 \pm 4,3$ anos, $160 \pm 0,6$ cm, $58,3 \pm 2,7$ kg) que apresentavam ciclo menstrual regular (28 a 32 dias) e não faziam uso de anticoncepcionais orais. As fases foram divididas em: folicular (8 ± 2 dias), ovulatória (4 ± 1 dia) e lútea (16 ± 1 dia).

As atletas treinavam em média oito sessões por semana, com duração média de 90 minutos, iniciando os trabalhos com exercícios de alongamento e aquecimento muscular geral e, a seguir, era executada a sessão de treinamento programada pela comissão técnica.

Quanto às questões éticas, após serem esclarecidas as finalidades da pesquisa e os procedimentos às atletas seriam submetidas, todas assinaram termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade envolvida, sob protocolo número CAEE: 00348818.1.0000.5404.

As coletas dos termogramas ocorram durante dois ciclos menstruais, no período competitivo do Campeonato Paulista, seguindo protocolo proposto por Pinto (2018), antes do início da sessão de treinamento e estavam sem realizar exercício físico nas 24 horas precedentes à captura das imagens.

Após a coleta, os dados foram separados em membros dominante (D) e não dominante (ND) e quanto às fases do ciclo menstrual (folicular, ovulatória e lútea). A seguir foi realizada a análise por meio do software específico FlirTools® compreendendo as regiões musculares de interesse (ROI's) no plano anterior (quadríceps e tibiais) e posterior (isquiotibiais e panturrilhas) conforme ilustrado na Figura 1.

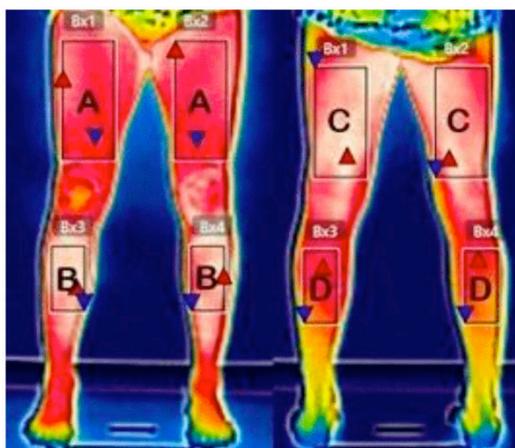


Figura 1. Regiões de interesse (ROI's): A – Quadríceps; B – Tibial; C – Isquiotibial; D – Panturrilha.

Quanto aos procedimentos estatísticos, no âmbito descritivo utilizou-se a média e desvio-padrão como parâmetros de centralidade e dispersão, e no inferencial, verificou-se a normalidade dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk, e a seguir, o teste “Anova” One-Way para medidas repetidas, para comparar as variáveis segundo os momentos de avaliação. O nível de significância adotado foi de 5% (PADOVANI, 2001).

4 | RESULTADOS

A partir dos dados coletados os resultados dos valores das regiões analisadas são apresentados na tabela 1, quanto à média e desvio-padrão, segundo dominância e fases do ciclo menstrual.

ROI's	Fase Folicular			Fase Ovulatória			Fase Lútea		
	D	ND	Simetria	D	ND	Simetria	D	ND	Simetria
Quadríceps	27,5(1,1)	27,5(1,1)	0,0	27,3(0,2)	27,2(0,3)	0,1	27,6(1,0)	27,2(0,3)	0,4
Tibiais	28,0(0,7)	28,0(0,8)	0,0	28,0(0,6)	27,9(0,8)	0,1	28,2(0,7)	28,0(0,2)	0,2
Posteriores	27,9(0,3)	27,8(0,2)	0,1	27,6(0,7)	27,2(1,3)	0,4	27,9(0,9)	27,9(1,1)	0,0
Panturrilhas	27,7(1,2)	27,8(1,2)	0,1	27,2(1,3)	27,2(0,9)	0,0	27,4(0,8)	27,5(0,5)	0,1

Tabela 1: Média e desvio padrão da temperatura em graus Celsius (°C) das ROI's analisadas segundo dominância e fases do ciclo menstrual.

*p<0,05.

Particularmente quanto à temperatura das ROI's, nota-se que as atletas apresentam valores entre $27,2 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ e $28,2 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$. Corroborando com esses dados, Tuono et al. (2020) apresentam o perfil termográfico em repouso, de membros inferiores de atletas da elite do futebol brasileiro, com temperaturas que variam entre $27,7 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$ e $28,3 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$.

Quanto à temperatura da pele de acordo com as diferentes fases do ciclo menstrual, nota-se proximidade de valores independente da região analisada, com valores médios de $27,7^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (D) e $27,7^{\circ}\text{C} \pm 0,2$ (ND) na fase folicular, $27,5^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (D) e $27,3^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (ND) na fase ovulatória e, por fim, $27,7^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (D) e $27,6^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (ND) na fase lútea.

Quanto a simetria entre membros D e ND, apesar dos posteriores na fase ovulatória e quadríceps na fase lútea apresentarem escores de $0,4^{\circ}\text{C}$, há um consenso na literatura (MARINS et al., 2015; TANDA, 2015; KORMAN et al., 2016; SANTOS et al., 2017; CORTE, et al., 2018) que valores de simetria até $0,3^{\circ}\text{C}$ situam

em normalidade e não são considerados clinicamente importantes, enquanto que valores acima de 0,4°C alertam para um acompanhamento mais refinado, podendo ser um indicador de lesão ou sobrecarga.

De fato, entender o estado do atleta em repouso é fundamental, visto que há uma relação direta com o tempo de descanso e a carga de treinamento aplicada.

5 | CONCLUSÕES

A partir dos objetivos propostos e os resultados obtidos concluiu-se que a temperatura da pele dos membros inferiores, em repouso, de jogadoras de futebol de elite do Brasil durante o ciclo menstrual, mantém-se em proximidade de valores e simetria.

REFERÊNCIAS

BEZERRA, J. A.; FARIAS, N. O.; MELO, S. V.; SILVA, R. P. M.; CASTRO, A. C. M.; MARTINS, F. S. B.; SANTOS, J. A. R. Respostas de indicadores fisiológicos a um jogo de futebol. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 22, n. 3, p. 200-205, 2016.

CÔGO, W. T.; NOGUEIRA, P. H. R.; DA SILVA, A. G.; MARINS, J. C. B. Perfil térmico de membros inferiores de jogadores de futebol de categoria de base. **Revista Brasileira de Futebol**, vol. 10, n. 2, p. 4-24, 2017.

CORTE, A. C.; PEDRINELLI, A.; MARTTOS, A.; SOUZA, I. F. G.; GRAVA, J. HERNANDEZ, A. J. Infrared thermography study as a complementary method of screening and prevention of muscle injuries: pilot study. **BMJ Open Sport & Exercise Medicine**, vol. 5, p. 1-5, 2018.

JULIAN R.; HECSTEDEN A.; FULLAGAR, H. H. K.; MEYER, T. The effects of menstrual cycle phase on physical performance in female soccer players. **Plos One**, vol. 12, n. 3, 2017.

KORMAN, P.; STRABURZYNSKA-LUPA, A.; KUSY, K.; KANTANISTA, A.; ZIELINSKI, J. Changes in body surface temperature during speed endurance work-out in highly-trained male sprinters. **Infrared Physics & Technology**, vol. 78, p. 209-213, 2016.

LEBRUN, C. M.; RUMBALL, J. S. Relationship between athletic performance and menstrual cycle. **Curr Womens Health Rep**. vol. 1, n. 3, p. 232-240, 2001.

MARINS, J.C.B.; FERNANDEZ-CUEVAS, I.; ARNAIZ-LASTRAS, J.; FERNANDES, A.A.; SILLERO-QUINTANA, M. Applications of Infrared Thermography in Sports: A Review. **Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y el Deporte**, vol. 15, p. 805-824, 2015.

NEIS, C.; PIZZI, J. Influências do ciclo menstrual na performance de atletas: revisão de literatura. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, vol. 22, n. 2, p. 123-128, 2018.

PADOVANI, C. R. Noções Básicas de Estatística. In: CAMPANA, A. O.; PADOVANI, C. R.; IARIA, C. T. **Investigação científica na área médica**. São Paulo: Manole, 2001. p. 239-245.

PINTO, T. W. S.; GUIMARÃES, A. S. P.; BARRETO, T. C.; SANTA CRUZ, R. A. R. Alterações termográficas na musculatura abdominal após exercício estático e dinâmico em jovens ativas. **Revista Perspectiva: Ciência e Saúde**, vol. 3, n. 1; p. 11-19, 2018.

RIBEIRO, I, C.; PADOVANI, C. R.; BORIN, J. P. O ciclo menstrual tem influência sob a flexibilidade de mulheres treinadas e sedentárias? **Conexões**, vol. 18, e020007. <https://doi.org/10.20396/conex.v18i0.8658024>.

SANTOS, R.M.C; SOUZA, E.S; SILVA, S.J.; ARRUDA, J.R.L.; SANTA CRUZ, R.A.R. Análise termográfica dos esforços no futsal. **Coleção Pesquisa em Educação Física**, vol. 16, n. 1, p. 15-22, 2017.

STØLEN, T.; CHAMARI, K.; CASTAGNA, C.; WISLØFF, U. Physiology of soccer: An update. **Sports Medicine**, vol. 35, n. 6, p. 501-536, 2005.

STROPPA, G. M.; DA SILVA, A. G.; MOREIRA, D. G.; CERQUEIRA, M. S.; FERNANDES, A. A.; BOUZAS, J C. M. Análise da temperatura da pele em joelhos de jogadoras de futebol profissional. **Revista Brasileira de Futebol**, vol. 8, n. 2, p.36-42, 2017.

TANDA, G. The use of infrared thermography to detect the skin temperature response to physical activity. **Journal of Physics: Conference Series**, vol. 655, p. 1-10, 2015.

TUONO, A. T.; PINHEIRO, A. M.; VIEIRA, N. A.; GONÇALVES, A. L.; PELEGATTI, R.; BORIN, J. P. Termografia infravermelha em atletas de elite: análise de membros inferiores em repouso. In: MATTOS, S. M. **Educação física e áreas de estudo do movimento humano 4**. Paraná: Atena, 2020. p. 66-72.

TUONO, A. T.; VIEIRA, N. A.; PARANHOS, V.; GONÇALVES, A. L.; PELEGATTI, R.; BORIN, J. P. Efeito agudo de treino técnico tático na temperatura da pele em atletas de futebol feminino: relação entre defesa e ataque. In: **Anais do 31º Congresso Brasileiro de Medicina do Exercício e do Esporte**, vol. 25, n. 5, 2019.

VIEIRA, N. A.; REZENDE, T. M.; PINHEIRO, A. M.; TUONO, A. T.; HARTZ, C. S.; BORIN, S. H.; PADOVANI, C. R.; BORIN, J. P. Relation between performance of the displacement speed and body temperature in elite athletes of Brazilian's female soccer. In: **Anais do 24º Annual Congress of the European College of Sport Science**, 2019.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA ASSOCIADA À CRONOBIOLOGIA EM TRABALHADORES DE TURNO DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DOS CAMPOS GERAIS

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 30/06/2020

Bruna Heloysa Alves

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/7601383721288387>

Felício de Freitas Netto

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1671468480841732>

Mariane Marcelino Fernandes

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5527268156633153>

Ana Letícia Grigol Dias

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1710918760414036>

Fabiana Postiglione Mansani

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0240004789714970>

RESUMO: Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do cronotipo e do turno na qualidade de vida de trabalhadores da enfermagem em um Hospital Universitário dos Campos Gerais. **Métodos:** Utilizou-se no estudo uma comparação quantitativa e transversal entre 36 indivíduos que trabalhavam em turnos na unidade de clínica médica de internação de

adultos. O cronotipo foi determinado através do Questionário de Maturidade – Vespertinidade de Horne e Ostberg e a qualidade de vida avaliada pelo WHOQOL – bref. **Resultados:** Metade da amostra foi classificada no cronotipo intermediário, 33,33% em matutino e o restante em vespertino, sendo 5,55% do total discordante de seu turno. Não houve associação entre cronotipo e qualidade de vida ($p > 0,05$), entretanto foi verificada uma associação positiva entre o domínio físico e o turno e entre cinco dos quatro domínios do WHOQOL e os cronotipos concordantes ($p < 0,05$). **Conclusões:** O estudo demonstrou que a concordância entre o cronotipo com o turno pode ser considerada um fator protetor na qualidade de vida da amostra estudada.

PALAVRAS CHAVE: Cronobiologia; Qualidade de vida; Saúde do trabalhador; Ritmo circadiano.

EVALUATION OF THE QUALITY OF LIFE ASSOCIATED WITH CHRONOBIOLOGY IN SHIFT WORKERS AT A UNIVERSITY HOSPITAL IN CAMPOS GERAIS

ABSTRACT: Objective: The objective of this study was to evaluate the influence of chronotype and shift on quality of life of nursing workers in a University Hospital of Campos Gerais. **Methods:** In this study, was used a quantitative and cross-sectional comparison of 36 individuals who work in shifts at the adult medical clinic. The chronotype was determined with the Horne and Ostberg's Questionnaire and the quality of life assessed by the WHOQOL - bref. **Results:** Fifty percent of the sample was classified as intermediate chronotype, 33.33% was considered as matutinal

and the rest as vespertine, being 5.55% of the total discordant compared to the turn. There was no association between chronotype and quality of life ($p > 0,05$). However, there was found a positive association between the physical domain and the shift and between five of the four WHOQOL domains and concordant chronotypes ($p < 0,05$).

Conclusions: The study demonstrated that the agreement between the chronotype and the shift can be considered a protective factor in the quality of life of the sample studied.

KEYWORDS: Chronobiology; Quality of life; Worker's health; Circadian rhythm.

1 | INTRODUÇÃO

A cronobiologia é uma área da neurociências que estuda os ritmos circadianos e sua interferência na vida dos seres vivos. Sua origem encontra-se a partir da percepção de um mecanismo interno gerador de ritmo, concebida no século XVIII através da observação da planta *Mimosa pudica*, o que levantou uma série de estudos a fim de esclarecer se os seres humanos também sofriam interferência do ambiente (ARAUJO, 2002; BUENO, 2012; GÓMEZ, 2013. MARTYNHAK, 2012; PEREIRA, 2012)

Os núcleos supraquiasmáticos (NSQs) são os responsáveis pelo gerenciamento do ciclo circadiano dos mamíferos. Eles ficam localizados no hipotálamo e começam a se desenvolver no primeiro bimestre gestacional, quando se encontram sob influência do ciclo materno (BUENO, 2012; JANSEN, 2007). Esses núcleos de neurônios determinam o ritmo biológico dos indivíduos, sendo popularmente conhecidos como “relógios biológicos”, além disso, comunicam-se com a retina através de aferências do trato retino-hipotalâmico, pelas quais consegue diferenciar claro de escuro (ARAUJO, 2002; BUENO, 2012; JANSEN, 2007; PEREIRA, 2012). Através desses núcleos algumas glândulas recebem estímulos secretores, com liberação de melatonina em situações de pouca luminosidade e cortisol, à claridade (GÓMEZ, 2013; PEREIRA, 2012).

Através da cronobiologia e dos estudos de Horne e Ostberg é possível classificar os seres humanos em três cronotipos distintos: matutinos, vespertinos e indiferentes. O controlador endógeno dos indivíduos matutinos possui um período menor ou igual à 24 horas, enquanto os vespertinos costumam ter um período circadiano maior do que as 24 horas do dia comum (JANSEN, 2007; PEREIRA, 2012). Apesar do controle endógeno, esse sistema temporizador pode sofrer modificações de acordo com os padrões da vida cotidiana do indivíduo, como o próprio ciclo claro/escuro, privação de sono, hábitos sociais da vida moderna (televisão, celular), trabalho em turnos, além de variações hormonais e alterações estruturais relacionadas à idade (BUENO, 2012; PEREIRA, 2012).

Alguns estudos têm colaborado para a percepção do impacto negativo na saúde

dos indivíduos que possuem uma vida profissional ou social não concordante com seu ciclo biológico, destacando-se trabalhadores noturnos ou em regime de turno. Muitos destes encontram-se em privação de sono, favorecendo sonolência diurna intensa e déficits de atenção, além de aumentar o risco de síndrome metabólica, doenças cardiovasculares e oncogênicas (ALVES, 2015; GÓMEZ 2013; FREITAS, 2018; ROCHA, 2010; SIMÕES, 2010). As mulheres nessa situação de trabalho possuem um risco adicional de problemas ginecológico-obstétricos, além de estarem mais susceptíveis aos distúrbios psicológicos, como depressão e ansiedade (PEREIRA, 2012).

Trabalhadores da área da saúde são um claro grupo de risco quando se trata de trabalho em turnos, com destaque à enfermagem, profissão que demanda atenção contínua 24 horas por dia (ROCHA, 2010). Esses profissionais muitas vezes se encontraram num período que não lhes é favorável, o que promove diversas adaptações biológicas e psicológicas a fim de realizar seu trabalho de forma adequada. As consequências dessas modificações podem ser observadas na saúde física e mental do trabalhador, que poderá sofrer impactos significativos em sua qualidade de vida (ROCHA, 2010; SOUZA, 2012; XAVIER, 2012).

Possibilitar a elaboração de escalas que respeitem os cronotipos dos trabalhadores de enfermagem é interessante tanto para o indivíduo quanto para o empregador, visto que evita acidentes laborais por privação de sono e afastamento por doenças, bem como aumenta a qualidade no atendimento de saúde. Entretanto, essa realidade encontra limitações quando os profissionais desempenham dupla carga de trabalho (XAVIER, 2012). Os resultados deste estudo podem ser relevantes para a melhor alocação dos funcionários.

Considerando a falta de estudos sobre o tema e a importância de se evitar acidentes de trabalho da área de saúde, este trabalho teve como objetivo a análise do perfil cronobiológico da equipe de enfermagem responsável pela clínica médica do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG), a fim de correlacionar o cronotipo com a qualidade de vida dos indivíduos estudados. A hipótese é que indivíduos concordantes com seu perfil biológico apresentem maiores níveis de qualidade de vida quando comparados com os discordantes.

2 | METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada através de um estudo quantitativo, transversal e comparativo. Foi desenvolvido através de questionários autoaplicáveis para a equipe de enfermagem do setor da clínica médica do HURCG.

O setor analisado possui uma população de 36 indivíduos, incluindo enfermeiros e técnicos de enfermagem, que trabalham no regime 12/24, ou seja, trabalham 12

horas seguidas e folgam nas 24 horas seguintes.

Os critérios de inclusão foram trabalhadores ativos durante a pesquisa que aceitaram participar do estudo e em regime fixo de trabalho (matutino ou noturno). Os critérios de exclusão foram indivíduos ausentes durante a coleta ou que não responderam adequadamente os questionários. A amostra final foi totalizada em 36 indivíduos, entre enfermeiros e técnicos de enfermagem.

Os questionários foram aplicados pelos pesquisadores no ano de 2019, os quais acompanharam a coleta e forneceram as orientações necessárias para o preenchimento. O primeiro questionário era referente aos dados socioeconômicos, determinando a idade, sexo, turno, peso, altura e salário dos participantes.

Para a análise do cronotipo, a escolha foi pelo questionário de Maturnidade - Vespertinidade de Horne e Ostberg já validado no Brasil e composto por 19 questões a respeito dos hábitos de vida e de sono, bem como os horários mais prováveis em que o indivíduo prefere realizar determinadas atividades diárias. A somatória das respostas varia entre 16 e 86 pontos de acordo com o qual os indivíduos podem ser classificados em matutinos (acima de 59 pontos), vespertinos (de 16 à 41 pontos) ou indiferentes (42 à 58 pontos).

Por matutinos entende-se indivíduos que costumam acordar por volta das 7 da manhã e dormem antes das 23 horas, representando de 10 a 12% da população. Os vespertinos são aqueles que acordam entre 12 e 14 horas e dormem em torno de 3 da manhã, são de 8 a 10% da população. Os indivíduos indiferentes ou intermediários são aqueles que conseguem se adaptar aos dois horários, enquadrando a maioria da população (MARTINS, 2010).

A qualidade de vida foi avaliada pelo questionário WHOQOL-bref. Esse questionário é a versão abreviada do WHOQOL-100 que foi desenvolvida para suprir a necessidade de se ter um instrumento curto e de rápida aplicação, cuja versão final ficou composta por 26 questões (FLECK, 2000). A primeira questão avalia a qualidade de vida de modo geral, enquanto a segunda, a satisfação com a própria saúde (THE WHOQOL GROUP, 1997). As outras 24 questões estão divididas nos domínios físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente (FLECK). Esse instrumento pode ser utilizado para populações saudáveis e para populações acometidas por agravos e doenças crônicas (FLECK, 2000; GONÇALVES, 2004). Além disso, pode avaliar a qualidade de vida em diversos grupos e situações, pois além dos aspectos transculturais, valorizam a percepção individual da pessoa (THE WHOQOL GROUP, 1997). A versão em português apresentou características psicométricas satisfatórias, sendo que foi realizada segundo metodologia preconizada pelo Centro WHOQOL para o Brasil (FLECK, 2000). A pontuação dos escores é dada de 4 à 20 e pode ser convertida de 0 a 100, sendo que quanto maior, melhor a avaliação da qualidade de vida.

A partir dos questionários foram definidas as variáveis do estudo, as quais incluem o perfil cronobiológico, a qualidade de vida e o turno de trabalho. Para a análise dos mesmos, definiram-se os indivíduos concordantes – matutinos que trabalham de dia ou vespertinos que trabalham à noite- e os discordantes – matutinos que trabalham à noite ou vespertinos que trabalham de dia.

Para análise de dados, foram utilizados frequências absolutas e relativas para análise socioeconômica e os testes t de Student e o ANOVA através do programa SPSS Statistics 22 e de uma planilha do Microsoft Office Excel para Windows 2010, utilizando o nível de significância de 5%.

Os indivíduos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), no qual possui os objetivos da pesquisa e garante a confidencialidade dos dados, fornecido através da aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, sob nº 10471819.3.0000.0105.

3 | RESULTADOS

A população estudada foi composta por 36 enfermeiros e técnicos de enfermagem que trabalham em um dos turnos da clínica médica do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG). Dentre as características dessa amostra, foi possível analisar que a menor idade entre os participantes foi de 22 anos, enquanto a maior foi de 51 anos, encontrando-se uma média de 36,1 anos (DP = 7,39), sendo 31 mulheres e 5 homens. Em relação à renda familiar mensal *per capita*, foram relatados valores de R\$ 500,00 até R\$ 7000,00, obtendo-se uma média de 1994,30 reais (DP 1243,04) e uma mediana de 1500 reais.

Variáveis	Total	
	n	(%)
Idade em anos		
Até 36	19	52,77%
37 ou mais	17	47,22%
Gênero		
Feminino	31	86,12%
Masculino	5	13,88%
Raça		
Pardos/negros	11	30,55%
Branca	25	69,44%
Estado civil		
Solteiro	19	52,77%
Casado/vivendo como casado	17	47,22%
Praticante de alguma religião¹		
Não	7	19,44%
Sim	29	80,55%
Turno de trabalho		
Dia	23	63,88%
Noite	13	36,11%
Renda familiar mensal <i>per capita</i> em reais²		
Até um salário mínimo	2	5,55%
Mais de um salário mínimo	28	77,77%
IMC³		
Normal	10	27,77%
Sobrepeso	16	44,44%
Obesidade	9	25%
¹Católica, evangélica, espírita, outras (ateísmo e budismo).		
²O valor em território nacional (Brasil) em 2019 era de R\$ 998,00 ou US\$243,42.		
³De acordo com a classificação definida pela OMS.		
Os valores totais apresentam pequena variação devido a informações faltantes.		

Tabela 1. Distribuição da equipe de enfermagem segundo variáveis socioeconômicas ($n = 36$).

A Tabela 1 caracteriza a população de acordo com as variáveis socioeconômicas abordadas na pesquisa. Na variável idade, foi delimitada a média, citada anteriormente, como parâmetro de divisão da população, tornando-se possível observar que 52,77% dos trabalhadores possuem idade até 36 anos. Também

analisou-se que a maioria dos participantes são mulheres, da cor branca, solteiras, trabalhadoras do período diurno e praticantes de alguma religião. Na variável renda *per capita*, o salário mínimo nacional foi escolhido a fim de caracterizar a amostra, sendo que a maioria (77,77%) encontra-se acima o padrão definido. Para quantificar o Índice de Massa Corporal (IMC) da população, foram utilizados os parâmetros numéricos determinados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo observado que a maioria encontra-se na faixa de sobrepeso.

A Tabela 2 evidencia a distribuição da equipe de enfermagem de acordo com seu perfil cronobiológico proposto por Horne e Ostberg, mostrando que 50% dos participantes da pesquisa encontram-se no perfil “Intermediário” ou “Indiferente”. A outra metade da amostra fica dividida entre os perfis “Matutino” e “Vespertino”, sendo que o primeiro representa 33,33% do total.

De acordo com a distribuição em seus respectivos plantões (diurno ou noturno) e seu tipo cronobiológico, foi possível classificar a amostra em Concordantes ou Discordantes. Os enquadrados na situação de concordância representam a maioria da amostra e a totalidade dos trabalhadores de cronotipo matutino.

Variáveis	Total	
	n	(%)
Matutinos		
Concordantes	12	33,33%
Discordantes	0	0%
TOTAL	12	33,33%
Vespertinos		
Concordantes	4	11,11%
Discordantes	2	5,55%
TOTAL	6	16,66%
Indiferentes	18	50%

Tabela 2. Cronotipo de acordo com Horne e Ostberg e perfil de concordância com o turno ($n = 36$).

Como resultado, observamos na Tabela 3 que não houve diferenças significativas dependente do turno nos domínios físico ($p = 0,87$), psicológico ($p = 0,065$), de relações sociais ($p = 0,073$), meio ambiente ($p = 0,21$) ou na auto avaliação sobre qualidade de vida ($p = 0,064$), bem como na score geral do WHOQOL – bref ($p = 0,17$).

Domínios WHQOL-b	Manhã n = 23	Noite n = 13	Valor de p
Físico	15,52 (DP = 2,37)	15,64 (DP = 1,87)	0,87
Psicológico	14,31 (DP = 3,08)	15,94 (DP = 1,93)	0,065
Relações Sociais	14,34 (DP = 3,08)	16,10 (DP = 1,92)	0,073
Meio Ambiente	13,43 (DP = 2,52)	14,26 (DP = 1,31)	0,21
Auto avaliação da QV	13,91 (DP = 3,48)	15,84 (DP = 2,51)	0,064
GERAL	14,31 (DP = 2,27)	15,28 (DP = 1,33)	0,17

Tabela 3. Análise das médias do WHOQOL – breve conforme turno de trabalho.

A partir da Tabela 4, fica evidente que os sujeitos categorizados no cronotipo matutino apresentam maiores escores no domínio físico ($p = 0,045$), não houve, no entanto, associação significativa entre cronotipo e os outros domínios – psicológico ($p = 0,635$), relações sociais ($p = 0,438$), meio ambiente ($p = 0,541$), auto avaliação da qualidade de vida ($p = 0,643$) ou geral ($p = 0,493$).

Domínios WHQOL-b	Matutino n = 12	Vespertino n = 6	Indiferentes n = 18	Valor de p
Físico	16,47 (DP = 1,86)	13,89 (DP = 3,47)	15,78 (DP = 1,78)	0,045
Psicológico	15,45 (DP = 2,73)	14,11 (DP = 3,47)	14,92 (DP = 2,82)	0,635
Relações Sociais	14,44 (DP = 2,65)	14,22 (DP = 4,27)	15,61 (DP = 2,32)	0,438
Meio Ambiente	14,04 (DP = 1,98)	14,33 (DP = 2,08)	13,5 (DP = 2,4)	0,541
Auto avaliação da QV	15,33 (DP = 2,87)	14 (DP = 4)	14,52 (DP = 3,38)	0,643
GERAL	15,18 (DP = 1,93)	14,02 (DP = 2,94)	14,72 (DP = 1,89)	0,493

Tabela 4. Análise das médias do WHOQOL – breve conforme cronotipo.

Por fim, foi testada a hipótese de que trabalhadores em situação concordante com seu turno de trabalho apresentariam maiores níveis de qualidade de vida, essa análise, apresentada na Tabela 5, mostrou-se significativa em todos os domínios do questionário WHOQOL – brief, exceto meio ambiente ($p = 0,066$) Portanto, os indivíduos

concordantes apresentam maiores scores no quesito físico ($p = 0,001$), psicológico ($p = 0,007$), de relações sociais ($p = 0,033$), na auto avaliação da qualidade de vida ($p = 0,003$) e no score geral ($p = 0,002$).

Domínios WHQOL-b	Concordante n = 16	Discordante n = 2	Valor de p
Físico	16,25 (DP = 1,88)	10,28 (DP = 3,23)	0,001
Psicológico	15,57 (DP = 2,51)	10 (DP = 0,94)	0,007
Relações Sociais	14,91 (DP = 2,80)	10 (DP = 2,82)	0,033
Meio Ambiente	14,43 (DP = 1,85)	11,75 (DP = 1,06)	0,066
Auto avaliação da QV	15,62 (DP = 2,55)	9 (DP = 1,41)	0,003
GERAL	15,32 (DP = 1,79)	10,52 (DP = 0,76)	0,002

Tabela 5. Análise das médias do WHOQOL- bref e perfil de concordância com o turno.

4 | DISCUSSÃO

Os resultados demonstram uma predominância de mulheres na área da enfermagem, corroborando com os achados na literatura. De acordo com Souza *et al*, 2014 e Lombardi *et al*, 2018, essa realidade se justifica numa crença patriarcal de que mulheres possuiriam vocação para cargos que envolvam cuidados, sejam eles remunerados ou em seus ambientes domiciliares, mostrando a tendência à dupla carga de trabalho ao qual são submetidas (LOMBARDI, 2018; SOUZA, 2014). Ainda que não tenha sido feita análise da qualidade de vida comparada com o gênero, acredita-se que a mulher possa sofrer maiores impactos negativos devido às suas maiores obrigações domésticas, além do encargo profissional.

O alto índice de indivíduos com obesidade e sobrepeso encontrados na amostra, podem ser justificados pela alteração do ritmo biológico como fator de risco. De acordo com Gomez *et al*, 2013, Freitas *et al*, 2018 e Kanikowska *et al*, 2015, evidências têm demonstrado que o ritmo cronobiológico interno tem relações com secreção hormonal, desta forma, um desajuste nesse relógio interno, como um perfil de trabalho discordante, pode contribuir com o aumento de distúrbios metabólicos e obesidade (FREITAS, 2018; (GÓMEZ, 2013; KANIKOWSKA, 2015).

Na literatura, é possível encontrar que a maioria da população é caracterizada pelo cronotipo indiferente ou intermediário (ALVES, 2015; MARTINS, 2010; SOUZA, 2012) assim como no presente trabalho, no qual 50% da amostra foi classificada neste

cronotipo. A ausência de significância na comparação da qualidade de vida entre os indivíduos indiferentes é compatível com os estudos de Souza *et al*, 2012, e pode ser explicada pela maior capacidade de adaptação de suas atividades (FREITAS, 2018).

Os trabalhadores de cronotipo vespertino apresentaram as piores médias no domínio físico ($p = 0,045$), assim como no trabalho de Souza *et al*, 2012 ($p = 0,003$), que representa dores, energia, qualidade de sono, deslocamento, trabalho e dependência de tratamento médico. Apesar de não ter sido feito nenhum estudo a respeito das comorbidades físicas da amostra, este resultado corrobora com os achados da literatura, que aponta maiores desdobramentos na saúde de profissionais que trabalham no plantão noturno, principalmente em relação às mulheres e suas responsabilidades que continuam após o turno (SOUZA, 2012; PEREIRA, 2012; XAVIER, 2012). Entretanto, este resultado deve ser analisado com cautela devido à multicausalidade das doenças crônicas que levam à um pior desempenho físico.

Os representantes matutinos ($n = 12$) foram na sua totalidade caracterizados como cronoconcordantes, enquanto 2 dos 4 indivíduos vespertinos apresentam-se em situação cronodiscordante. Essa situação é semelhante em estudos encontrados, o que demanda uma maior atenção para os trabalhadores de plantões noturnos (SOUZA, 2012).

Na comparação entre a qualidade de vida dos perfis concordantes e discordantes, mostrou-se que os primeiros apresentam níveis mais elevados em quase todos os critérios do WHOQOL – bref ($p < 0,05$), incluindo os perfis físico, psicológico, de relações sociais, na auto avaliação da qualidade de vida e no geral, excetuando-se apenas o meio ambiente. Através desse resultado, verifica-se que os profissionais em situação cronodiscordante apresentam prejuízos físicos, psicológicos e nas relações sociais.

Os resultados da associação entre cronotipo e qualidade de vida são diferentes do estudo de Souza *et al*, 2012, o qual representa o único estudo na literatura que compara cronotipo e qualidade de vida. No estudo citado, a amostra estudada apresentou associação significativa entre meio ambiente cronodiscordância, e ausência de relação entre perfil cronobiológico e os outros domínios estudados.

5 | CONCLUSÃO

Conclui-se que houve associação significativa entre cronotipo e qualidade de vida, podendo-se inferir que exista uma proteção nos domínios avaliados em profissionais que se encontram em um turno concordante com seu perfil cronobiológico. Não houve, no entanto, correlação entre qualidade de vida e turno de trabalho isoladamente, mostrando que aspectos do ambiente do trabalho não são responsáveis por um pior desempenho dos profissionais.

Os resultados deste estudo são relevantes para que os serviços de saúde manejem seus profissionais de acordo com seus perfis de concordância cronobiológica, a fim de evitar desdobramentos negativos na saúde física e psíquica dos mesmos.

O presente artigo respondeu significativamente aos seus objetivos, o que incentiva a realização de mais estudos sobre o tema, de forma longitudinal, multicêntrico e possivelmente realizando um coorte com uma amostra maior. Também encontra limitações ao se utilizarem questionários autoaplicáveis, ficando o resultado dependente do correto preenchimento das perguntas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, V. M. et al. **Suicidal ideation and chronotype assessment in nurses and police officers**. MedicalExpress (São Paulo, online). São Paulo, v. 2, n. 3, M150305. 2015.
- ARAÚJO, J. F.; MARQUES, N. **Cronobiologia: uma multidisciplinaridade necessária**. São Paulo: Margem: 95-112 p. 2002.
- SOUZA, S. B. **Influência do turno de trabalho e cronotipo na qualidade de vida dos trabalhadores de enfermagem**. Porto Alegre. Rev. Gaúcha de Enferm. v.33, n. 4, p. 79-85. 2012.
- BUENO, C.; WEY, D. **Gênese e ontogênese do ritmo de sono/ vigília em humanos**. São Paulo: Rev. da Biologia: 62-67 p. 2012.
- FLECK M.P.A.; LOUZARDA S.; XAVIER M.; CHACHAMOVICH E.; VIEIRA G.; SANTOS L.; et al. **Aplicação da versão em português do instrumento abreviado de avaliação da qualidade de vida “WHOQOL-bref”**. Rev. Saúde Pública. 34 (2): 178 - 183. 2000.
- FREITAS. A.L.G.; SOUZA I.P.; VIANA F.A.; HOLANDA A.A.; RODRIGUES P.A.S.; SANTOS A.A; **Influência da cronobiologia no estado nutricional e no risco de doença cardiovascular em estudantes universitários**. Motri.; 14 (1): 103 - 108. 2018.
- GÓMEZ-ALBELLÁN M.G.P. **Chronobiology and obesity**. Nutr. Hosp.; 28 (5): 114 - 120. 2013.
- JANSEN JM; LOPES AJ; JANSEN U; CAPONE D *et al.* **Medicina da noite: da cronobiologia à prática clínica**. Rio de Janeiro: Cad. Saúde Pública: 2452-2455. 2008.
- KANIKOWSKA, D.; SATO, M.; WITOWSKI, J. **Contribution of daily and seasonal biorhythms to obesity in humans**. Int J Biometeorol. 59(4): 377–384. 2015.
- LOMBARDI, M. R.; CAMPOS, V. P. **A enfermagem no brasil e os contornos de gênero, raça/cor e classe social na formação do campo profissional**. Revista da ABET. vol 17. 2018.
- MARTINS, T.; GOMES, C. R. D. G. **Cronobiologia dos indivíduos em situação de trabalho**. Revista Saúde e Pesquisa, v. 3, n. 3, p. 309-314, set./dez. 2010.

MARTYNHAK, B. J.; BACK, F. A.; LOUZADA, F. **O valor biológico do período circadiano.** São Paulo: Rev. da Biologia: 58-61. 2012.

PEREIRA, É. F.; ANACLETO, T. S.; LOUZADA, F. M. **Interação entre sincronizadores fóticos e sociais: repercussões para a saúde humana.** Curitiba: Rev. da Biologia. 2012.

ROCHA, M. C. P.; MARTINO, M. M. F. **O estresse e qualidade de sono do enfermeiro nos diferentes turnos hospitalares.** São Paulo: Rev. esc. enferm. USP. 44: 280-286 p. 2010.

SIMÕES. **Work in Rotating Shifts and its Effects on the Daily Life of Grain Processing Workers.** Rev. Latino-Am. Enfermagem. Ribeirão Preto, v. 18, n. 6, p. 1070-1075, Dec. 2010.

SOUZA, L. L.; ARAÚJO, D. B.; SILVA, D. S.; BÊRREDO, V. C. M. **Representações de gênero na prática de enfermagem na perspectiva de estudantes.** Ciências & Cognição. Vol 19: 218-232 p. 2014.

World Health Forum. **What quality of life?** The WHOQOL Group. World Health Organization Quality of Life Assessment; 17 (4): 354 - 6. 1996

GONÇALVES A.; VILARTA R. **Qualidade de vida e atividade física: explorando teoria e prática.** Conexões: Educação Física, Esporte E Saúde. 2 (2): 105 - 108. 2004.

XAVIER, K. G. D. S.; VAGHETTI, H. H. **Aspectos cronobiológicos do sono de enfermeiras de um hospital universitário.** Brasília: Rev. Bras. Enferm.: p. 135-140. 2012.

CAPÍTULO 11

A EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS NA SAÚDE HUMANA

Data de aceite: 23/09/2020

Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenório

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/6475960711488400>

Carina Scanoni Maia

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/6641822183729737>

Marcos Aurélio Santos da Costa

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/6795027622063056>

Juliana Pinto de Medeiros

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/1811417533736026>

Diana Babini Lapa de Albuquerque Britto

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/2264678797145213>

Otaciana Otacilia de Arruda

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/3916736205554316>

Suênia Marcele Vitor de Lima

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/9190023918140380>

Giovana Hachyra Facundes Guedes

Universidade Federal da Paraíba
João Pessoa – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/5216724461354840>

Bruno Mendes Tenorio

Universidade Federal da Paraíba
João Pessoa – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/2568954970915532>

RESUMO: Os agrotóxicos, são substâncias químicas destinadas ao controle, destruição ou prevenção, direta ou indiretamente, de agentes patogênicos para plantas e animais que são úteis às pessoas. Além desse objetivo central, pode ser empregada na construção de estradas, tratamento de madeira, armazenamento de grãos e sementes, produção de flores, combate às endemias e epidemias. Apesar das classes toxicológicas dos agrotóxicos serem importantes ferramentas de orientação, leva em consideração apenas as intoxicações agudas, não refletindo os efeitos danosos que o consumo de produtos considerados pouco tóxicos consumidos de forma crônica acarreta a saúde humana. Os estudos mostram que a interferência dos agrotóxicos vai além da alteração do solo, água e ar, mas traz consequências para a morfologia de muitos animais e vegetais usados na alimentação humana e que reflete negativamente na saúde humana. Os efeitos nocivos do uso de agrotóxicos para a saúde humana vão desde a capacidade de causar danos nas primeiras horas após a exposição até causar danos como malformações congênitas, câncer, transtornos mentais,

mutações, desordens neurodegenerativas, disfunções reprodutivas, e desregulação endócrina. A desregulação endócrina pode interferir no desenvolvimento dos órgãos e tecidos durante períodos críticos para o desenvolvimento, bloqueando ou imitando a ação dos hormônios endógenos, sendo os períodos fetal e neonatal considerados janelas de susceptibilidade particular aos efeitos tóxicos destes agrotóxicos. Mesmo diante de tamanha exposição a doenças relacionadas aos agrotóxicos, a percepção desse risco por parte da população exposta todos os dias, ainda é muito deficiente e que práticas de orientação para segurança na saúde é imprescindível. Além disso, é necessário mais estudo acerca dos efeitos em longo prazo da exposição crônica laboral ou a partir da ingestão de alimentos contaminados pelos agrotóxicos, a fim de garantir proteção à saúde humana que se submete ao uso de tais venenos.

PALAVRAS-CHAVE: Agrotóxico, Metabolismo, Saúde.

EXPOSURE TO PESTICIDES IN HUMAN HEALTH

ABSTRACT: Pesticide are chemical substances designed to control, destroy or prevent, directly or indirectly, pathogens for plants and animals that are useful to people. In addition to this central objective, it can be used in road construction, wood treatment, storage of grains and seeds, flower production, combating endemics and epidemics. Although the toxicological classes of pesticides are important guidance tools, it only takes into account acute intoxications, not reflecting the harmful effects that the consumption of products considered to be low toxic consumed in a chronic way has on human health. Studies show that the interference of pesticide goes beyond altering soil, water and air, but has consequences for the morphology of many animals and vegetables used in human food and that reflects negatively on human health. The harmful effects of the use of pesticide for human health range from the ability to cause damage in the first hours after exposure to damage such as congenital malformations, cancer, mental disorders, mutations, neurodegenerative disorders, reproductive dysfunctions, and endocrine disruption. Endocrine disruption can interfere with the development of organs and tissues during critical periods for development, blocking or imitating the action of endogenous hormones, with fetal and neonatal periods being considered windows of particular susceptibility to the toxic effects of these pesticide. Even in the face of such exposure to diseases related to agrochemicals, the perception of this risk by the population exposed every day is still very deficient and that guidance practices for health safety are essential. In addition, further studies are needed on the long-term effects of chronic occupational exposure or from the ingestion of food contaminated by pesticide, in order to ensure protection for human health that undergoes the use of such poisons.

KEYWORDS: Pesticides, Metabolism, Health.

INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos, de acordo com a Lei Federal n.º 7.802 de 11/07/89, podem ser definidos como: “Produtos e componentes de processos físicos, químicos ou biológicos

destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento” (BRASIL, 1989).

Essas substâncias também são utilizadas na construção de estradas, tratamento de madeira, armazenamento de grãos e sementes, produção de flores, combate às endemias e epidemias, dentre outras formas de uso. Mostrando que o uso de agrotóxicos está além do que se conhece normalmente (SILVA et al., 2005). Segundo CENEP/FNS (1998), os agrotóxicos são nomeados pesticidas e classificados em grupos principais denominados: herbicidas, fungicidas, inseticidas, rodenticidas e fumigantes.

De acordo com WHO/UNEP (1990), o consumo de agrotóxicos no meio rural decresce na seguinte ordem: herbicidas > inseticidas > fungicidas. Apesar dos herbicidas serem os mais utilizados, geralmente, a toxicidade deste grupo é menor que a dos inseticidas. Dados mais recentes da Anvisa (2012) mostram que os fungicidas obtiveram um acréscimo em sua procura no mercado. Se a concentração dos agrotóxicos for expressa em porcentagem, os herbicidas representam 45% do total, enquanto os fungicidas e inseticidas representam 12% e 14%, respectivamente, e as demais categorias 29%.

Os agrotóxicos são divididos em classes toxicológicas medidas a partir da sua DL50 (dose que mata 50% dos indivíduos expostos ao produto) onde a classe I são os produtos extremamente tóxicos representados pela faixa vermelha; a classe II são os produtos altamente tóxicos representados pela faixa amarela; a classe III são os produtos medianamente tóxicos representados pela faixa azul; e a classe IV são os produtos pouco tóxicos representados pela faixa verde (OPAS/OMS, 1996).

O principal desafio da classificação toxicológica é que ela reflete basicamente intoxicações agudas, não levando em consideração os efeitos crônicos, como por exemplo, câncer, neuropatias, hepatopatias, problemas respiratórios, dentre outros (LARINI, 1999). Nesse contexto, uma classificação toxicológica mais precisa é de fundamental importância, pois é o principal meio de informação que os agricultores dispõem.

Segundo a portaria normativa 131, de 03/11/1997, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), refere-se aos procedimentos, para efeito de registro e avaliação ambiental de agentes biológicos empregados no controle de uma população ou de atividades biológicas de um organismo vivo considerado nocivo, visando à defesa fitossanitária. No seu anexo III,

faz referência aos testes obrigatórios para a avaliação tóxico-patológica, cujo objetivo é avaliar efeitos adversos do agente microbiano de controle sobre mamíferos. Os principais aspectos a serem considerados são: Patogenicidade do agente de controle e de contaminantes microbianos; Infectividade/persistência do agente de controle e de contaminantes microbianos; Toxicidade do agente de controle, de contaminantes microbianos e de seus subprodutos.

A avaliação tóxico-patológica é feita através de uma série de testes, dividida em três fases distintas.

- A Fase I: consiste em uma bateria de testes de curta duração, onde o organismo teste (mamífero) recebe uma dose máxima única do agente de controle com o objetivo de se obter a máxima chance do agente de controle causar toxicidade, infectividade e patogenicidade. Se nenhum efeito adverso for observado na Fase I, não há necessidade de se realizar nenhum dos testes da Fase II e Fase III.
- A Fase II foi elaborada para avaliar uma situação particular, quando se observa toxicidade ou infectividade na Fase I, sem evidências de patogenicidade. Na Fase II estudos de toxicidade aguda são normalmente exigidos com o componente tóxico da preparação do agente de controle usado. Nas Fases II e III, estudos adicionais para avaliar efeito de toxicidade de preparações do agente biológico de controle deverão ser realizados de acordo com protocolos apropriados. Estudos subcrônicos de toxicidade/patogenicidade também constam da Fase II.
- A Fase III contém testes para identificar efeitos adversos particulares de parasitos de células de mamíferos, e só serão exigidos quando efeitos adversos forem observados na Fase II.

Apesar do aumento das pesquisas com relação ao impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana, o que se sabe ainda não é suficiente para se conhecer a extensão da carga química de exposição direta nem a dimensão dos danos à saúde. Isso ocorre devido à falta de informação sobre o consumo e manuseio dos agrotóxicos e a falta de dados sobre intoxicações causadas por estes produtos.

DESENVOLVIMENTO

Desde a década de 1950, quando se iniciou a “revolução verde”, foram observadas profundas mudanças no processo tradicional de trabalho na agricultura, bem como em seus impactos sobre o ambiente e a saúde humana. Novas tecnologias, muitas delas baseadas no uso extensivo de agentes químicos, foram disponibilizadas para o controle de doenças, aumento da produtividade e proteção contra insetos e outras pragas agrícolas. Com o advento desta tecnologia, faz-se necessária a investigação científica das substâncias utilizadas, uma vez que a toxicidade destes

compostos pode afetar espécies não alvo e acarretar prejuízos à saúde (MOREIRA et al., 2002).

Atualmente a na produção de commodities agrícolas, com destaque para as culturas de soja, cana-de-açúcar, café, milho e algodão, é um dos principais pilares de sustentação da economia brasileira. A subordinação econômica ao mercado de commodities agrícolas baseia-se na expansão dos monocultivos, em um modelo baseado no uso intensivo de agrotóxicos e fertilizantes, provocando a contaminação ambiental e exposição humana. Nos últimos anos esse modelo tem se intensificado, impulsionando ainda mais o consumo de venenos no país, que se dá como resultado da crise ambiental, econômica, ética, política e social que afeta o Brasil (DIAS et al., 2018).

As exposições mais frequentes ocorrem no setor agropecuário, nas empresas de desinsetização, de transporte, produção e de comercialização de agrotóxicos, além do potencial contaminação alimentar e ambiental. Dessa forma, a saúde humana se torna cada vez mais sujeita aos efeitos causados por esses produtos (RIGOTTO et al., 2011).

Os efeitos nocivos do uso de agrotóxicos para a saúde humana têm sido objeto de diversos estudos científicos, os quais têm detectado a presença dessas substâncias em amostras biológicas, como sangue humano e leite materno, bem como de resíduos presentes no ambiente e em alimentos consumidos pela população em geral, apontando a possibilidade de ocorrência de efeitos agudos e crônicos (ELLSWORTH et al., 2018).

Os efeitos que agudos são referentes à exposição a concentrações de um ou mais agentes tóxicos que possuem a capacidade de causar danos nas primeiras horas após a exposição; enquanto que os crônicos geralmente são resultantes de uma exposição continuada a doses relativamente baixas de um ou mais produtos, podendo causar danos como malformações congênitas, câncer, transtornos mentais, mutações, desordens neurodegenerativas, disfunções reprodutivas, desregulação endócrina e outros (ARAÚJO et al., 2007).

Considerando-se que a exposição humana a determinados agrotóxicos tem sido associada a eventos adversos na gravidez (WIGLE et. al., 2008), vários estudos epidemiológicos vêm apontando a exposição crônica de mulheres a agrotóxicos, principalmente durante o período gestacional, como fator de risco para a prematuridade, baixo peso ao nascer, peso reduzido para a idade gestacional (RIBAS-FITO et. al., 2001), retardo do crescimento intrauterino, da altura e do perímetro cefálico do neonato, morte fetal, índice de Apgar insatisfatório, e malformações congênitas em meninos, como criptorquidia e hipospádias, entre outros. Alguns estudos ecológicos também estudaram a associação entre uso ou consumo de agrotóxicos e risco de eventos adversos na gravidez, mas, em geral, os resultados destes estudos têm sido

menos consistentes (SCHREINEMACHERS, 2003).

Igualmente, a capacidade de determinados agrotóxicos de alterar o equilíbrio e função do sistema endócrino (FERNANDEZ et. al., 2007) tem sido relacionada com eventos negativos em estudos experimentais e epidemiológicos (WOLANSKY; HARRILL, 2008; FRIEDRICH, 2013). Estas substâncias, conhecidas como desreguladores endócrinos, podem interferir no desenvolvimento dos órgãos e tecidos durante períodos críticos para o desenvolvimento, bloqueando ou imitando a ação dos hormônios endógenos, sendo os períodos fetal e neonatal considerados janelas de susceptibilidade particular aos efeitos tóxicos destes xenobióticos (VANDENBERGH, 2008).

O impacto negativo do grande consumo de agrotóxicos na agricultura é agravado pelas vulnerabilidades sociais e institucionais frequentemente observadas nos territórios de expansão do agronegócio, ampliando as vulnerabilidades frente à toxicidade dos agrotóxicos (SOBREIRA; ADISSI, 2003).

De acordo com o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (2018), os agrotóxicos mais consumidos no estado de Pernambuco (PE) em 2017 foram, em ordem decrescente, o 2,4-D e o glifosato.

Esses herbicidas são utilizados primariamente no cultivo da cana-de-açúcar, que é um dos principais monocultivos do estado, colocando Pernambuco como segundo maior produtor de cana-de-açúcar das regiões Norte e Nordeste e um dos maiores do país, com plantações concentradas na Zona da Mata, localizada na Macrorregião Metropolitana do estado (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2017).

Existem estudos científicos que apontam a relação entre a exposição ao glifosato e a ocorrência de problemas de saúde graves como câncer, problemas reprodutivos, alterações endócrinas, aumento da mortalidade infantil, dentre outros. Do mesmo modo, estudos científicos mostram que co-formulantes do glifosato, como o surfactante polioxietilenoamina (POEA), banido dos produtos com glifosato da Europa, precisam ser investigados quanto ao potencial genotóxico da POEA e seus possíveis efeitos de desregulação endócrina, uma vez que foram registrados efeitos adversos na função reprodutiva e para o desenvolvimento (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA, 2019).

Já o 2,4-D está relacionado à teratogênese, toxicidade para o sistema reprodutivo, desregulação endócrina e outros desfechos severos e potencialmente irreversíveis para a saúde humana (FRIEDRICH, 2014).

No Brasil, a desregulação endócrina é um efeito considerado proibitivo para fins de registro (BRASIL 1989), independente dos níveis de exposição. Logo, independente da dose em que os efeitos sejam observados, a ocorrência de danos deve orientar sua proibição pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Ainda, tem-se que a exposição aos agrotóxicos leva à ocorrência de estresse

oxidativo e acúmulo de radicais livres no organismo, podendo provocar a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS). O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio produzidas e a ação do sistema antioxidante. O aumento dessas substâncias citotóxicas pode provocar danos permanentes na estrutura de macromoléculas como o DNA, as proteínas e os lipídios, acarretando perda de suas funções biológicas e desenvolvimento de diversas doenças (REIS et al., 2012). Considerando estas alterações, algumas enzimas antioxidantes podem ser utilizadas para evidenciar precocemente os danos para a saúde, a exemplo da catalase (CAT) e da Glutathione-S-Transferase (GST), assim como o malondialdeído (MDA) pode ser utilizado como um biomarcador de dano oxidativo precoce (BARBOSA et al., 2012; ALVES FILHO, 2012).

Por fim, considerando que, no Brasil, a desregulação endócrina é um efeito considerado proibitivo para fins de registro, torna-se relevante identificar os agrotóxicos relacionados a esses efeitos. Mais incentivos a estudos e ações de cunho informativo e educacional acerca dos efeitos em longo prazo da exposição crônica através da exposição ao ambiente de trabalho ou a partir da ingestão de alimentos contaminados pelos agrotóxicos, a fim de garantir proteção à saúde humana que se submete ao uso diário de tais venenos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Monografias de Produtos Agrotóxicos**. Brasil: ANVISA. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm>. Acesso em: 29 ago. 2019

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **2º Seminário Mercado de Agrotóxicos e Regulação**. Brasília: ANVISA, 2012.

ALVES FILHO, José P. **Uso de agrotóxicos no Brasil: controle social e interesses corporativos**. São Paulo: Annablume, 2002. 188 p.

ARAÚJO, Alberto José de *et al.* **Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ**. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 115-130, 2007. Doi: 10.1590/S1413-81232007000100015. Acesso em: 01 jun. 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA. Brasil: ABRASCO, 2019. Disponível em: www.abrasco.org.br. Acesso em: 01 jun.2020.

BARBOSA, Antônio M.J. *et al.* **Exposição a agrotóxicos: determinação dos valores de referência para colinesterase plasmática e eritrocitária**. *Brasília Med*, v.49, n.3, p.163-169, 2012.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Subchefia para Assuntos Jurídicos**: Brasília, DF, 11 jun. 1989. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm Acesso em: 03 jul. 2020.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perspectivas para agropecuária**. Safra 2017/2018. v. 5, Brasília: CONAB, 2018. Disponível em www.conab.gov.br. Acesso em 10/12/2015.

DIAS, Alexandre P. *et al.* **Agrotóxicos e saúde**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2018. 120 p. (Série Fiocruz - Documentos Institucionais; 2). Coleção Saúde, Ambiente e Sustentabilidade.

ELLSWORTH, Rachel E. *et al.* **Organochlorine pesticide residues in human breast tissue and their relationships with clinical and pathological characteristics of breast cancer**. *Environmental toxicology*, v. 33, n. 8, p. 876-884, 2018. Doi: 10.1002/tox.22573. Acesso em: 01 jul. 2020.

FERNANDEZ, Mariana F. *et al.* **Human exposure to endocrine-disrupting chemicals and prenatal risk factors for cryptorchidism and hypospadias: a nested case-control study**. *Environmental health perspectives*, Granada, v. 115, n. Supl 1, p. 8-14, 2007. Doi: 10.1289/ehp.9351. Acesso em: 01 jul. 2020.

FRIEDRICH, Karen. **Challenges to toxicological evaluation of pesticides in Brazil: endocrine disruption and immunotoxicity**. *Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia* v.1, n.2, 2013.

FRIEDRICH, Karen. **Avaliação dos efeitos tóxicos sobre o sistema reprodutivo, hormonal e câncer para seres humanos após o uso do herbicida 2,4-d**. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, 2014.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília: FNS, 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa nº 24, de 29 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, n. 230, p. 223. Disponível em: Acessado em: 10/12/2015.

LARINI, L. **Toxicologia dos Praguicidas**. São Paulo: Manole, 1999.

MOREIRA, Josino C. *et al.* **Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ**. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 7, n. 2, p. 299-311, 2002. Doi: 10.1590/S1413-81232002000200010. Acesso em: 01 jul. 2020.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Manual de vigilância de saúde de populações expostas a agrotóxicos**. Brasília: OPAS/OMS, 1996. Disponível em: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/10/728138/196956-man-vigilancia-livro2.pdf> Acessado em: 10/12/2015.

REIS, Gabriel. *et al.* **Avaliação do perfil oxidativo e da atividade da enzima ache em agricultores expostos a pesticidas agrícolas.** XVII Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa & Extensão: Ciência, Reflexividade e (In)Certezas. Unicruz, nov. 2012.

RIBAS-FITO, N. *et al.* **Polychlorinated biphenyls (PCBs) and neurological development in children: a systematic review.** Journal of Epidemiology & Community Health, Barcelona, v. 55, n. 8, p. 537-546, 2001. Doi: 10.1136/jech.55.8.537. Acesso em: 01 jul. 2020.

RIGOTTO, Raquel. Agrotóxicos, trabalho e saúde: vulnerabilidade e resistência no contexto da modernização agrícola no baixo Jaguaribe/CE. *In: Agrotóxicos, trabalho e saúde: vulnerabilidade e resistência no contexto da modernização agrícola no baixo Jaguaribe/CE.* 2011. p. 613-613.

SCHREINEMACHERS, Dina M. **Malformações de nascimento e outros resultados perinatais adversos em quatro estados produtores de trigo nos EUA.** Perspectivas de Saúde Ambiental, Carolina do Norte, v. 111, n. 9, p. 1259-1264, 2003. Doi: 10.1289/ehp.5830. Acesso em: 01 jul. 2020.

SILVA, J. M. *et al.* **Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural.** Ciência & Saúde Coletiva, Belo Horizonte, v.10, n.4, p.13, 2005.

SOBREIRA, Antônio E. G.; ADISSI, Paulo J. **Agrotóxicos: falsas premissas e debates.** Ciência & Saúde coletiva [online],v.8, n.4, p. 985-990, 2003.

VANDENBERGH, John G. **Animal models and studies of in utero endocrine disruptor effects.** ILAR journal, Carolina do Norte, v. 45, n. 4, p. 438-442, 2004. Doi: 10.1093/ilar.45.4.438. Acesso em: 01 jul. 2020.

WIGLE, Donald T. *et al.* **Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants.** Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, Ottawa, v. 11, n. 5-6, p. 373-517, 2008. Doi: 10.1080/10937400801921320. Acesso em: 01 jul. 2020.

WOLANSKY, Marcelo J.; HARRILL, J.A. **Toxicologia neurocomportamental de inseticidas piretróides em animais adultos: uma revisão crítica.** Neurotoxicology and teratology, Carolina do Norte, v. 30, n. 2, p. 55-78, 2008. Doi: 10.1016/j.ntt.2007.10.005. Acesso em: 01 jul. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. **Public health impact of pesticides used in agriculture.** Geneva: WHO/UNEP, 1990.

DALEA EXTRACTS AS POTENTIAL FOR PHYTO-INGREDIENTS: ANTIOXIDANT, ANTITYROSINASE, ANTIFUNGAL AND CYTOTOXICITY *IN VITRO* EVALUATIONS

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 06/07/2020

Micaela Del Gaudio

Universidad Nacional de Córdoba; (IMBIV-CONICET)
Córdoba, Argentina
ORCID: 0000-0002-9466-8153

María Daniela Santi

Universidad Nacional de Córdoba; (IMBIV-CONICET)
Córdoba, Argentina
ORCID: 0000-0002-3866-1424

José Luis Cabrera

Universidad Nacional de Córdoba; (IMBIV-CONICET)
Córdoba, Argentina
ORCID: 0000-0002-6570-7520

Mariana Andrea Peralta

Universidad Nacional de Córdoba; (IMBIV-CONICET)
Córdoba, Argentina
ORCID: 0000-0001-9362-8566

María Gabriela Ortega

Universidad Nacional de Córdoba; (IMBIV-CONICET)
Córdoba, Argentina
ORCID: 0000-0002-2400-9099

ABSTRACT: *Dalea* L. (Fabaceae) includes species used in traditional medicine. Prenylflavonoids from *Dalea*, such as

2',4'-dihydroxy-5'-(1'',1''-dimethylallyl)-8-prenylpinocembrin (8PP), present antioxidant, antityrosinase, and antifungal activities. This work aimed to investigate the chemical and biological properties of *Dalea leporina*, a species without any chemical or biological study, and to compare it with *D. boliviana* and *D. pazensis*. Hydro-alcoholic extracts from roots of the three species were obtained and their antioxidant, antityrosinase, antifungal, and cytotoxicity activities were evaluated, together with total phenols and flavonoids quantification and evaluation of relative content of 8PP in the three extracts.

D. boliviana presented the highest polyphenolics and flavonoid contents and antioxidant properties. 8PP was determined in the three *Dalea* extracts, with the highest content in *D. pazensis*, which showed relevant tyrosinase inhibition. *D. leporina* showed important antifungal activity against azole-resistant *Candida albicans*. *Dalea* extracts showed important bioactivities and high maximum non-cytotoxic concentrations, and are potential sources of new phyto-bioactive ingredients.

KEYWORDS: Phyto-bioactive ingredients, prenylflavanone, antityrosinase, antioxidant, antifungal.

EXTRATOS DE DALEA COMO
POTENCIAL PARA FITO-INGREDIENTES:
AVALIAÇÕES ANTIOXIDANTES,
ANTITIROSONASE, ANTIFÚNGICA E
CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

RESUMO: *Dalea* L. (Fabaceae) inclui espécies

utilizadas na medicina tradicional. Os pré-flavonóides da *Dalea*, como 2',4'-di-hidroxi-5'-(1'',1''-dimetilalil) -8-prenilpinocembrina (8PP), possuem atividade antioxidante, antitirosinase e antifúngica. O objetivo deste trabalho foi investigar as propriedades químicas e biológicas de *Dalea leporina*, espécie sem estudo químico ou biológico, e compará-lo com *D. boliviana* e *D. pazensis*. Foram obtidos extratos hidroalcoólicos das raízes das três espécies e avaliadas suas atividades antioxidantes, antitirosinase, antifúngica e citotoxicidade, juntamente com a quantificação total de fenóis e flavonóides e a avaliação do conteúdo relativo de 8PP nos três extratos.

D. boliviana apresentou o maior conteúdo de polifenóis e flavonóides e propriedades antioxidantes. A 8PP foi determinada nos três extratos de *Dalea*, com o maior conteúdo de *D. pazensis*, que mostrou uma inibição significativa da tirosinase. *D. leporina* mostrou atividade antifúngica significativa contra *Candida albicans* resistente a azóis. Os extratos de *Dalea* mostraram bioatividades significativas e altas concentrações não citotóxicas máximas e são fontes potenciais de novos ingredientes fitobioativos. **PALAVRAS-CHAVE:** Ingredientes fitobioativos, prenilflavanona, antitirosinase, antioxidante, antifúngica.

1 | INTRODUCTION

Dalea L. genus (Fabaceae) habits from the southwestern United States to central Argentina and Chile. Ethnobotanical and ethnomedical knowledge about the traditional uses of *Dalea* species, indicate their application as anti-inflammatory and analgesic (Densmore 2005).

Dalea elegans Gillies ex Hook. & Arn, *D. boliviana* Britton, *D. leporina* (Aiton) Bullock, and *D. elegans* var. *onobrychioides* (Griseb.) Barneby habit in Argentina. From *D. elegans* and *D. boliviana* we previously isolated nine prenylated, chromene and methoxylated flavanones, and one chalcone. These compounds were reported as mushroom tyrosinase inhibitors. The flavanone 8PP [2',4'-dihydroxy-5'-(1'',1''-dimethylallyl)-8-prenylpinocembrin, Figure 1] from *D. elegans* roots, was the most potent as anti-tyrosinase (Peralta et al. 2019).

Furthermore, antimicrobial properties of 8PP include antibacterial, antifungal, antibiofilm, inhibition of efflux transporters in an azole-resistant *Candida albicans* strain (RCa), and fungicidal combination with fluconazole (Belofsky et al. 2004; Deardorff et al. 2016; Peralta et al. 2019).

Prenylflavonoids from *Dalea* present relevant bioactivities as antioxidants, antityrosinase, and antifungals (Peralta et al. 2019). Plant extracts with these properties have potential pharmacological applications as phyto-ingredients for cosmetics and botanical nutraceuticals with an impact on human health care, health-promoting activity, and prevention of diseases.

To screen other sources of bioactive compounds in this genus, this work aimed to investigate the chemical and biological properties of root extract from *D. leporina*, a species without any chemical or biological study. Additionally, we aimed to compare

these properties with those obtained from *D. boliviana* and *D. pazensis*. Hydro-alcoholic extracts of roots from the three species were obtained and their antioxidant, antityrosinase, antifungal, and cytotoxicity activities were evaluated. Total phenols and flavonoids quantification and evaluation of relative content of 8PP as a chemical marker in the three extracts, constituted the chemical investigation of these extracts.

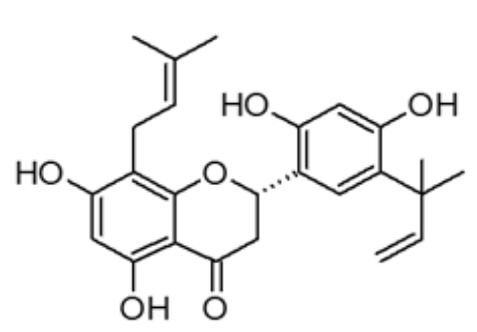


Figure 1. Structure of S-2',4'-dihydroxy-5'-(1'',1''-dimethylallyl)-8-prenylpinocembrin (8PP)

2 | MATERIALS

2.1 Plant material

Plant material (roots) of *D. boliviana*, *D. pazensis*, and *D. leporina* were collected in February 2007, March 2013 and February 2015, respectively. The collection place was: *D. boliviana*, in Humahuaca Department, Jujuy Province, Argentina (22°55'24.3"S 65°17'28.6"W at 2780 m above sea level) and *D. leporina*, in La Calera Department, Salta Province, Argentina (24°36'00"S 65°23'00"W at 1421 m above sea level). Prof. Dr. Gloria Barboza from the Botanical Museum-UNC identified the species and vouchers specimens are on deposit as CORD 1066 and Peralta 3 respectively. *D. pazensis* was collected in Yotala, close to Sucre city (Bolivia) (19°08'53" S 65°15'48" W at 2543 m above sea level) and identified by specialized personnel belonging at the Herbario del Sur de Bolivia (HSB) (Portal E. & López C.D.) and a voucher specimen was deposit as 961A.

2.2 Chemicals

All chemical reagents and solvents were analytical grade and purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Acetonitrile, methanol and formic acid, HPLC grade, were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Sabouraud (agar and broth) were from Difco (Detroit, MI, USA). Reference compounds: quercetin, vitamin

E, gallic acid, ascorbic acid, kojic acid, and fluconazole were obtained from Sigma-Aldrich.

2.3 Preparation of dry weight extracts

Dried roots from *D. boliviana*, *D. pazensis*, and *D. leporina* were dried at room temperature, powdered and extracted with EtOH:H₂O (70:30, 250 mL) by using soxhlet. The solvent was removed by a rotatory evaporator to yield each dry weight extract (DE). The dry weight extracts (DE) were expressed as g of DE/100 g of plant material.

2.4 LC-MS/MS analysis of DE

All extracts obtained were investigated by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for comparative analysis regarding the presence and quantity of 8PP. The analyses were performed using an Acquity UPLC H-Class, Waters, with a quaternary pump equipped with an autosampler and a triple quadrupole mass spectrometer (Xevo TQ-S Micro, Waters) were used to obtain the MS-MS data.

Different DE (5 mg/mL in elution solvent) were filtered through a 0.45 μm Millipore filter and then analyzed. Briefly, 5 μL of each DE were injected by an autosampler through a BEH C₁₈ Waters column (50×2.1 mm, 1.7 μm, at 30° C), using gradient elution done with water with 0.1% formic acid (solvent A) and acetonitrile with 0.1% formic acid (solvent B) at a constant flow-rate of 250 μL min⁻¹. A linear gradient profile was run with the initial composition of solvent A being 50% for the first 0.1 min; then the following proportions were applied [t (min), %A]: (0.1-3.50, 20), (3.5-5.0, 20). The column effluent was introduced into the mass spectrometer using electrospray ionization (ESI) in the negative ion mode. The following parameters were used for 8PP analysis: capillary voltage of 3.0 kV, desolvation gas (nitrogen) at a flow of 650 L/h, desolvation and source block temperature were 350 and 150 °C, respectively. The following mass transitions were optimized by Multi Reaction Monitoring (MRM) mode for analysis of 8PP by direct infusion using Intellistart application: 423.30/ 193.0 and 423.30/ 229.10; cone voltage for both transitions was 54 V and collision energies were 20 and 18 V, respectively. The collision gas was Argon 99.999% (Linde) with a pressure of 3.4 × 10⁻³ mbar in the collision cell. The LC-MS-MS system was controlled by Masslynx software (Version 4.1).

2.5 Total phenolic content determination

Total soluble polyphenols (TP) were quantitatively determined using the Folin-Cicalteu's phenol reagent (FCR) according with Matkowski & Piotrowska, 2006. The concentration range of different DE was 0.4–0.8 mg/mL in EtOH. The absorbance of each mixture was read at 765 nm (Genesys 5). TP were expressed as gallic acid equivalents in mg/g of DE (mg GAE/g DE) using a standard curve of Gallic acid solution (y = 0.046x - 0.091; r² = 0.998).

2.6 Total flavonoids determination

Total flavonoid content (TFC) determination in different **DE** was achieved (Quettier-Deleu et al. 2000). The concentration range of different **DE** was 0.15 to 1 mg/mL. The absorbance was measured at 430 nm (Genesys 5) and the results were expressed as mg quercetin equivalents per g of **DE** (mg QE/g DE), using standard curve of quercetin solution ($y = 0.081x - 0.020$; $r^2 = 0.996$).

2.7 Determination of antioxidant activities

2.7.1 Total antioxidant capacity by phosphomolybdenum assay

The total antioxidant capacity (TAC) of the extracts was evaluated by the phosphomolybdenum method according with Prieto et. al., 1999. Each **DE** (0.1 mL in methanol at concentration of 10-90 $\mu\text{g/mL}$) was combined with 1 mL of reagent solution and incubated at 37 °C for 90 min, protected from light. After that, each solution was measured at 695 nm (Genesys 5) at room temperature. The TAC was expressed as AAE μg [μg ascorbic acid equivalent]/weight of extract analyzed, using standard curve of ascorbic acid (10-50 $\mu\text{g/mL}$). Percentage values of TAC were expressed with respect to ascorbic acid ($y = 0,017x - 0,050$; $r^2 = 0,998$). Quercetin was used as reference compound (RC).

2.7.2 ABTS radical cation scavenging

The method used was as described by Re et al. (Re et al. 1999). 37.5 μL of each ethanolic solution of **DE** at different concentrations (10-100 $\mu\text{g/mL}$) was added to 1.5 mL of freshly prepared ABTS^{•+} solution. After 4 min, the absorbance was measured at 734 nm (Genesys 5). Quercetin was used as a RC.

2.7.3 Erythrocyte hemolysis assay

The methodology employed was in accord with Dai et al., 2006. Fresh human blood from healthy volunteers via venipuncture was obtained and collected in heparinized tubes. Erythrocytes isolated by centrifugation (3000 rpm for 5 min) were washed three times with phosphate buffer (BF) 0.1 M pH 7.4 (190 mL of 0.2 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and 810 mL of 0.2 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), and re-suspended at 20% of erythrocytes (Er) with PBS. Hemolysis was carried out mixing Er in BF with 2, 2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) solution (0.2M). Different **DE** (100 μL , 10-100 $\mu\text{g/mL}$) with Er (100 μL) and AAPH (100 μL , 0.2 M) were incubated at 37 °C (3 hours) with gentle shaking. Then, the mixture diluted with 4 mL of BF was centrifuged (4000 rpm, 10 min) and the supernatant was measured at 540 nm (Genesys 5). Absorbance of the hemolysate was used as 100% hemolysis. Quercetin was used as RC.

2.8 Tyrosinase Inhibition Assay

Mushroom tyrosinase was used as previously described (Peralta et al. 2014). Monophenolase activity of the assay solution containing mushroom tyrosinase solution (0.104 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), control solution [Na_3PO_4 buffer (0.1 M, pH 6.8)] or the sample solution [prepared with each extract dissolved in Na_3PO_4 buffer (0.1 M, pH 6.8)] and the enzyme substrate, L-tyrosine (1.7 mM, Sigma), was monitored by measuring dopachrome formation at 475 nm in a spectrophotometer UV-visible (Genesys 5). Kojic acid was used as positive reference inhibitor.

2.9 Antifungal assays

2.9.1 Yeast strains and growth conditions

Two *C. albicans* strains isolated from the oral cavity of immunocompromised hosts (AIDS) and kindly provided by Dr. Theodore White (Seattle, WA) were used. The azole-sensitive *C. albicans* strain 2.76 (SCa) and a zole-resistant strain 12-99 (RCa) that overexpresses the transporter genes CDR1, CDR2 and MDR1 (White et al., 2002). The strains were stored as frozen stocks, in Sabouraud dextrose broth with 15% glycerol at $-80\text{ }^\circ\text{C}$. Before each experiment, cells were subcultured from this stock onto Sabouraud dextrose agar (Difco, Detroit, MI), and passaged to ensure purity and viability (CLSI 2008).

2.9.2 Antifungal evaluation

The antifungal activity of *Dalea* extracts was evaluated following the guidelines of the M27-A3 document of the Clinical and Laboratory Standards Institute standard method (CLSI 2008). Briefly, 100 μL per well of each **DE** (final concentrations ranging from 50 to 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dissolved with dimethyl sulfoxide as co-solvent (DMSO, 1% per well) were added to a microtiter plate. Growth control wells were prepared without the antifungal solution. A growth control with DMSO (1%) was included. Antifungal fluconazole was the reference. After inoculation with 100 μL per well of a inoculum containing 10^3 CFU/mL, the microtiter plate was incubated at $37\text{ }^\circ\text{C}$ for 48 h. Optical density (OD) was measured at 540 nm with a Microplate Reader (Tecan Sunrise Model, TECAN, AUS). Minimal inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest concentration producing an $\text{OD}_{540\text{nm}}$ of 50 percent (50%) or less with respect to that of the growth control (Peralta et al. 2012; Barceló et al. 2017).

2.10 MTT analysis on JT744 derivate's macrophage cell line

1×10^5 J744 macrophage derivate cells in DMEM supplemented with 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS) and 1% streptomycin/penicillin were cultured in 96 well plates and incubated for 24 h at $37\text{ }^\circ\text{C}$ in a humidified atmosphere of 5% CO_2 . After

incubation, 125 μL of the control solution (fresh media with DMSO 0.5% v/v) or 125 μL the test solution [prepared with each stock solution of extracts (1 mg/mL) dissolved in DMSO (final concentration 0.5% v/v)] at several concentrations (7.8–250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) were added to cultured cells, and incubated for 24 h. Then, the cells were rinsed with PBS and 100 μL of MTT reagent [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide in PBS (5 mg/mL)] were added to each well and incubated for 30 min. MTT reagent was removed and 100 μl of isopropyl alcohol was added. The absorbance was measured at 595 nm in a microplate reader (BioTek ELx800). The Maximum non-Cytotoxic Concentration (MNCC, the concentration that the cells are maintained at 90% of viability) was determined (Santi et al. 2017).

2.11 Statistical analysis

All assays were independently performed in triplicate, and results were expressed as mean \pm SD of three separate experiments. In order to estimate the extract concentration that provided 50% inhibition (IC_{50}) in the different assays several concentrations of the extracts were evaluated according to the experiment. The IC_{50} values were calculated with the program Origin 8.0.

Statistical analysis was made with either one-way analysis of variance (ANOVA), Newman-Keuls multiple comparison tests, Bonferroni test or Turkey test, as appropriate. The values with $p < 0.05$ and $p < 0.001$ were considered statistically significant in each comparison realized.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Yield of dried extract and Total phenolic and flavonoid content

The *Dalea* dry weight extracts (**DE**) were expressed as g of **DE**/100 g of plant material, with the following yield: *D. pazensis*: 11%, *D. boliviana*: 10% and *D. leporina*: 1.5%.

Total phenolic and flavonoid contents of *Dalea* extracts were expressed in mg of gallic acid (mg GAE) or quercetin equivalents (mg QE) per g of **DE**, respectively. *D. boliviana* **DE** (**DEb**) presented the higher content of total polyphenolics (48 \pm 2 mg GAE/g DE) followed by *D. pazensis* **DE** (**DEp**: 33.73 \pm 0.1 mg GAE/g DE) and *D. leporina* **DE** (**DEl**: 17.2 \pm 0.2 mg GAE/g DE). Regarding the flavonoid content, **DEb** showed the major concentration of the three extracts (42.1 \pm 0.7 mg QE/g DE) followed by **DEp** and **DEl** (9.67 \pm 0.2 and 9.1 \pm 0.2 mg QE/g DE, respectively).

D. leporina showed the lowest polyphenol content and more than a 50% of them correspond to flavonoids.

Chemical studies on *Dalea* species, reported flavonoids as principal polyphenolic compounds (Peralta et al. 2019), but also geranyl stilbenes (Belofsky et al. 2004)

and condensed tannins (Peng et al. 2018). Prenylflavonoids have been described in several American *Dalea* species (Peralta et al. 2019). One of these compounds is the 8PP; therefore, we investigated its presence in the different **DE**.

3.2 Chemical analysis of 8PP in DE

8PP was identified by LC-MS-MS in the three **DE**. The retention times (Rt) for **DEb**, **DEp**, and **DEi** were 3.24, 3.23, and 3.20 respectively, coincident with the standard 8PP (Rt=3.19, Figure S2). The MRM analysis with the mass transitions m/z 423.3/229.1 and 423.3/193.0, indicated the presence of 8PP in the three extracts.

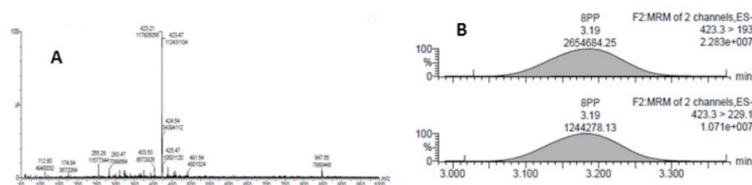


Figure 2. ESI-MS spectrum of 8PP (A); LC-MS/MS chromatogram in negative MRM mode with mass transitions m/z 423/193 and 423/229 (B)

Analyzing the area values for all extracts at m/z 423.3/193.0, **DEp** contained the highest concentration of 8PP and three-fold more than **DEb** and **DEi**, which showed a similar concentration of 8PP (Figure 3 and Table 1).

DE	Retention time (min)	Area
<i>D. boliviana</i>	3.24	5782438
<i>D. leporina</i>	3.20	4490108
<i>D. pazensis</i>	3.23	15378222

Table 1. LC-MS-MS Analysis of extracts from different *Dalea* species: *D. boliviana*, *D. leporina* and *D. pazensis*. 8PP (Rt=3.19, see supplementary material) was used as standart. MRM analysis with the mass transition m/z 423.3 > 193 was used in order to quantify the area that corresponds to 8PP in the three analyzed extract.

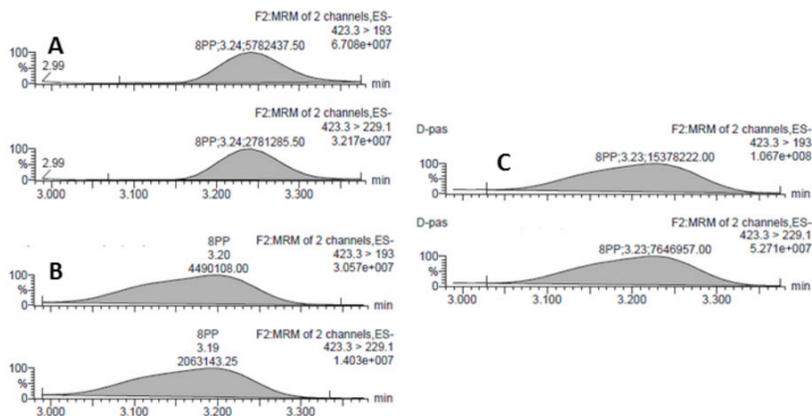


Figure 3. Representative MRM ion chromatograms resulting from the analysis of 8PP in the different **DE**. Mass transitions were m/z 423/193 and 423/229 for the detection of 8PP in **DEb** (A), **DEI** (B) and **DEp** (C), respectively.

Several studies have disclosed the presence of prenylflavonoids in *Dalea* genus. We previously suggested these metabolites as potential chemotaxonomic markers for *Dalea* genus, considering its narrow distribution limited to specified genera (Peralta et al. 2019).

8PP has been informed in six species of *Dalea* genus (Peralta et al. 2019). It's its first report in *D. boliviana* and *D. leporina*. Further chemical studies in other *Dalea* species, could provide information in order to propose 8PP as a potential chemical marker in this genus. Remarkably, 8PP is the most extensively studied in terms of its biological activities. So, we focused on the biological evaluation of DE according to the bioactivities reported for 8PP.

3.3 Antioxidant activity of the DE

3.3.1 Total Antioxidant Capacity by phosphomolybdenum assay

The total antioxidant capacity (TAC) of the three species and quercetin (Qt) was expressed as μg ascorbic acid equivalent (AAE)/weight of extract analyzed (Table S2). At 90 μg of extract, **DEb** displayed the highest level of TAC (36.2 ± 0.9 AAE), **DEp** and **DEI** showed lower capacities (17.9 ± 0.2 and 13.7 ± 0.2 AAE, respectively). Qt showed more antioxidant capacity than the three **DE**. Therefore the descending percentage order of TAC at 90 μg was Qt (100) > **DEb** (69.9) > **DEp** (41.2) > **DEI** (22.5).

DE ^{a,b}	Weight of each extract analyzed (μg)			
	90	50	25	10
<i>D. boliviana</i>	36.2 \pm 0.9 (69.9%)	14.9 \pm 0.5 (24.9%)	5.6 \pm 0.3 (5.4%)	3.5 \pm 0.1 (0.9%)
<i>D. pazensis</i>	17.9 \pm 0.2 (41.2%)	9.8 \pm 0.1 (19.5%)	5.73 \pm 0.08 (8.6%)	4.49 \pm 0.04 (5.3%)
<i>D. leporina</i>	13.7 \pm 0.2 (22.5 %)	7.6 \pm 0.4 (9.6 %)	4.2 \pm 0.1 (2.4%)	3.37 \pm 0.03 (0.7 %)
Quercetin	55.1 \pm 0.7 (100.0 %)	33.6 \pm 0.1 (69.7 %)	24.4 \pm 0.1 (43.7%)	13.1 \pm 0.1 (19.4%)

a- Expressed in μg of ascorbic acid equivalents/weight of extract analyzed.

b- Expressed in % of antioxidant potential with respect to ac. Ascorbic.

Table 2. Total antioxidant capacity (TAC) of different *Dalea* extracts (**DE**).

3.3.2 ABTS $\cdot+$ radical cation scavenging activity

ABTS activity was quantified in terms of IC_{50} value in each sample. **DEb** was the most efficient scavenger (IC_{50} 8.1 \pm 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) followed by **DEp** (IC_{50} 9.2 \pm 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($p < 0.05$). **DEi** proved the less efficient scavenger (IC_{50} 39.1 \pm 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($p < 0.001$). The ABTS activity for Qt, the reference inhibitor, was (IC_{50} 3.23 \pm 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($p < 0.001$).

3.3.3 Erythrocyte hemolysis assay

Erythrocytes hemolysis inhibition for the different **DE** was expressed as IC_{50} . All the extracts showed a dose-dependent inhibition. **DEb** was the most active with an IC_{50} of 25.5 \pm 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, comparable with the reference inhibitor, Qt (IC_{50} of 21.4 \pm 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$), followed by **DEp** (IC_{50} =37.6 \pm 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($p < 0.05$) and **DEi**, with the lowest activity (132.4 \pm 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($p < 0.001$). Thereby, **DEb** showed the best capacity to protect erythrocytes from AAPH oxidative damage, similar to quercetin, a powerful antioxidant reference.

All **DE** showed antioxidant activity. In this sense, previous report informed significant TAC and scavenging activity for 8PP (Elingold et al. 2008). Considering that 8PP is present in the three **DE**, it could collaborate, at least in part, with their antioxidant activity.

3.4 Tyrosinase Inhibition for *Dalea* extracts

Different **DE** showed important tyrosinase inhibition (Figure 4). **DEp** displayed the highest activity (IC_{50} 0.116 \pm 0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$), fourteen-fold more active than the positive control, KA (IC_{50} 1.711 \pm 0.004 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and **DEb** (IC_{50} =0.758 \pm 0.002 $\mu\text{g}/\text{mL}$) was two-fold more active than KA. **DEi** exhibited the IC_{50} of 10.80 \pm 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p < 0.05$)

(Figure 4).

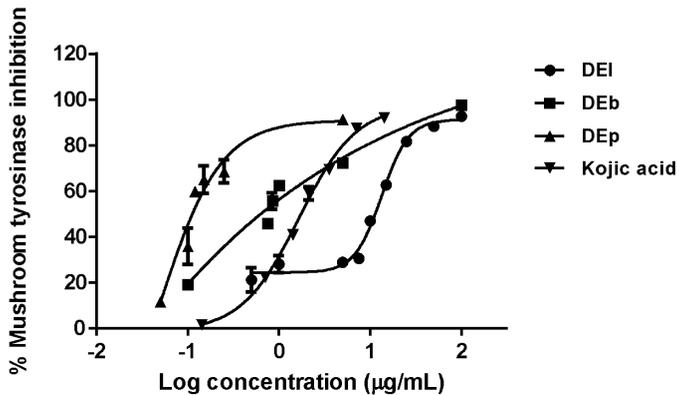


Figure 4. Concentration-dependent curve of mushroom tyrosinase inhibition of different *Dalea* extracts (DEI, *Dalea leporina*; DEb, *Dalea boliviana*; DEp, *Dalea pazensis*) and positive control kojic acid (N=3).

8PP, previously reported as an important tyrosinase inhibitor (Peralta et al. 2014; Santi et al. 2017), is present in the three **DE** evaluated. Its quantitative presence could be related to the inhibitory activity observed for each **DE**. **DEp** showed the major anti-tyrosinase activity, presenting a three-fold more quantity of 8PP compared with the other extracts (Table 1). Therefore, 8PP could be responsible, at least in part, for the activity of **DEp**. While **DEb** was ten-fold more active than **DEI** (Figure 4), the quantity of 8PP in both extracts was similar (Table 1). Other prenylflavanones from *D. boliviana* roots have been informed as anti-tyrosinase (Peralta et al. 2019). Hence, these compounds or others could collaborate with this activity for **DEb** and could explain the different IC_{50} observed for **DEb** and **DEI**.

3.5 Antifungal activity of *Dalea* extracts

Figure 5 shows the antifungal effect of *Dalea* extracts on azole-sensitive (RCa) and azole-resistant (RCa) *C. albicans* strains. *D. leporina* extract (**DEI**) was the most active at concentrations from 250 to 750 µg/mL ($p < 0.001$) with a MIC of 500 µg/mL while the MIC for *D. boliviana* (**DEb**) was 750 µg/mL against both strains. MIC for **DEp** was not observed even at the maximum concentration (750 µg/ml) in both strains (Figure 5). Fluconazole, the reference antifungal, exhibited MICs of 8 µg/ml and 32 µg/ml for SCa and RCa respectively, denoting the azole-resistance of RCa. Remarkably, the activity of **DEI** was similar in both strains indicating that the efflux mechanism of resistance in RCa did not affect this extract.

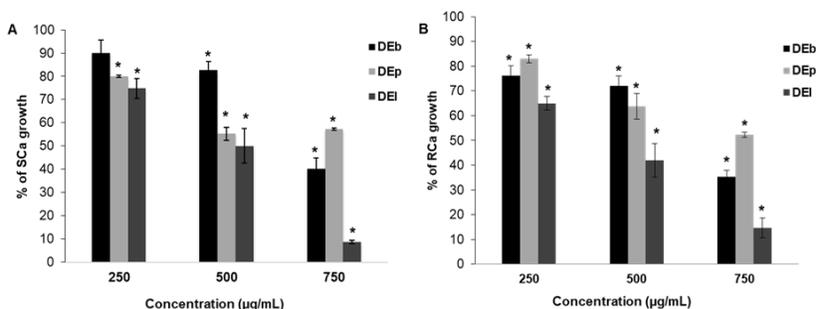


Figure 5. Antifungal effect of different *Dalea* extracts (**DEb**, *Dalea boliviana*; **DEp**, *Dalea pazensis* and **DEI**, *Dalea leporina*) against azole-sensitive (SCa) (**A**) and azole-resistant (RCa) (**B**) *C. albicans* strains. Error bars represent the standard deviation (SD) of triplicates of three independent experiments. * denote statistical significance at * $p < 0.001$ were considered significant for comparisons with growth control (non-treated).

The flavanone 8PP was extensively studied as antifungal against azole-resistant *C. albicans* (Peralta et al. 2012; Peralta et al. 2015; Barceló et al. 2017). We herein report the presence of 8PP in **DEI** however; other compounds present in this extract could be more active than 8PP. *D. leporina* deserves further chemical and microbiological studies to search new antifungals against resistant *C. albicans*.

3.6 Effect of Dalea extracts on J744 macrophage cell viability

The MNCC descending order on J774 cell line viability: **DEI** ($454 \pm 8 \mu\text{g/mL}$), **DEp** ($119 \pm 1 \mu\text{g/mL}$), and **DEb** ($110 \pm 1 \mu\text{g/mL}$), showing a concentration-effect dependent (Figure 6). Considering that these values were greater than the active concentrations observed for **DE** at the bioactivities evaluated, these MNCC values indicate not relevant cytotoxic effects in this cell line (Figure 6).

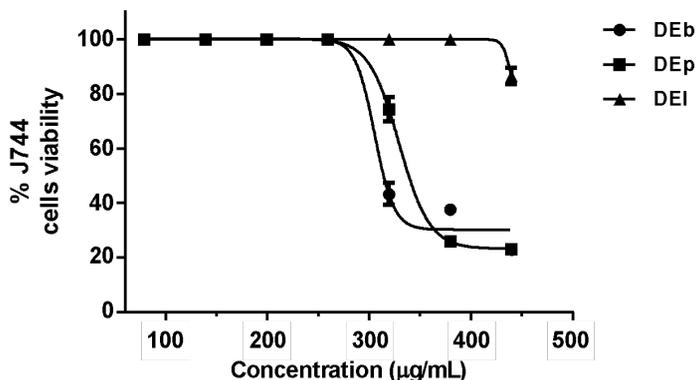


Figure 6. J744 cells viability after 24hs of treatment with **DE** of *Dalea* species (**DEI**, *Dalea leporina*; **DEb**, *Dalea boliviana*; **DEp**, *Dalea pazensis*). (N=3).

Previous investigations demonstrated the cytotoxic effect of 8PP on different cell lines (Elingold et al. 2008; Santi et al. 2017) and in an *in vivo* assay demonstrated an acceptable level of safety for this compound (Barceló et al. 2017). More *in vitro* and *in vivo* studies are necessary to support the safe human use of *Dalea* extracts.

4 | CONCLUSION

We herein present the chemical and biological investigation of hydroalcoholic extracts from three South American *Dalea* species: *D. leporina*, *D. boliviana*, and *D. pazensis*. We demonstrated the presence of the prenylated flavanone 8PP, previously informed in several *Dalea* species, in *D. leporina* and *D. boliviana* species. The antioxidant, antityrosinase and antifungal activities exhibited by these species and their low cytotoxicity *in vitro*, allowing us to propose them as important bioactive phytoconstituents, with potential application in industries such as food, pharmaceutical, or cosmetic.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. Guillermo Aldo Blanco and Dr. Ezequiel Alberto Falchi for their LC-MS/MS experiments assistance, Prof. Dr. Gloria Barboza for the species indentifications and biologist Pedro Tenorio Lezama for the permission to use the *Dalea leporina* image in the Graphical abstract. It must be cited as Pedro Tenorio Lezama-plantae mexicanae tenorianae.

FUNDING

This work was supported by ANPCyT BID PICT 1576, CONICET D32/10, SECYT-UNC (05/C375), MINCyT Cba PID 2010.

REFERENCES

- Barceló S, Peralta M, Calise M, Finck S, Ortega G, Diez RA, Cabrera JL, Pérez C. **Interactions of a prenylated flavonoid from *Dalea elegans* with fluconazole against azole-resistant *Candida albicans*.** *Phytomedicine*, 2017, p. 24–29.
- Belofsky G, French AN, Wallace DR, Dodson SL. **New Geranyl Stilbenes from *Dalea purpurea* with in Vitro Opioid Receptor Affinity.** *J Nat Prod.*, 2004, p. 26–30.
- CLSI. 2008. **Reference Method for Broth Dilution.** *Clin Lab Stand Inst [Internet]*. 3.
- Dai F, Miao Q, Zhou B, Yang L, Liu ZL. 2006. **Protective effects of flavonols and their glycosides against free radical-induced oxidative hemolysis of red blood cells.** *Life Sci*. 78:2488–2493.

Deardorff K, Ray W, Winterstein E, Brown M, McCornack J, Cardenas-Garcia B, Jones K, McNutt S, Fulkerson S, Ferreira D, et al. **Phenolic Metabolites of *Dalea ornata* Affect Both Survival and Motility of the Human Pathogenic Hookworm *Ancylostoma ceylanicum*.** J Nat Prod., 2016, p. 2296–2303.

Densmore F. **Strength of the earth: The classic guide to *Ojibwe* uses of native plants.** Minnesota. St. Paul. 2005.

Elingold I, Isollabella MP, Casanova MB, Celentano AM, Pérez C, Cabrera JL, Diez RA, Dubin M. **Mitochondrial toxicity and antioxidant activity of a prenylated flavonoid isolated from *Dalea elegans*.** Chem Biol Interact., 2008, p. 294–305.

Matkowski A, Piotrowska M. 2006. **Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae.** Fitoterapia. 77:346–353.

Peng K, Huang Q, Xu Z, McAllister TA, Acharya S, Mueller-Harvey I, Drake C, Cao J, Huang Y, Sun Y, et al. **Characterization of condensed tannins from purple prairie clover (*Dalea purpurea* Vent.) conserved as either freeze-dried forage, sun-cured hay or silage.** Molecules, 2018, p. 1–15.

Peralta MA, Calise M, Fornari MC, Ortega MG, Diez RA, Cabrera JL, Pérez C. **A prenylated flavanone from *Dalea elegans* inhibits rhodamine 6 G efflux and reverses fluconazole-resistance in *Candida albicans*.** Planta Med., 2012, p. 981–987.

Peralta MA, Santi MD, Agnese AM, Cabrera JL, Ortega MG. **Flavanoids from *Dalea elegans*: Chemical reassignment and determination of kinetics parameters related to their anti-tyrosinase activity.** Phytochem Lett., 2014, p. 260–267.

Peralta MA, Santi MD, Cabrera JL, Ortega MG. ***Dalea* Genus, Chemistry, and Bioactivity Studies.** 1st ed.: Elsevier B.V. 2019.

Peralta MA, da Silva MA, Ortega MG, Cabrera JL, Paraje MG. **Antifungal activity of a prenylated flavonoid from *Dalea elegans* against *Candida albicans* biofilms.** Phytomedicine, 2015, p. 975–80.

Prieto P, Pineda M, Aguilar M. 1999. **Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E.** Anal Biochem. 269:337–341.

Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin JC, Bailleul F, Trotin F. 2000. **Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour.** J Ethnopharmacol. 72:35–42.

Re R, Pellegrini N, Proteggenete A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. **Trolox ASSAY.** Int Antioxid Res Centre, Guy's, King's St Thomas' Sch Biomed Sci Kings Coll Campus, London SE1 9RT, UK. 26: Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, Nos. 9/1.

Santi MD, Peralta MA, Mendoza CS, Cabrera JL, Ortega MG. **Chemical and bioactivity of flavanones obtained from roots of *Dalea pazensis* Rusby.** Bioorganic Med Chem Lett., 2017, p. 1789-1794.

White TC, Holleman S, Dy F, Mirels LF, Stevens DA. 2002. **Resistance Mechanisms in Clinical Isolates of *Candida albicans*.** Antimicrob Agents Chemother. 46:1704–1713.

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DEGRADAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DE EFLUENTES LÁCTEOS POR LEVEDURAS

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 07/07/2020

Júlia Antunes Tavares Ribeiro

Universidade Federal São João Del-Rei,
Campus Centro-Oeste
Divinópolis – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/5667044144537842>

José Antônio da Silva

Universidade Federal São João Del-Rei,
Campus Centro-Oeste
Divinópolis – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/1630100878492432>

Paulo Afonso Granjeiro

Universidade Federal São João Del-Rei,
Campus Centro-Oeste
Divinópolis – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/3487127981793274>

Daniel Bonoto Gonçalves

Universidade Federal São João Del-Rei,
Campus Centro-Oeste
Divinópolis – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/9626156925715316>

RESUMO: Um dos maiores problemas ambientais atuais é a grande quantidade de águas residuais provenientes das indústrias. A alimentícia, por exemplo, é a que mais consome água e gera efluentes, que muitas vezes não recebem o devido tratamento antes de retornarem ao corpo hídrico. As indústrias de produtos lácteos são uma grande preocupação por

produzirem efluentes com alta carga poluidora, o que resulta em uma ameaça ambiental. A maior parte do efluente de laticínios é relacionada aos subprodutos da produção de queijos, como os soros de queijo ou de ricota. Com o intuito de reduzir a carga orgânica proveniente dessas águas residuais antes de chegarem na estação de tratamento, ou antes de serem despejadas no corpo receptor, foram estudados bioprocessos utilizando-se leveduras dos gêneros *Candida* sp., *Rhodotorula* sp., *Kluyveromyces* sp. e analisadas suas capacidades de degradação dos poluentes orgânicos presentes no soro de ricota. Os bioprocessos ocorreram em fermentações aeróbias com agitação de 150 rpm, por 48 horas à 28°C quando se cultivou *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp. e à 37°C quando se cultivou *Kluyveromyces* sp. Foram dosados o açúcar redutor e as proteínas totais do soro de ricota, antes e após o bioprocessos. *Candida* sp. reduziu em 7,22% o teor de açúcar redutor e 39% de proteínas totais, enquanto *Rhodotorula* sp. aumentou em 36% o teor de açúcar redutor e reduziu em 47,5% as proteínas totais. *Kluyveromyces* sp., por sua vez, consumiu ao final do bioprocessos 90% do açúcar redutor presente no soro de ricota. Sendo assim, os resultados obtidos neste trabalho atestam o potencial biotecnológico de aplicação da *Kluyveromyces* sp. em bioprocessos para degradação hidrolítica da lactose e da *Rhodotorula* sp. em bioprocessos para degradação de proteínas. Contudo, a *Candida* sp., se mostrou ineficiente para degradação dos principais compostos poluentes presente no soro de ricota das indústrias lácteas.

PALAVRAS-CHAVE: Biodegradação; efluentes

lácteos; leveduras; *Kluyveromyces*; *Rhodotorula*.

CAPACITY EVALUATION OF THE ORGANIC MATTER DEGRADATION OF DAIRY EFFLUENTS BY YEAST

ABSTRACT: One of the biggest environmental problems today is the large amount of wastewater from industry. Food, for example, is the one that consumes the most water and generates effluents, which often do not receive the proper treatment before returning to the water body. The dairy industries are a major concern for producing effluents with a high polluting load, which results in an environmental threat. Most of the dairy effluent is related to by-products of cheese production, such as cheese or ricotta whey. In order to reduce the organic load from these wastewater before reaching the treatment plant, or before being dumped into the receiving body, bioprocesses were studied using yeasts of the genera *Candida* sp., *Rhodotorula* sp., *Kluyveromyces* sp. and their degradation capacities of the organic pollutants present in the ricotta serum were analyzed. Bioprocesses occurred in aerobic fermentations with agitation of 150 rpm, for 48 hours at 28 ° C when *Candida* sp. and *Rhodotorula* sp. and at 37 ° C when *Kluyveromyces* sp. Reducing sugar and total proteins of ricotta whey were measured before and after the bioprocess. *Candida* sp. reduced by 7.22% the content of reducing sugar and 39% of total proteins, while *Rhodotorula* sp. increased the reducing sugar content by 36% and reduced total proteins by 47.5%. *Kluyveromyces* sp., in turn, consumed 90% of the reducing sugar present in the ricotta serum at the end of the bioprocess. Thus, the results obtained in this work attest to the biotechnological potential of applying *Kluyveromyces* sp. in bioprocesses for hydrolytic degradation of lactose and *Rhodotorula* sp. in bioprocesses for protein degradation. However, *Candida* sp., proved to be inefficient for degradation of the main pollutant compounds present in the ricotta whey of dairy industries.

KEYWORDS: Biodegradation; dairy effluents; yeasts; *Kluyveromyces*; *Rhodotorula*.

1 | INTRODUÇÃO

Os efluentes industriais, de um modo geral, são uma das maiores preocupações ambientais, tanto pela quantidade quanto pela qualidade com que ele chega aos corpos hídricos. Os relacionados com indústrias de laticínios se destacam nestes dois parâmetros. Além de utilizar grande quantidade de água nas etapas de processamento seu efluente possui altas taxas de matéria orgânica e sólidos solúveis que interferem diretamente na alta demanda química e bioquímica de oxigênio (DQO e DBO) (MENDES *et al.*, 2006).

As águas residuais de laticínios, no geral, não possuem produtos tóxicos convencionais, porém toda essa carga orgânica e alto nível de nutrientes, propiciam o crescimento de algas e cianobactérias que levam a eutrofização dos corpos hídricos receptores, quando despejados sem o devido tratamento (BHATTACHARYA *et al.*, 2019). As altas concentrações de matérias orgânica podem ser tóxicas para algumas

espécies de peixes e algas (SHETE e SHINKAR, 2013).

O soro de ricota, soro secundário ou Scotta como é também conhecido mundialmente, é o principal subproduto obtido através da produção do queijo ricota (DE GIORGI *et al.*, 2018). Ele se dá por meio da adição do soro de queijo com soro ácido, cerca de 10% do valor total de leite fresco e solução ácida de sais. Aquecido a temperatura de aproximadamente 85-90°C por cerca de 25 minutos, para que ocorra a precipitação das proteínas do soro. Assim, porção sólida é moldada para obtenção do queijo e a parte líquida, a Scotta, se torna um resíduo se não for utilizado, com alto potencial poluidor e valores de DBO e DQO de 50g.L⁻¹ e 80g.L⁻¹, respectivamente (SANSONETTI *et al.*, 2009). Mesmo com a floculação e aglomeração das proteínas, gorduras e sólidos suspensos presentes neste soro, a parte líquida ainda mantém altas concentrações de lactose, assim como no soro de queijo. Assim, quando produzida em escala industrial, aumenta-se o volume gerado do soro da ricota, tornando-o um potencial poluidor, de forma que se lançado em corpos hídricos sem tratamento prévio podem causar grave problema ambiental (CARVALHO *et al.*, 2013). São necessário de 15 a 20 litros de soro de queijo para produzir 1kg de ricota e gerados de 14 a 19 litros de soro de ricota (PINTADO *et al.*, 2001).

Os teores dos componentes são variáveis de acordo com a composição não apenas do soro de queijo mas do leite adicionado na produção da ricota. Além disso, a planta de produção interfere significativamente na composição dos produtos, algumas peculiaridades alteram de empresa para empresa (MONTI *et al.*, 2018). O soro de ricota contém aproximadamente 0,15% - 0,22% de proteínas, 1% - 1,13% de sais e 4,8% - 5% de lactose (SANSONETTI *et al.*, 2009).

Resultante de dois processos consecutivos de produção de queijo, o soro de ricota sofre interferência na sua composição química. Apesar de manter elevado o teor de lactose, que é responsável pela grande parte da matéria seca, as altas temperaturas da qual é exposto e a adição de sal e ácido fazem com que o teor de nitrogênio reduza e a quantidade de cinzas aumente, quando comparado ao soro de queijo (MONTI *et al.*, 2018).

Os efluentes da indústria de laticínio são considerados biodegradáveis. Por esse fato, geralmente os tratamentos são feitos pelo método biológico, tendo em vista o depósito de considerável matéria orgânica de fácil degradação (POKRYWIECKI *et al.*, 2013). Além disso, os métodos biológicos são preferidos pois os métodos físico-químicos exigem reagentes de alto custo e remoção limitada de DQO (CHANDRA *et al.*, 2018).

Pelo fato de a maioria das espécies de leveduras não apresentarem patogenicidade para humanos e animais e possuírem uma diversidade de propriedades, seu uso em processos biotecnológicos tem sido cada vez maior (JOHNSON e ECHAVARRI-ERASUN, 2011). Suas características metabólicas designam a maioria

de suas aplicações. Nesse contexto muito se tem pesquisado acerca de sua utilização em processos de biorremediação e biodegradação de poluentes (JOHNSON, 2013).

Com o objetivo de avaliar a capacidade de degradação da matéria orgânica presente no soro de ricota, que é um dos principais efluentes das indústrias de laticínios, foram realizados bioprocessos utilizando 3 três espécies de leveduras, *Candida* sp., *Rhodotorula* sp. e *Kluyveromyces* sp. e analisados a dosagem de açúcar redutor e proteínas totais antes e após a fermentação.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Microrganismos

As leveduras *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp., foram obtidas na Coleção de Microrganismos do Laboratório de Processos Biotecnológicos e Purificação de Macromoléculas da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro Oeste, Divinópolis, Minas Gerais.

A linhagem da levedura *Kluyveromyces* sp., foi gentilmente cedida pelo Laboratório de Biotecnologia de Microrganismos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa.

2.2 Meio de cultivo

O pré-cultivo das leveduras *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp. ocorreu em meio caldo Sabouraud (glicose 40 g.L⁻¹, peptona 10 g.L⁻¹ e ágar 20 g.L⁻¹) por 48 horas, 150 rpm a 28 °C. As fermentações aeróbicas no soro de ricota ocorreram sob as mesmas condições.

O pré-cultivo da *Kluyveromyces* sp. foi realizado em meio completo YPD 2% de lactose a 37°C, com agitação de 150 rpm por 12 horas. As fermentações aeróbicas no soro de ricota ocorreram sob as mesmas condições, por 48 horas.

O soro de ricota utilizado no bioprocessos foi disponibilizado por uma indústria de laticínios de pequeno porte da cidade de Carmo do Cajuru, MG. Foi coletado assim que resfriado da dessoragem da ricota e esterilizado em até 24 horas após a coleta. Para padronização, cerca de cinco amostras foram coletadas e analisadas.

2.3 Métodos analíticos

As dosagens de açúcar redutor e proteínas totais foram realizadas em amostras de antes da inoculação e amostras após o bioprocessos. Ao final das 48h, as alíquotas foram centrifugadas a 3500 xg por 10 minutos e o sobrenadante usado para a dosagem do consumo de substrato.

Para dosagem de açúcar redutor foi utilizada a técnica de DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) (MILLER, 1959). Uma curva de calibração com diferentes

concentrações de glicose foi feita para correlacionar com as amostras. Em um termociclador Veriti, Applied Biosystems, 50 μL da amostra foi adicionada a 150 μL do reagente DNS e rodou em três ciclos pré-programados, 30 segundos a 30°C, logo após aquecido a 95°C por 5 minutos e resfriado a 4°C por 10 minutos. Finalizado o processo, 100 μL da reação foi transferido para microplaca de fundo cilíndrico contendo 100 μL de água deionizada. A absorbância foi determinada a 540nm com agitação de 10 segundos em leitora de microplacas VersaMax™ / Molecular Devices. Quando necessário, as amostras foram diluídas.

A fim de quantificar as proteínas totais, as análises foram realizadas através do método com o Reagente Bradford (BRADFORD, 1976). Assim, 100 μL da amostra foi diluída em 400 μL de água deionizada e à mistura foi adicionado 4,5mL do reagente Bradford em tubo de ensaio, agitado em vórtex por alguns segundos e repousado por 10 minutos em ambiente escuro. A leitura foi feita no espectrofotômetro UV/Vis Biochrom Libra S12 a 595nm. A quantificação das proteínas totais foi relacionada de acordo com uma curva padrão feita com albumina de soro bovino (BSA) e os valores dados em $\mu\text{g/mL}$ (ZAIA *et al.*, 1998).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie de levedura *Candida* sp. de um modo geral, reduziu em 7,22% o açúcar redutor durante as 48 horas de bioprocessamento (Tab. 1). Esse resultado encontrado demonstra um valor na redução de açúcar redutor muito abaixo daqueles microrganismos assimiladores de lactose encontrados na literatura, como citado por Sansonetti e colaboradores (2009), que observaram o consumo completo em 13 horas de bioprocessamento. Segundo Halawi e colaboradores (2020), há espécies de *Candida* sp. e subespécies sinônimas que são conhecidas nas indústrias alimentícias por produzirem a lactase neutra. Porém, algumas espécies de *Candida* sp. não possuem os genes LAC12 e LAC4 responsáveis pelo transporte e permease da lactose e não produzem a enzima β -galactosidase (KURTZMAN, 2011). De forma semelhante, Sreemoyee e Priti (2013) relataram uma redução significativa (67,1%) nos níveis de DQO de águas residuais de laticínios utilizando *Niesseria* sp., uma espécie também LAC negativa, ou seja, incapaz de crescer em lactose, mas degradadora de compostos orgânicos como nitrato.

Também Keffala e colaboradores (2017), relataram uma redução máxima de 67% na DQO de águas residuais de laticínios utilizando cepas *C. albicans* em 25 dias. Neste mesmo estudo, avaliaram a redução de açúcar total e proteínas por consórcios de bactérias (*Lactobacillus* spp.) e leveduras (*Candida* spp.) e observaram que a maior redução de açúcar total ocorreu no consórcio de leveduras, totalizando 87% com 10% de inóculo, contudo a maior redução do conteúdo proteico foi relatada no

consórcio de bactérias, apresentando um total de 78%, apenas 2% a mais do que a redução de proteínas por leveduras.

Podemos explicar a redução de 39% das proteínas totais do soro de ricota ao final do bioprocesso, chegando a 8,32 $\mu\text{g/mL}$ na dosagem final, como a fonte de nutrientes utilizado pela da *Candida* sp. para o crescimento (Tab. 2).

Ao final das 48 horas de bioprocesso com a levedura *Rhodotorula* sp., foi observada um aumento de cerca de 36% no teor de açúcares redutores, que chegou a 14,24 g.L^{-1} (Tab. 1). As proteínas totais presentes no soro de ricota, por sua vez sofreram redução em aproximadamente 47,5%, chegando a 7,37 $\mu\text{g/mL}$ após 48 h de cultivo (Tab. 2). Este resultado pode ser comparado com os relatados por Kot e colaboradores (2015), onde *R. glutinis* foi capaz de metabolizar e reduzir substâncias proteicas em 61% em águas residuais de batata. Pode-se explicar a redução de proteínas totais, como sendo a principal fonte de nutrientes para o crescimento da levedura *Rhodotorula* sp., mesmo o soro de ricota contendo lactose como principal carboidrato e fonte de carbono. Isso porque, conforme observado por Janda e Hedenstrsm (1974) e posteriormente por Aksu e Eren (2007) a *R. glutinis*, dificilmente cresce em meio que contenha lactose, por não possuir a capacidade de assimila-la.

Dentre os microrganismos capazes de assimilar lactose a levedura do gênero *Kluyveromyces* sp. se destaca, tanto por suas características fisiológicas quanto pela capacidade de sintetizar bioprodutos como a produção das enzimas hidrolíticas (DE SOUZA JÚNIOR *et al.*, 2001).

Simultaneamente ao crescimento microbiano, houve uma redução na concentração de lactose de 36,0 g.L^{-1} no início do bioprocesso para 3,54 g.L^{-1} ao final do bioprocesso, totalizando em 90% a redução do teor de lactose (Tab.1).

Por se tratar de um microrganismo presente no leite, *Kluyveromyces* sp. é adaptada para a utilização eficiente do principal açúcar presente no soro, a lactose. Possui os dois genes necessários para sua utilização, o LAC12 que codifica β -galactosidase e permite a internalização do açúcar, e o LAC4 que catalisa a hidrólise da lactose em glicose e galactose (RUBIO-TEIXEIRA, 2006). Segundo Santos e colaboradores (2014), a repressão da glicose em algumas espécies de *Kluyveromyces* sp. está diretamente relacionada ao transporte e permeasse da lactose, contudo a glicose não inativa o sistema transportador de lactose.

O uso de microrganismos presentes no nicho em questão, para biodegradação pode ser vantajoso ao ser usado como técnica de bioaugmentação, uma vez que já estão adaptados ao ambiente e podem trabalhar em sincronia com microrganismos indígenas (KEFFALA *et al.*, 2017).

Levedura	Açúcar redutor inicial (g.L⁻¹)	Açúcar redutor final (g.L⁻¹)	Resultado (%)
<i>Candida</i> sp.	17,99	16,69	- 7,22
<i>Rhodotorula</i> sp.	10,48	14,24	+ 36,0
<i>Kluyveromyces</i> sp.	36,0	3,54	- 90,0

Tabela 1 – Dosagem de açúcar redutor antes e após o bioprocesso

Fonte: acervo próprio

Levedura	Proteínas totais inicial (µg/mL)	Proteínas totais final (µg/mL)	Resultado (%)
<i>Candida</i> sp.	13,53	8,32	- 39,0
<i>Rhodotorula</i> sp.	14,08	7,37	- 47,5

Tabela 2 – Dosagem de proteínas totais antes e após o bioprocesso

Fonte: acervo próprio

Estes estudos foram preliminares para avaliação da capacidade de redução dos principais componentes orgânicos poluidores presentes no soro de ricota, no entanto, com a otimização do processo e/ou adição de suplementos é possível melhorar os resultados.

4 | CONCLUSÃO

O presente trabalho avaliou a capacidade de diferentes cepas de leveduras atuarem como catalisadores no processo de biorremediação das principais fontes de poluição e sobrecarga orgânica dos efluente industriais de laticínios. Os resultados obtidos neste trabalho atestam o potencial biotecnológico de aplicação da *Kluyveromyces* sp. em bioprocessos para degradação hidrolítica da lactose e da *Rhodotorula* sp. em bioprocessos para degradação de proteínas. Contudo, a *Candida* sp., se mostrou ineficiente para degradação dos principais compostos poluentes presente no soro de ricota das indústrias lácteas. São necessários estudos posteriores para otimização do bioprocesso.

REFERÊNCIAS

AKSU, Z.; EREN, A.T. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. **Biochemical Engineering Journal**. 35:107-113, 2007.

BHATTACHARYA, R.; KUNDU, P.; MUKHERJEE, J.; MUKHERJEE, S. Kinetics Study of a Suspended Growth System for Sustainable Biological Treatment of Dairy Wastewater. In: **Environmental Biotechnology For Soil and Wastewater Implications on Ecosystems**. Springer, Singapore, 2019. p. 15-20.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A. R.; RIVAS, J.. Cheese whey wastewater: characterization and treatment. **Science of the total environment**, v. 445, p. 385-396, 2013.

CHANDRA, R., CASTILLO-ZACARIAS, C., DELGADO, P. & PARRA-SALDIVAR, R. A biorefinery approach for dairy wastewater treatment and product recovery towards establishing a biorefinery complexity index. **Journal of Cleaner Production**, 183, 1184-1196. 2018.

DE GIORGI, S.; RADDADI, N.; FABBRI, A.; TOSCHI, T.G.; FAVA, F. Potential use of ricotta cheese whey for the production of lactobionic acid by *Pseudomonas taetrolens* strains. **New biotechnology**, v. 42, p. 71-76, 2018.

DE SOUZA JÚNIOR, C. G.; LEDINGHAM, W. M.; DE MORAIS JÚNIOR, M. A. Utilisation of cheese whey as an alternative growth medium for recombinant strains of *Kluyveromyces marxianus*. **Biotechnology letters**, v. 23, n. 17, p. 1413-1416, 2001.

HALAWI, M. H. *et al.* First Case of Identification of *Candida kefyr* and *Pichia kluyveri* in **Lebanese Water. Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 3, p. 1-11, 2020.

JANDA, S., HEDENSTROM, M. von. Uptake of disaccharides by the aerobic yeast *Rhodotorula glutinis*. **Archives of Microbiology**, 101(1), 273-280, 1974.

JOHNSON, E. A. Biotechnology of non-Saccharomyces yeasts- the ascomycetes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.97, p.503-517, 2013.

JOHNSON, E. A .; ECHAVARRI-ERASUN, C. Biotechnology yeast. In: **The yeasts**. Elsevier, 2011. p. 21-44.

KEFFALA, C.; ZOUHIR, F.; ABDALLAH, K. B. H.; KAMMOUNET, S. Use of bacteria and yeast strains for dairy wastewater treatment. **International Journal of Research in Engineering and Technology**, v. 6, n. 4, p. 108-113, 2017.

KOT, A. M.; BŁAŻEJAK, S.; KURCZ, A.; GIENKA, I. Biodegradation of deproteinized potato wastewater and glycerol during cultivation of *Rhodotorula glutinis* yeast. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 6, p. 428-432, 2015.

KURTZMAN, C.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, Teun (Ed.). **The yeasts: a taxonomic study**. Elsevier, 2011.

MENDES, A. A.; PEREIRA, E. B.; CASTRO, H. F. de. Biodegradação de águas residuárias de laticínios previamente tratadas por lipases. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 2, p. 143-149, 2006.

MILLER, G. L. Modified DNS method for reducing sugars. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MONTI, L., DONATI, E., ZAMBRINI, A. V., & CONTARINI, G. Application of membrane technologies to bovine Ricotta cheese exhausted whey (scotta). **International Dairy Journal**, 85, 121–128. 2018.

PINTADO, M. E.; MACEDO, A. C.; MALCATA, F. X. Review: Technology, Chemistry and Microbiology of Whey Cheeses. **Food Science and Technology International**, London, v. 7, p.105-116, 2001.

POKRYWIECKI, T. S.; GUMY, M. P.; TONIAL, I. B.; POKRYWIECKI, J. C. Avaliação do processo de tratamento de efluentes de laticínios Evaluation of treatment process of dairy effluent. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 11, p. 155-161, 2013.

RUBIO-TEXEIRA M. Endless versatility in the biotechnological applications of *Kluyveromyces* LAC genes. **Biotechnology Advances** . Vol. 24. pp. 212– 225, 2006.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRO, V. IORIO, G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n.12, p. 1687-1692, 2009.

SANTOS, A. M. dos; SILVEIRA, W. B.; FIETTO, L. G.; BRANDÃO, R. L.; CASTRO, I. M. Kinetics and regulation of lactose transport and metabolism in *Kluyveromyces lactis* JA6. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 7, p. 1977-1983, 2014.

SHETE, B. S., SHINKAR, N. P. Dairy industry wastewater sources, characteristics & its effects on environment. **International Journal of Current Engineering and Technology**, 3, 1611-1615. 2013.

SREEMOYEE, C.; PRITI, P. Assessment of physico-chemical parameters of dairy waste water and isolation and characterization of bacterial strains in terms of cod reduction. **Int J Sci**, v. 2, n. 3, p. 395-400, 2013.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química Nova** – 21 (6): 787 – 793, 1998.

CAPÍTULO 14

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS SOBRE ISOLADOS DE *Alternaria solani*, CAUSADOR DA PINTA PRETA NO TOMATEIRO

Data de aceite: 23/09/2020

Jonas Onis Pessoa

<http://lattes.cnpq.br/5424429942918579>

Felipe José Mesch

<http://lattes.cnpq.br/4264261491859513>

Maria José Correá Guzmán

<http://lattes.cnpq.br/9829685441086952>

Relatório final de atividades do aluno de iniciação científica (IC) PIBIC/UFPE/CNPq. Refere-se às atividades realizadas no período de Janeiro 2017 a Julho 2018.

RESUMO: O uso indiscriminado de fungicidas tem causado danos ao meio ambiente, aos seres vivos e tem favorecido a seleção de raças resistentes de patógenos a estes produtos químicos. Sendo assim, a utilização do manejo alternativo de doenças é indicado para reduzir o uso de tais produtos. Os compostos secundários presentes em plantas podem desempenhar funções importantes em interações planta-patógeno através de ação antimicrobiana direta desses compostos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) no crescimento micelial e esporulação de isolados de *Alternaria solani*, onde os fungos serão coletados de plantas de tomate que apresentarem sintomas da doença. Serão utilizadas alíquotas de 0, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 μ L do óleo. O experimento será montado

em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. A análise estatística será realizada utilizando-se o programa SASM-Agri, por meio do teste ANOVA e Análise de Regressão quando significativo

PALAVRAS-CHAVE: Tomate, pinta preta, controle alternativo.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM PLANTS ON ISOLATES OF *Alternaria solani*, CAUSATION OF DARK SPOTS IN THE TOMATO

ABSTRACT: The indiscriminate use of fungicides has caused damage to the environment, to living beings and has favored the selection of breeds resistant to pathogens to these chemicals. Therefore, the use of alternative disease management is indicated to reduce the use of such products. The secondary compounds present in plants can play important roles in plant-pathogen interactions through the direct antimicrobial action of these compounds. Thus, the present work aims to evaluate the antifungal activity of eucalyptus essential oil (*Eucalyptus globulus*) in the mycelial growth and sporulation of *Alternaria solani* isolates, where fungi will be collected from tomato plants that show symptoms of the disease. Aliquots of 0, 5, 10, 20, 30, 40 and 50 μ L of the oil will be used. The experiment will be set up in a completely randomized design with five replications. The statistical analysis will be performed using the SASM-Agri program, using the ANOVA test and Regression Analysis when significant

KEYWORDS: Tomato, dark spot tomato, alternative control.

1 | INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas da agricultura para o homem é a busca de um meio eficiente no controle de pragas e doenças. O principal método até então utilizado é através do uso de compostos químicos sintéticos que, apesar de sua significativa contribuição para a produção agrícola, o uso intensivo e indiscriminado destes produtos vem favorecendo o surgimento de pragas secundárias e mais resistentes. Além de poluírem o ambiente, são nocivos à saúde humana e animal devido à alta toxicidade. Também causam desequilíbrio biológico com a eliminação de organismos benéficos e a redução da biodiversidade (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Com o intuito de reduzir os efeitos negativos do uso dessas substâncias químicas e aumentar a produção de alimentos de melhor qualidade, têm-se buscado novas medidas de proteção das plantas contra as doenças. Assim, o desenvolvimento de métodos alternativos ao emprego de defensivos químicos é fundamental não somente para beneficiar a produção agrícola, como para evitar ou reduzir os efeitos nocivos causados ao ser humano e meio ambiente. Segundo Cruz (2003), essa necessidade de alimentos mais saudáveis, tem direcionado pesquisadores à busca de produtos alternativos aos produtos químicos. Diversos trabalhos demonstram um potencial no controle de fitopatógenos através de extratos brutos aquosos e óleos essenciais de plantas medicinais e de espécies florestais (BONALDO et al., 2004).

O tomate é a hortaliça com maior volume de comercialização no Brasil, com cerca de 3,73 milhões de toneladas por ano em uma área de cultivo de cerca de 58,5 mil hectares. Anualmente, gera cerca de 1,5 bilhões de reais e envolve diretamente mais de 200 mil pessoas na produção. (GRUPO DE COORDENAÇÃO DE ESTATÍSTICAS AGROPECUÁRIAS – GCEA, 2017). A pinta preta, causada por *Alternaria solani*, é uma das mais importantes e frequentes doenças fúngicas da cultura do tomateiro no Brasil. Apresenta alto potencial destrutivo incidindo sobre folhas, hastes, pecíolos e frutos, ocasionando elevados prejuízos econômicos (Kurozawa & Pavan, 2005). Atualmente, as medidas de controle se baseiam no uso de produtos químicos, pois as variedades tradicionalmente cultivadas são suscetíveis ao patógeno (Vale et al., 2016).

Pesquisas desenvolvidas com extrato bruto ou óleo essencial, obtidos de plantas medicinais, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta quanto por alterações fisiológicas na planta, como indução de enzimas relacionadas à patogênese e fitoalexinas, lignificação da folha, entre outras (Stangarlin et al., 1999; Schwan-Estrada & Stangarlin, 2005). Exemplos de controle de doenças de plantas com extrato vegetais são verificados em diversos trabalhos, onde pesquisas confirmaram que o extrato de *Cymbopogon citratus* a

10% inibiu completamente o crescimento *in vitro* de vários patógenos causadores de podridão radicular em feijoeiro (Valarini et al., 1994); o controle da mancha marrom (*Bipolaris sorokiniana*) em trigo usando extrato de *Artemisia camphorata* (Franzener et al., 2003); da pinta preta (*A. solani*) em tomateiro por extrato de *Curcuma longa* (Balbi-Peña et al., 2006b), entre outros.

2 | OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar o efeito antifúngico dos óleos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), melaleuca (*Melaleuca quinquenerviana*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) no controle do fungo causador da pinta preta do tomate em condições *in vitro*

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do fungo *Alternaria solani*, em diferentes concentrações dos óleos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), melaleuca (*Melaleuca quinquenerviana*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*).

3 | METODOLOGIA DO TRABALHO

As atividades deste projeto foram conduzidas no Laboratório de Cultura de Tecidos nas dependências do Instituto Federal do Amazonas, Campus Tabatinga. Os óleos essenciais de eucalipto (*E. globulus*), melaleuca (*M. quinquenerviana*), citronela (*C. winterianus*) e cravo-da-índia (*S. aromaticum*), utilizados no desenvolvimento do trabalho foram adquiridos comercialmente.

3.1 Obtenção do fungo fitopatogênico

Os isolados foram obtidos de plantas de tomate que apresentavam os sintomas típicos de pinta preta. As coletas foram realizadas em pequenos produtores na região de Tabatinga onde a pinta preta ocorre com elevada incidência e severidade devido aos fatores climáticos e ambientais serem favoráveis para o desenvolvimento da doença. Para o isolamento do fungo foi realizado os seguintes procedimentos: após as etapas rotineiras de limpeza e desinfestação do material com sintomas da doença, fragmentos da região de transição, entre a lesão e os tecidos sadios foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-água/BDA e, em seguida, incubados a 25°C, sob alternância luminosa fornecida por lâmpadas fluorescentes, (12h de claro/ 12 h de escuro), até o crescimento do fitopatógeno.

Após o crescimento das colônias, estas foram então repicadas para placas de Petri contendo BDA, para obtenção da cultura pura e confirmação do patógeno através da verificação dos esporos em microscópio óptico.

3.2 Crescimento micelial in vitro

Nesse ensaio, os óleos essenciais das diferentes plantas, foram adicionados ao meio de cultura BDA nas seguintes concentrações 0,01%; 0,05%; 0,1%; 0,15% e 0,2%, e em seguida o meio foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. A testemunha consistia em um disco do fungo cultivado somente em meio BDA. Para avaliação das diferentes concentrações dos óleos essenciais no crescimento micelial do fungo de *Alternaria solani*, foram transferidos para o centro de cada placa de Petri um disco de meio de cultura (7 mm de diâmetro) contendo propágulos do fungo com cinco dias de idade. Em seguida, as placas foram incubadas em condições de alternância luminosa com temperatura de 25°C. Com o auxílio de uma régua, 24 horas após a repicagem dos fungos, a avaliação foi realizada através de medições diárias, em cm, das colônias do fungo em sentidos ortogonais (x e y), onde foi avaliado o crescimento micelial. O experimento perdurou até o momento em que as colônias fúngicas de algum dos tratamentos cobrissem cerca de 2/3 da superfície do meio de cultura (BONALDO et al., 2004). Após a coleta das medidas em centímetros das ortogonais (x e y), foi obtido o crescimento micelial a partir da fórmula: $CM=(X+Y)/2-D$ Onde: CM = Crescimento micelial; X = Crescimento do fungo na horizontal (cm); Y = Crescimento do fungo na vertical (cm); D = Diâmetro do furador de rolha (cm). Os resultados do crescimento micelial obtidos foram utilizados de base para a determinação do índice de crescimento micelial, onde foi seguido o método descrito por Yoshimura et al. (2004). Os resultados foram dados em porcentagem de inibição do crescimento micelial, em relação à testemunha através da seguinte fórmula: $I=100-(100 \cdot F)/T$ Em que: I = Porcentagem de inibição (%); F = Diâmetro médio das colônias do fungo na presença do óleo essencial (cm); T = Diâmetro médio da colônia testemunha (cm). Também foi calculado o índice de velocidade do crescimento micelial conforme a fórmula descrita por Oliveira (1991): $IVCM=(\sum(D-D_a))/N$ Sendo: IVCM = Índice de velocidade de crescimento micelial (cm); D = Diâmetro médio atual da colônia (cm); D_a = Diâmetro médio da colônia do dia anterior (cm); N = Número de dias após a inoculação. Os dados obtidos nesse estudo foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os óleos essenciais testados, o de cravo-da-índia, melaleuca e eucalipto mostraram-se eficientes na inibição do crescimento micelial do fungo *A. solani* em todas as alíquotas testadas. O óleo de cravo-da-índia apresentou melhor resultado, inibindo

totalmente o crescimento a partir da concentração de 0,1%. Resultados semelhantes foram verificados por Pinto et al. (2010) que, ao utilizarem o óleo de cravo-da-índia em três concentrações (25 μ L/mL, 50 μ L/mL e 75 μ L/mL) sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, verificaram 100% de inibição do crescimento micelial. Já o óleo essencial de citronela demonstrou-se ineficiente quanto à inibição do crescimento micelial pois não houve diferença significativa se comparada à testemunha.

Em relação à porcentagem de inibição do crescimento micelial, o óleo de cravo-da-índia mostrou-se eficiente em relação à testemunha, com ação fungitóxica, onde inibiu em 95,96% o crescimento do fungo na concentração de 0,05%. Nas concentrações seguintes ocorreu inibição total do crescimento. O óleo de melaleuca apresentou uma redução no crescimento do patógeno de 42,3% na maior concentração testada (0,2%). Já o óleo de eucalipto apresentou 27,29% de inibição. Vilela (2007), ao testar diferentes concentrações do óleo de *Eucalyptus globulus* sobre os fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, observou que na concentração de 0,5% do óleo essencial, ocorreu inibição do crescimento micelial em torno de 95% em ambos os fungos. Nas concentrações de 1% e 1,5% testadas, a inibição foi de 100%. O óleo essencial de citronela não apresentou resultados significativos.

Para o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM), novamente os três óleos (cravo-da-índia, melaleuca e eucalipto) apresentaram resultados estatísticos significativos. O IVCM apresentou interação decrescente, pois, nas maiores alíquotas testadas dos óleos essenciais, a velocidade do crescimento micelial diminuiu. O óleo essencial de cravo-da-índia novamente apresentou melhores resultados, com o IVCM de 0,02 cm.dia⁻¹ na concentração de 0,1%, sendo que nas concentrações superiores o IVCM foi nulo, ou seja, não houve crescimento micelial. Melaleuca e eucalipto apresentaram menores IVCM nas maiores concentrações testadas, 0,31 e 0,55cm.dia⁻¹ respectivamente, diferindo estatisticamente da testemunha (0,65 cm.dia⁻¹). Para o óleo de citronela, os resultados não foram significativos.

Calvano et al. (2012), ao testar os extratos de folhas de (araçá) *Psidium cattleianum*, (espírradeira) *Nerium oleander*, (eucalipto) *Eucalyptus citriadora*, e (jabuticabeira) *Plinia trunciflora*, na concentração de 20%, sobre isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, verificaram que o extrato vegetal de eucalipto apresentou uma total ação inibitória sobre o crescimento micelial do fungo. Os extratos de jabuticabeira, araçá e espírradeira apresentaram IVCM de 0,62, 0,41 e 1,35cm.dia⁻¹ respectivamente. Demonstrando assim que todos os extratos apresentaram ação inibitória sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, diferindo estatisticamente da testemunha (IVCM de 1,94cm.dia⁻¹).

5 I CONCLUSÃO

Conclui-se que o óleo essencial de eucalipto apresentou maior eficiência na redução do crescimento micelial do fungo *A. solani* em comparação com os óleos de melaleuca, eucalipto e citronela. A redução do crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações, destacando-se como o mais promissor na inibição do crescimento micelial do patógeno. Portanto, o óleo essencial de cravo-da-índia tem potencial para o controle do fitopatógeno testado, no entanto, apesar dos resultados promissores nos testes *in vitro*, estudos de campo são essenciais para confirmar o seu potencial antifúngico e fungitóxico.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. Métodos em fitopatologia. Viçosa. Ed. UFV. 382p. 2007. Balbi-Peña MI, Becker A, Stangarlin JR, Franzener G, Lopes MC, Schwan- Estrada KRF (2006b) Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina - II. Avaliação *in vivo*. Fitopatologia Brasileira 31:401-404. BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas, Embrapa:Jaguariúna-SP, Cap. 22, p.330-335. 2009.
- BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTHADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. Fitopatologia Brasileira, v. 29, p. 128-134, 2004.
- CRUZ, M. E. S. Produtos alternativos no controle de doenças de pós-colheita de banana (*Musa paradisiaca* L.) maçã (*Malus domestica* Borkh) e laranja (*Citrus sinensis* (L) Osbeck). 2003. 112 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003. Franzener G, Stangarlin JR, Schwan-Estrada KRF, Cruz MES (2003) Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. Acta Scientiarum 25:503-507
- GRUPO DE COORDENAÇÃO DE ESTATÍSTICAS AGROPECUÁRIAS. Tomate: Safra 2015/2016. Disponível em Acesso em: 28 abr. 2017. Kuhn OJ, Portz RL, Stangarlin JR, Del Águila RM, Schwan- Estrada KRF, Franzener G (2006) Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Semina: Ciência Agrária 27:13-20 Kurozawa C, Pavan MA (2005) Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamim Filho A, Camargo
- LEA Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas, 4. ed. São Paulo SP. Ed. Agronômica Ceres, v. 2, pp. 607-626. OLIVEIRA, J.A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). 1991. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1999. Rodrigues E, Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR, Cruz MES, Tutida-Fiori ACG (2006) Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. Acta Scientiarum, Agronomy

28:123-127. Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR (2005) Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: Cavalcanti LS, Di Piero RM, Cia P, Pascholati SF, Resende MLV, Romeiro RS (Eds.) Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. PiracicabaSP. Fealq. pp. 125-132. Stangarlin JR, Schwan-Estrada KRF Cruz MES, Nozaki MH (1999) Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento 1:16-21. Valarini PJ, Frighetto RTS, Melo IS (1994) Potencial da erva medicinal *Cymbopogon citratus* no controle de fitopatógenos do feijoeiro. Revista de Agricultura 69:139-150 Vale FXR, Zambolim L, Paul PA, Costa H (2000) Doenças causadas por fungos em tomate. In: Zambolim L, Vale FXR, Costa H (Eds.) Controle de doenças de plantas – hortaliças. pp. 699-756 YOSHIMURA, M.A.; LUO, Y.; MA, Z.; MICHAILIDES, T.J. Sensitivity of *Moniliniafructicola* from stone fruit to thiophanate-methyl, iprodione, and tebuconazole. PlantDisease, v. 88, n. 4, 2004, p. 373-378.

LIMA, A. ; VERCOSA, A. G. A. ; MESCH, F. J. ; BONALDO, S. M. . EFEITO DO EXTRATO DE *Pyrostegia venusta* EM *Colletotrichum cliviae*. In: VI Simpósio da Amazônia Meridional em Ciências Ambientais, 2015, Sinop. Resumos Simples.VI Simpósio da Amazônia Meridional em Ciências Ambientais Scientific Electronic Archives, 2015. v. 8. p. 13-13. 2. LIMA, A. ; VERCOSA, A. G. A. ; MESCH, F. J. ; BONALDO, S. M. . BIOACTIVITY OF THE EXTRACT OF *Pyrostegia venusta* IN *Colletotrichum truncatum*. In: 28° Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2015, Florianópolis. Anais do

28° Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2015. p. 1570-2. 3. MESCH, F. J.; DIAS, J. L. L. ; ZANATTO, I. B. ; PEREIRA, C. S. . Aplicação de extrato etanólico de própolis no crescimento e produtividade do feijoeiro comum. In: 46° congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2013, Ouro Preto - MG. 46° Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2013. p. 782-782. 4. ZANATTO, I. B. ; DIAS, J. L. L. ; MESCH, F. J. ; PEREIRA, C. S. . Extrato etanólico de própolis no controle da cercosporiose e no desenvolvimento de mudas de cafeeiro. In: 46° Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2013, Ouro Preto - MG. 46° Congresso Brasileiro de Fitopatologia/ 11ª Reunião Brasileira de Controle biológico, 2013.

DESCRIÇÃO ANATÔMICA DA CAVIDADE ORAL DE TUBARÃO-MARTELO, *SPHYRNA LEWINI*

Data de aceite: 23/09/2020

Parte do projeto de Iniciação Científica de Gustavo Augusto Braz Vargas no período de 2019 a 2020.

Gustavo Augusto Braz Vargas

Universidade Guarulhos
Guarulhos - SP
<http://lattes.cnpq.br/0388591429667707>

Inara Pereira da Silva

Universidade Guarulhos
Guarulhos - SP
<http://lattes.cnpq.br/5251494308689468>

Gabriel Nicolau Santos Sousa

Universidade Guarulhos
Guarulhos - SP
<http://lattes.cnpq.br/2284894885641144>

Alessandra Tudisco da Silva

Universidade Guarulhos
Guarulhos - SP
<http://lattes.cnpq.br/1861861105462144>

Daniela de Alcantara Leite dos Reis

Universidade Guarulhos
Guarulhos - SP
<http://lattes.cnpq.br/5700691082355195>

Marcos Vinícius Mendes Silva

Universidade Guarulhos
Guarulhos - SP
<http://lattes.cnpq.br/2877732837567521>

Carlos Eduardo Malavasi Bruno

Projeto Mantas do of Brasil
Santos - SP
<http://lattes.cnpq.br/5527737503377403>

RESUMO: O tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* é encontrado em regiões tropicais. Apresenta cavidade oral, composta pelo palato quadrado, cartilagem de Meckel, elementos articulados, composto de elemento faringobranquial dorsalmente, seguido do epibranquial, ceratobranquial, hipobranquial e basobranquial. O primeiro arco funcional é o arco mandibular, composto pela cartilagem de Meckel ventralmente e o palato quadrado dorsalmente. Em seguida o arco hióide, cujo elemento mais proeminente é o hiomandibular. A boca apresenta formato arqueado, a boca se inicia posterior aos olhos, tendo seu ápice pouco acima a linha do processo pós-orbita e sua base termina posterior ao condrocrânio. Palatoquadrado é dorsal a mandíbula, palato medial é dorsal recobrimdo a cavidade oral. A projeção lingual é disposta ventralmente, sendo bastante evidente, se estendendo por toda cavidade oral, disposto sob a basihyal. As medidas foram de largura da boca (LB) foi de 5,2 cm, a altura da boca (AB) apresentou média de 2,8 cm e a média da medida pré-oral (MPO) foi de 5,2 cm. A cavidade oral do tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* apresentou tamanho e formato adaptado ao tipo de alimentação e hábito de forrageio.

PALAVRAS-CHAVE: Palatoquadrado, cartilagem de meckel, basihyal, alimentação.

ANATOMICAL ANALYSIS OF ORAL CAVITY TO HAMMERHEAD SHARK, *SPHYRNA LEWINI*

ABSTRACT: The hammerhead shark, *Sphyrna lewini* has been found in tropical regions. The oral cavity presents, square palate hair compost, Meckel cartilage, articulated elements, dorsally pharyngeal-branchial element, followed by epibranchial, ceratobranchial, hypobranchial and basobranchial. The first functional arch or the mandibular arch, the composite strips Meckel cartilage ventrally and the quadrate palate dorsally. Followed or hyoid arch, with the most prominent element or hiomandibular. On the palate it presents an arched format, on the palate it begins after the eyes, with its apex reaching the edge of the post-orbital process and its base and posterior to or chondrochanium. Palatochial and dorsal to mandibule, medial and dorsal palate recovering to oral cavity. The lingual projection is arranged ventrally, being quite evident, spreading through every oral cavity, available on basihyal. The measurements of mouth length (LB) foi of 5.2 cm, at mouth height (AB) there was an average of 2.8 cm and to a pre-oral measure (MPO) of 5.2 cm. In the oral cavity of the hammerhead shark, *Sphyrna lewini* appeared in a format adapted to the type of food and the habit of forage.

KEYWORDS: Palatoquadrate, Meckel's cartilage, basihyal, food.

1 | INTRODUÇÃO

A exploração econômica dos tubarões nos últimos anos, tanto no Brasil como em outras partes do mundo, tornou-se uma problemática em virtude da pesca destes peixes visando a economia (BONFIL, 1994). No Estado de São Paulo, os tubarões-martelo são principalmente capturados pelas pescarias de amalhe e espinhel de superfície (KOTAS, 2004)

A biodiversidade dos elasmobrânquios é bastante afetada pela pesca industrial e artesanal devido à falta de informação dos pescadores sobre os impactos causados pela sua captura e a importância das espécies (BONFIL, 1994).

A cavidade oral nos elasmobrânquios é responsável pela sua alimentação e respiração. Ao nadar com a boca aberta, a água entra por suas brânquias promovendo a troca gasosa do animal (ROMER e PARSONS, 1985).

Os tubarões da família sphyrnidae possui boca posicionada ventralmente ao corpo, auxiliando na captura de animais bentônicos como crustáceos, moluscos e principalmente teleosteos (GADIG, 1994). Possuem boca e dentes especializados no esmagamento de pressas, considerados heterodontos, com fileiras de dentes que são trocados periodicamente (COMPAGNO, 1984).

Utiliza sua cabeça como um arco, servindo na sua hidrodinâmica, permitindo manobrar dentro da água com mais precisão aumentando suas capacidades sensoriais (COMPAGNO, 1984; GADIG, 1994).

O *Sphyrna lewini* possui a boca largamente arqueada; dentes anteriores com

cúspides moderadamente longas, fortes a finas, lisas ou fracamente serrilhadas (COMPAGNO, 1984).

Cada arco tem a composição de até cinco elementos articulados, composto de elemento faringobranquial dorsalmente, seguido do epibranquial, ceratobranquial, hipobranquial e basobranquial. O primeiro arco funcional é o arco mandibular, composto pela cartilagem de Meckel ventralmente e o palato quadrado dorsalmente. Em seguida o arco hióide, cujo elemento mais proeminente é o hiomandibular (KARDONG, 2016).

Nos esplanocranios ancestrais são apresentados com sete arcos, cada arco composto por até cinco elementos, os dois primeiros arcos denominados mandibular mais cranial e hioide mais caudal é responsável pela sustentação do primeiro (KARDONG, 2016).

A maxila nos tubarões encontra-se inseridas ao crânio unidos por duas articulações primárias, anteriormente por um ligamento que une o palatoquadrado ao crânio e posteriormente pelo hiomandibular. Atualmente muitos dos tubarões exibem variação na suspensão mandibular anfistílica (KARDONG, 2016).

A protrusão da maxila também pode ajudar no encontro sincronizado das maxilas superior e inferior sobre a presa. Contudo, a maxila inferior sozinha não consegue ser responsável pelo fechamento da boca, podendo sugar prematuramente a presa. A protrusão das maxilas permite que as maxilas tomem um formato geométrico que favorecem a captura da presa de modo que a o palatoquadrado e a cartilagem de Meckel se encontrem ao mesmo tempo, evitando a deflexão quando se fecham (KARDONG, 2016).

O objetivo do trabalho foi de fazer um estudo morfológico da cavidade oral do tubarão-martelo, *Sphyrna lewini*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os animais foram obtidos através da pesca comercial de Guarujá, São Paulo. O material coletado foi analisado e estudado no laboratório de Anatomia da Universidade de Guarulhos (UNG).

Inicialmente as cavidades orais foram medidas quanto à altura, largura e medida pré-oral e fotodocumentados para descrições macroscópicas.

As mandíbulas do *S. lewini*, foram dissecadas com o auxílio de uma lâmina de bisturi número 15 e tesoura de Mayo. No palato quadrado fez-se uma incisão do ligamento etnopalatino, na cartilagem de Meckel fez-se a desarticulação da região com o ligamento ceratohial.

3 | RESULTADOS

Em vista ventral, é possível identificar que a boca do tubarão-martelo

apresenta formato bastante arqueado, a boca se inicia posterior aos olhos, tendo seu ápice pouco acima a linha do processo pós-orbital e sua base termina posterior ao condrocrânio (Figura 1).

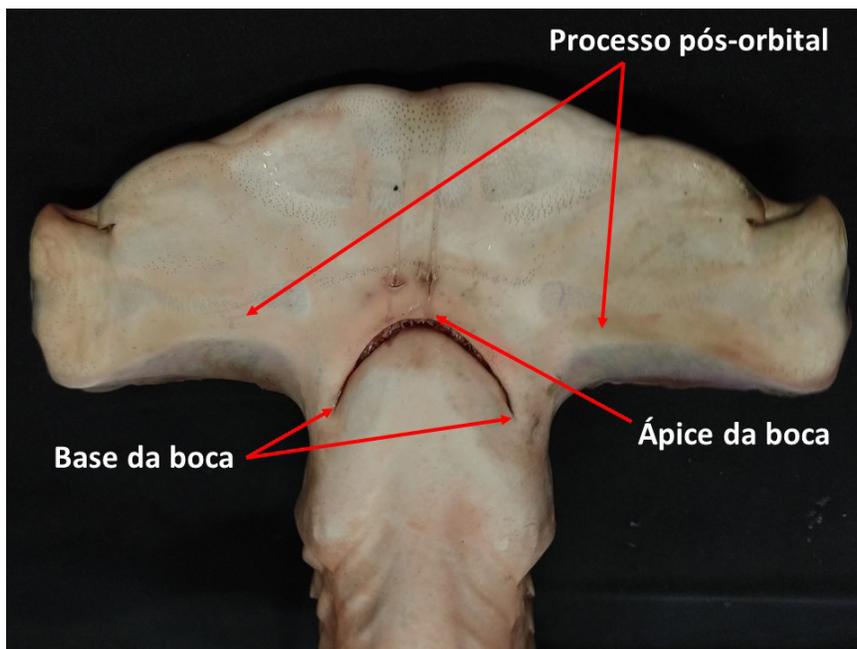


Figura 1. Vista ventral da cabeça de tubarão-martelo, *Sphyrna lewini*, demonstrando o processo pós-orbital, ápice e base da boca.

O Palatoquadrado está localizado na região dorsal da mandíbula, contornando o rostro em sua região medial. Palato medial, localizado dorsalmente, recobrindo toda a cavidade oral. A projeção lingual está disposta ventralmente na cavidade oral, sendo bastante evidente num formato arredondado cranialmente se estendendo por toda a cavidade oral, disposto sob a basihyal (Figura 2).

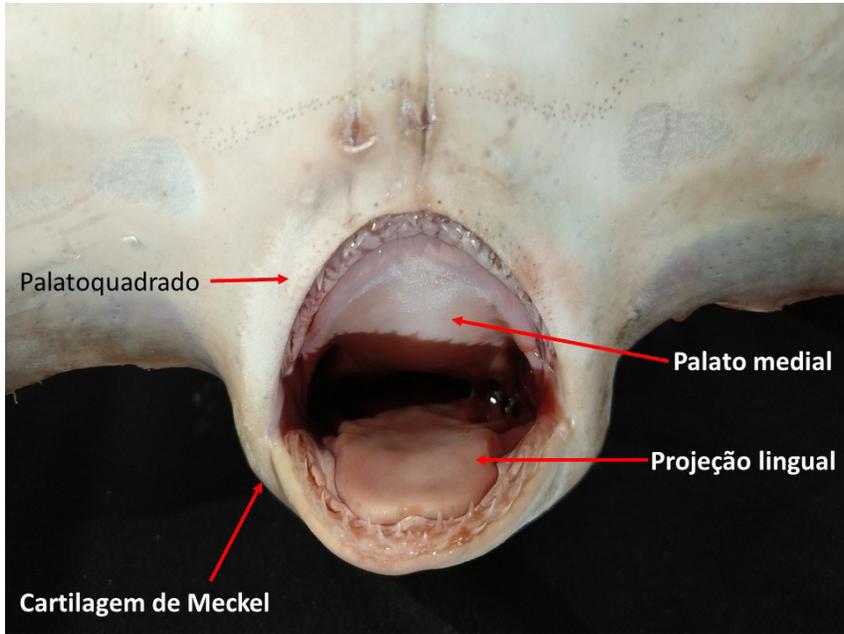


Figura 2. Vista ventral com a cavidade oral aberta de tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* demonstrando o palatoquadrado, palato medial, cartilagem de meckel e projeção lingual.

A medida de largura da boca (LB) foi de 5,2 cm, a altura da boca (AB) apresentou média de 2,8 cm e a média da medida pré-oral (MPO) foi de 5,2 cm



Figura 3. Vista ventral de tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* demonstrando as medidas da boca. (A) Largura da Boca (LB). (B) Altura da Boca e (C) Medida Pré-oral.

O ligamento etnopalatino se projeta do palatoquadrado e está disposto dorso-cranial, ligando o palatoquadrado ao condrocrânio. O palatoquadrado está disposto dorsal, próximo ao condrocrânio, localizado abaixo do condrocrânio onde se inicia e termina próximo da cartilagem ceratobranquial. Entretanto, a cartilagem de Meckel é espessa formando a mandíbula inferior. Tanto o palatoquadrado quanto a cartilagem de Meckel possuem uma sínfese medial. Com localização medial ao palatoquadrado e

a cartilagem de Meckel se encontra o tecido conjuntivo do palatoquadrado-mandibular, circundando toda a região onde os dentes estão dispostos, formando uma estrutura semelhante a um lábio (Figura 4).

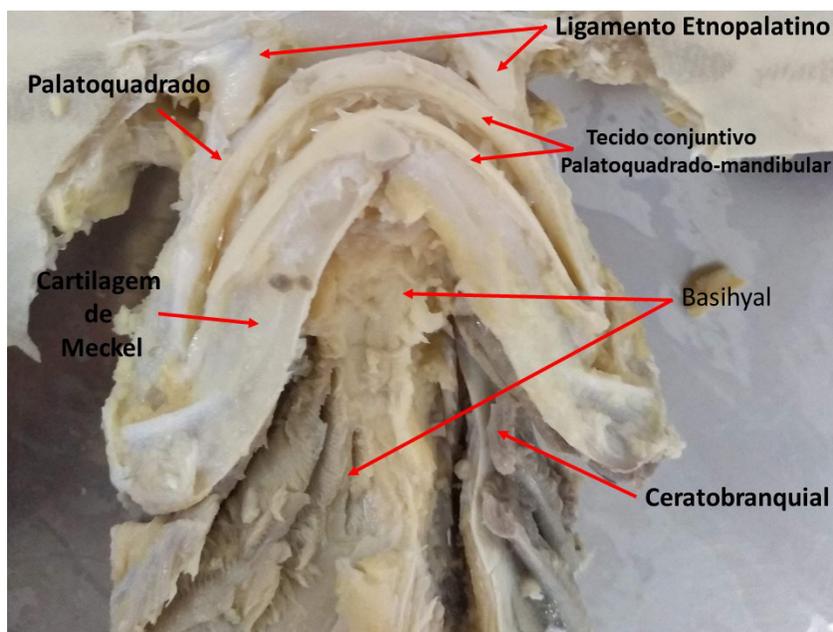


Figura 4. Vista ventral de tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* dissecado, demonstrando o ligamento etnopalatino, palatoquadrado, cartilagem de Meckel, tecido conjuntivo palato-mandibular, basehyal e ceratobranquial.

4 | DISCUSSÃO

A boca do tubarão-martelo apresenta formato bastante arqueado, a boca se inicia posterior aos olhos, tendo seu ápice pouco acima da linha do processo pós-orbital e sua base termina posterior ao condrocrânio. Essa adaptação se deve ao seu hábito de vida, uma vez que os tubarões apresentam o condrocrânio muito largo e espesso. Além disso, esse arqueamento pode auxiliar no momento da predação, uma vez que os elasmobrânquios projetam sua mandíbula em direção a suas presas, fazendo uma espécie de vácuo, onde o animal predado é succionado para dentro do cavidade oral desses peixes (BEMVENUTI e FISCHER, 2010).

A posição, o tamanho, o formato da boca e os tipos de dentes referem-se aos hábitos, a forma de captura e a alimentação de um peixe. Peixes com uma longa boca protrátil pode indicar que as presas são engolidas inteiras, por sucção. A presença de barbilhões sensoriais abaixo da boca é um forte indício de que o peixe “fareja”

seu alimento se movimentando sobre o substrato, como fazem as cabrinhas e os bagres. Uma grande boca que se abre, enquanto o peixe nada é típica de peixes filtradores, como o tubarão-baleia. Muitos destes peixes filtradores possuem rastros branquiais longos e numerosos, funcionando como uma peneira para reter o alimento (BEMVENUTI e FISCHER, 2010).

Em relação à posição, a boca, nos peixes pode ser classificada como terminal, sub-terminal, inferior ou superior. O tubarão-martelo apresenta boca ventral, peixes com boca nessa posição geralmente alimentam-se de animais bento-pelágicos triturar crustáceos e moluscos, como na corvina, cabrinha, raias pequenas e tubarões menores (BEMVENUTI e FISCHER, 2010).

Os tubarões em geral não tem uma inserção forte e direta entre o palatoquadrado e o hiomandibular, em vez disso as maxilas são suspensas pelo ceratohioide e pela cartilagem de Meckel, por ligamentos que se estende da base da cápsula nasal ao processo orbital do palatoquadrado, como o ceratohioide movendo-se para ajustar a sustentação das maxilas a fenda branquial (KARDONG, 2016).

O palatoquadrado e a cartilagem de Meckel se articulam entre si e ambas, por sua vez, ficam suspensas como um pêndulo do arco hioide, oscilando em torno de sua inserção na caixa craniana, possibilitando que a boca se projete anteriormente em direção a presa (KARDONG, 2016).

A protrusão da maxila também pode ajudar no encontro sincronizado do palatoquadrado e cartilagem de Meckel sobre a presa. Contudo, a cartilagem de Meckel não consegue ser responsável pelo fechamento da boca, permitindo que a boca tome um formato geométrico favorável para a captura da presa de modo que as duas partes se encontrem ao mesmo tempo e evitando a deflexão quando se fecham (KARDONG, 2016).

Nos tubarões-martelo o formato da boca evidentemente arredondado cranialmente se estendendo por toda a cavidade oral, disposto sob a basihyal faz com que a boca faça uma projeção em direção a presa, sendo importante para uma precisão maior no momento da predação.

A medida da boca está relacionada diretamente ao hábito alimentar uma vez que essa espécie se alimenta de animais pequenos ou quando são maiores dão pequenas mordidas arrancando pedaços menores e logo em seguida tornam a morder a preza para uma alimentação mais completa (COMPAGNO, 1984).

5 | CONCLUSÃO

A cavidade oral do tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* apresentou tamanho e formato adaptado ao tipo de alimentação e hábito de forrageamento.

REFERÊNCIAS

BEMVENUTI, M.de A.; FISCHER, L.G. 2010. **Peixes: morfologia e adaptações**. Caderno de ecologia aquática, n. 2, v. 5, p. 31-54.

BONFIL, R. **Overview of world elasmobranch isheries**. Technical paper, n. 341. Rome: FAO Fisheries, 1994.

COMPAGNO, L. J. V. 1984. **Sharks of the world**. An annotated and illustrated catalogue of sharks species known to date. Part 2. Carcharhiniformes. FAO Fisheries Synopsis, v. 4, n. 125.

GADIG, O.B.F. **Fauna de tubarões da costa Norte/Nordeste do Brasil (Chondrichthyes, Elasmobranchii)**. 1994. 279 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 1994.

KARDONG, K.V. 2016. **Anatomia comparada, função e evolução**. Vertebrados. Editora Roca.

KOTAS, J. E. **Dinâmica de populações e pesca do tubarão martelo *Sphyrna lewini*, capturado no mar territorial e zona econômica exclusiva do sudeste-sul do Brasil**. 2004. 419 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2004.

ROMER, A.S.; PARSONS, T.S. 1985. **Anatomia comparada dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu, pp.560.

MARCADORES MITOCONDRIAIS REVELAM BAIXA VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Prochilodus* NO SISTEMA HIDROLÓGICO PINDARÉ-MEARIM

Data de aceite: 23/09/2020

Jordânia Letícia do Nascimento Silva

Universidade Estadual do Maranhão
CESC/UEMA
Caxias-MA

Elidy Rayane de Rezende França

Universidade Estadual do Maranhão
UEMA
São Luís -MA

Fernanda da Conceição Silva

Universidade Estadual do Maranhão
CESC/UEMA
Caxias-MA

Maria Claudene Barros

Universidade Estadual do Maranhão
CESC/UEMA
Caxias-MA

Elmary da Costa Fraga

Universidade Estadual do Maranhão
CESC/UEMA
Caxias-MA

RESUMO: As espécies do gênero *Prochilodus* apresentam padrões morfológicos bastante similares, dificultando assim sua identificação gerando, portanto, incertezas quanto ao seu status taxonômico, inclusive para as espécies *Prochilodus lacustris* e *Prochilodus nigricans*. Diante disso, objetivou-se identificar e estimar os níveis de variabilidade genética de *Prochilodus* e assim esclarecer essa problemática taxonômica. Para isto, as coletas foram realizadas nas bacias

Mearim e Pindaré, sendo ainda incluídas para as nossas análises amostras de *P. nigricans* da Amazônia. Posteriormente o DNA total foi extraído através do kit da Promega, a amplificação dos genes rRNA 16S, COI e *Cyt b* realizada via PCR e os produtos da reação purificados e sequenciados. As sequências obtidas foram alinhadas e editadas no programa Bioedit, as análises filogenéticas e as médias de divergências geradas no programa MEGA X e as análises populacionais realizadas nos softwares DNAsp, ARLEQUIN e NETWORK. Um total de 72 espécimes foram sequenciados para o gene rRNA 16S, 71 para gene COI e 51 para *Cyt b*, mostrando uma forte similaridade entre as amostras de *P. lacustris* e *P. nigricans*, com valores de divergência variando de 0 a 0,2%. As análises filogenéticas revelaram um clado fortemente suportado com 100% de *bootstrap*, entre os espécimes analisados. A AMOVA revelou para todos os genes valores de F_{ST} baixos quando analisados apenas os rios maranhenses, entretanto quando o grupo dos espécimes dos rios do sistema hidrológico Pindaré-Mearim e os da Amazônia foram analisados estes apresentaram valores de F_{ST} baixos para o gene rRNA16s (0,024), moderados para o *Cyt b* (0,238) e elevado para o gene COI (0,751). Assim, nossos resultados revelaram a alta similaridade genética entre os táxons *P. lacustris* e *P. nigricans* nas bacias estudadas, sugerindo a ocorrência de um único táxon e apontando, portanto, para uma revisão taxonômica para estas espécies.

PALAVRAS-CHAVE: Peixe, DNA Mitocondrial, Curimatá, Populacional.

ABSTRACT: The species of the genus *Prochilodus* present very similar morphological patterns, thus making their identification difficult, thus generating uncertainties regarding their taxonomic status, including for the species *Prochilodus lacustris* and *Prochilodus nigricans*. Therefore, the objective was to identify and estimate the levels of genetic variability of *Prochilodus* and thus clarify this taxonomic problem. For this, the collections carried were out in the Mearim and Pindaré basins, and samples of *P. nigricans* of the Amazon. Subsequently, the total DNA was extracted using the Promega kit, the amplification of the 16S rRNA, COI and *Cyt b* genes performed via PCR and the reaction products purified and sequenced. The sequences obtained aligned were and edited in the Bioedit program, the phylogenetic analyzes, the means of divergences generated in the MEGA X program, and the population analyzes performed in the software DNAsp, ARLEQUIN and NETWORK. 72 specimens sequenced were for the 16S rRNA gene, 71 for the COI gene and 51 for *Cyt b*, showing a strong similarity between *P. lacustris* and *P. nigricans* samples, with divergence values ranging from 0-0.2%. Phylogenetic analyzes revealed a strongly supported clade with 100% bootstrap, among the analyzed specimens. AMOVA revealed low *FST* values for all genes when only the Maranhão rivers were analyzed, however when the group of river specimens from the Pindaré-Mearim hydrological system and those from the Amazon were analyzed, they presented low *FST* values for the rRNA16s gene (0.024), moderate for *Cyt b* (0.238) and high for the COI gene (0.751). Thus, our results revealed the high genetic similarity between *P. lacustris* and *P. nigricans* in the studied basins, suggesting the occurrence of a single taxon and therefore pointing to a taxonomic review for these species.

KEYWORDS: Fish, Mitochondrial DNA, Curimatá, Population.

1 | INTRODUÇÃO

Os Prochilodontidae (Characiformes) são amplamente distribuídos em águas doces neotropicais (GARCIA et al. 2009), sendo representado por três gêneros (*Ichthyolephas*, *Semaprochilodus* e *Prochilodus*) e cerca de 21 espécies válidas (CASTRO; VARI, 2004). Sendo o gênero *Prochilodus* o que possui maior número de espécies descritas com 13 representantes (CASTRO; VARI, 2003 e 2004).

Dentre as espécies deste gênero, *Prochilodus lacustris* (Steindachner, 1907) endêmica das bacias hidrográficas Parnaíba, Mearim e Tocantins (PIORSKI, 2010; RAMOS et al., 2014; CARDOSO et al., 2019) e *Prochilodus nigricans* (Spix; Agassiz, 1829) amplamente distribuída na bacia Amazônica e do Tocantins (CASTRO; VARI, 2004; QUEIROZ et al., 2013; MACHADO et al., 2016) constituem importante recurso pesqueiro para suas regiões. Sendo suas distribuições ampliadas para outras bacias Maranhenses, sendo *P. lacustris* para a bacia do rio Itapecuru (BARROS et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2016, ABREU et al., 2019) e *P. nigricans* descritas para as bacias Itapecuru, Mearim e Turiaçu (ABREU et al., 2019).

Entretanto devido a diferenciação morfológica muito sutil (MELO et al.,

2018) e o seu comportamento migratório (SIVASUNDAR et al., 2001; (GODINHO; KYNARD, 2006; MELO et al., 2016) baixos níveis de variabilidade genética e estrutura populacional (SIVASUNDAR et al., 2001; RUEDA et al., 2013; FERREIRA et al., 2016) tem sido encontrado para estes peixes.

Além disso, trabalhos genéticos com filogenia molecular, vem revelando que estas espécies compreendem um dos complexos de espécies problemáticas (TURNER et al., 2004; FRABLE et al., 2016; MELO et al., 2016; FERREIRA et al., 2016; MELO et al., 2018; SALES et al., 2018) sendo detectado pouca divergência genética entre estas linhagens (MELO et al., 2018).

Entre os marcadores mitocondriais utilizados, o gene mitocondrial Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) com cerca de 645 pares de base (HERBET et al., 2003; HUBERT et al., 2008) vem se mostrado eficiente na identificação de várias espécies de peixes marinhos e de água doce com uma taxa de sucesso de mais 90% (PEREIRA et al., 2013).

O gene 16S rRNA faz parte da grande subunidade ribossomal do DNA mitocondrial (PALUMBI, et al., 1996) e também têm se mostrado um bom marcador para análises de diferenciação de peixes, como também em estudos comparativos intergenéricos e interespecíficos (CALCAGNOTTO et al., 2005; FRAGA et al., 2007; FRAGA et al., 2014). O uso desses genes tem sido utilizado com sucesso em estudos filogenéticos de diversos grupos de vertebrados, como em peixes, pois existe uma considerável variação em algumas espécies (CALCAGNOTTO et al., 2005).

Outra região do DNA mitocondrial que tem sido amplamente estudada em peixes é o gene Citocromo b (*Cyt b*), sendo utilizado em análises de táxons que divergiram recentemente tais como populações e espécies (FARIAS et al., 2001; SANTOS et al., 2003; FRAGA et al., 2007).

Portanto, neste estudo sequências do genoma mitocondrial foram utilizadas para identificar e estimar os níveis de variabilidade genética de *Prochilodus* na tentativa de esclarecer o status taxonômico de *P. lacustris* de ocorrência nas bacias hidrográficas Pindaré e Mearim que apresenta forte similaridade genética com *P. nigricans* da bacia Amazônica. E dessa forma elucidar as incertezas taxonômicas que envolvem estas espécies.

2 | METODOLOGIA

2.1 Área de estudo e obtenção das Amostras

Os espécimes de *P. lacustris* foram coletados nas bacias Mearim e Pindaré, sendo ainda incluídas para nossas análises amostras de *P. nigricans* provenientes da bacia amazônica (Rios Xingu e Tapajós) (Figura 1).

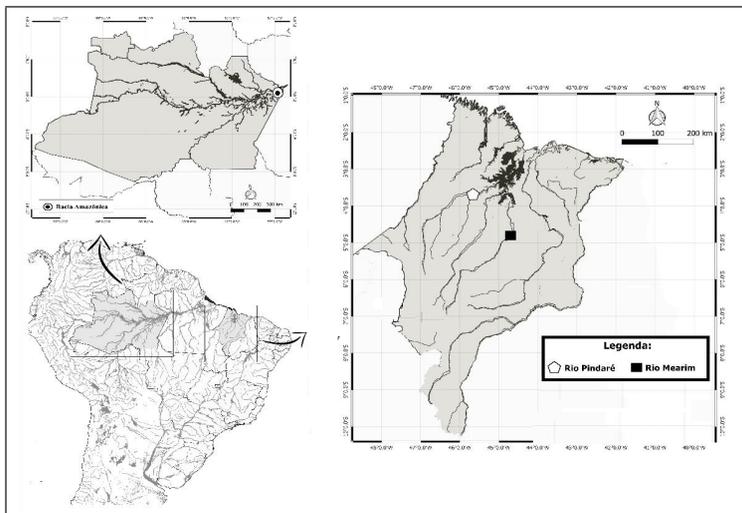


Figura 1. Localização das bacias hidrográficas onde foram obtidos os espécimes.

As amostras foram coletadas utilizando apetrechos de pesca como rede de arrasto, malhadeira e tarrafas de diferentes aberturas (10 a 200 mm), sendo estas devidamente autorizadas pelo Instituto Chico Mendes de Biodiversidade e Conservação (ICMBIO) (ICMBIO n°. 46367-1 - Rio Pindaré e ICMBIO - MMA n° 42.119-2 - Rio Mearim).

Os espécimes coletados foram acondicionados em sacos plásticos e transportados em gelo ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular (GENBIMOL) do Centro de Estudos Superiores de Caxias da Universidade Estadual do Maranhão - CESC/UEMA. Os peixes coletados foram etiquetados, fotografados e amostras de tecido muscular retiradas.

Os tecidos foram preservados em álcool 80% e mantidos sob refrigeração a -20°C. Os exemplares foram fixados em formalina 10% e conservados em álcool 70%. A identificação dos espécimes foi realizada através de literatura específica (BRITSKI et al., 1999; SOARES, 2005; PIORSKI et al., 2007) e confirmada por especialista, sendo os espécimes de *Prochilodus* das bacias Pindaré-Mearim identificadas como *P. lacustris*. Exemplares testemunhos foram depositados no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo – MZUSP e na Universidade Estadual de Londrina – MZUEL. As amostras de tecidos de *P. nigricans* provenientes da bacia amazônica encontravam-se depositados no banco de tecidos do Laboratório de Genética e Biologia molecular (GENBIMOL) do CESC/UEMA.

2.2 Procedimentos genéticos

O DNA total foi extraído usando o kit Wizard Genomic DNA Purification da

Promega seguindo as instruções do fabricante. O isolamento e amplificação das regiões genômicas rRNA 16S, COI e *Cyt b* foi realizado através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) usando-se *primers* específicos para cada gene, para o gene COI:COIF1: ‘5-TCAACCAACCACAAAGACATTGCC-AC-3’; e COIR1: ‘5 TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3’ como descrito por (WARD et al., 2005), para o gene rRNA 16S– 16sL1: ‘5-GCCTCGCCTGTTTACCAAAAAC-3’ e 16SH2: ‘5-CCGGTTCTGAACTCAGATCACGT-3’ como descrito por (PALUMBI et al., 1991) e para o gene *Cyt b*- L14725: ‘5-CGAACTAATGAAAAACCACCCCGTTG-3’, e MVZ16: ‘5-AAATAGGAARTATCAYTCTGGTTTRAT-3’ como descrito por (SANTOS et al. 2003 e PATTON 1993).

Todos os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit ExoSap-IT® (USB Corporation) seguindo instruções dos fabricantes. Os produtos das PCRs purificados foram utilizados em uma reação de sequenciamento utilizando-se o Kit “Big Dye TMTerminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction” (Applied Biosystems). Após a precipitação os produtos foram submetidos à eletroforese em um sequenciador automático de DNA (ABI 3500).

2.3 Análises dos dados

As sequências obtidas foram alinhadas e editadas manualmente no programa Bioedit (HALL, 1999). As sequências dos quatro marcadores foram concatenadas no programa Seaview4 (GOUY et al., 2010), para se efetuar uma análise filogenética unificada do conjunto de dados. As análises filogenéticas foram realizadas apenas para os dados concatenados através dos métodos de análise de agrupamento de vizinhos (NJ) e máxima verossimilhança (ML) usando o programa MEGA X (KUMAR, et al., 2018), ambas usando, o modelo evolutivo de substituição nucleotídica Kimura-2 parâmetros (KIMURA, 1980), com 1000 réplicas de *bootstrap*. FELSENSTEIN, 1985).

Foram utilizadas como grupo externo sequências para o gene rRNA16S *Leporinus piau* (HM015221) (ARDURA et al., 2010) e *Hoplias malabaricus* (HQ171346) (OLIVEIRA et al., 2011). Para o gene COI *Leporinus piau* (FJ418763) (ARDURA et al., 2010) e *H. malabaricus* (GU702203) (PEREIRA et al., 2011) e para *Cyt b* *H. malabaricus* (KF530815) (UTSUNOMIA et al., 2014) sendo estas obtidas do GenBank. Foi utilizado também para o gene *Cyt b* uma sequência de *L. Piau* proveniente da bacia do rio Pindaré.

As médias de distâncias genéticas foram geradas no programa MEGA X, utilizando o modelo Kimura-2-Parâmetros (K2P). As análises populacionais (Diversidade haplotípica, nucleotídica, sítios polimórficos e número de haplótipos) foram realizadas no software DNAsp 6.1 (ROZAS et al., 2018). A Análise Molecular de Variância (AMOVA) foi realizada no ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER et al., 2010), para verificar a existência de diferenciação populacional em diferentes níveis hierárquicos.

A divergência nucleotídica entre e dentro os haplótipos de cada rio/bacia foram determinados pela distância p não corrigida (rRNA 16S, COI e *Cyt b*).

A relação entre os haplótipos foi inferida por meio da construção de uma rede de haplótipos não enraizada, obtida através do programa NETWORK 5.0.1.1 (<http://www.fluxus-engineering.com>) usando o método de mediam-joining (BANDELT et al., 1999).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise do polimorfismo e Análise da diversidade genética

Os fragmentos sequenciados tiveram um total de 557pb para o gene rRNA 16S, 625 para o COI e 790pb para *Cyt b*, um total de quatro haplótipos foram identificados para os genes analisados, com valores de diversidade haplotípica e nucleotídica de $h=0,208$ e $\pi= 0,0005$ para o gene rRNA16S, para o COI valores de $h=0,362$ e $\pi= 0,0007$ e para o *Cyt b*, $h=0,375$ e $\pi= 0,0001$ (Tabela 1). No trabalho de Silva et al. (2011) utilizando sequências de *P. lacustris* da bacia do Itapecuru em comparação com espécimes de *P. nigricans* da Amazônia através do gene mitocondrial rRNA 16S encontraram resultados maiores de diversidade haplotípica com valor de $h= 0,502$. Melo et al. (2018), analisando sequências do gênero *Prochilodus* através do gene COI, também encontrou índices maiores de diversidade haplotípica com valores de $h = 0,951$.

Populações/ Genes analisados	N	<i>P.</i> <i>lacustris</i>	<i>P.</i> <i>nigricans</i>	Pares de bases	NH	S	Índice de Diversidade Molecular	
							<i>h</i>	π
rRNA 16S	72	54	18	557 pb	4	3	0,208	0,0005
COI	71	56	15	625 pb	4	3	0,363	0,0007
Cyt b	51	35	16	790 pb	4	8	0,375	0,0001

Tabela 1. Diversidade genética nos espécimes de *P. lacustris* x *P. nigricans* baseado nos genes rRNA 16S, COI e *Cyt b*.

N = número amostral **NH** = número de haplótipos **S** = sítios polimórficos **h** = diversidade haplotípica e π = diversidade nucleotídica.

Dos quatro haplótipos encontrados para os genes analisados o haplótipo H1 foi compartilhado entre as populações Pindaré, Mearim e Amazônia, sendo este o mais frequente, na qual revelou a formação de apenas um grande táxon formado

por espécies do grupo *P. nigricans* da região da Amazônia e *P. lacustris* das bacias hidrográficas do Maranhão (Figura 2).

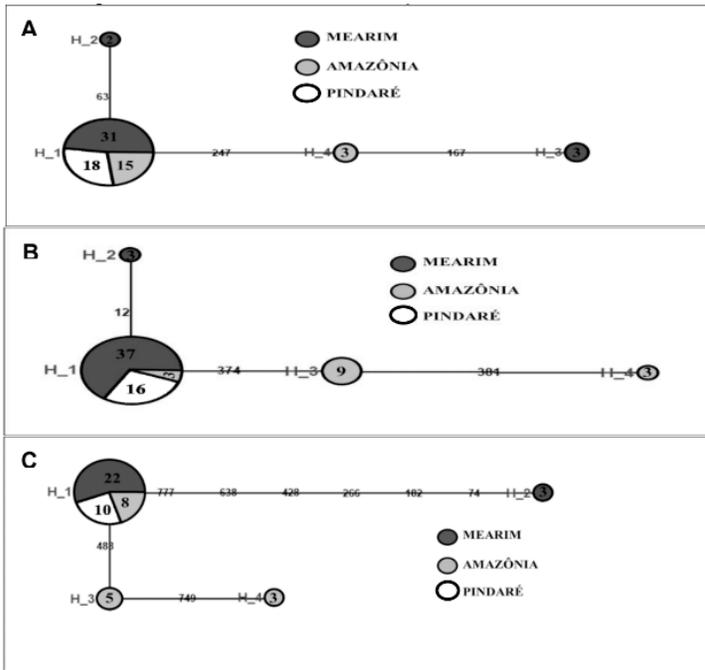


Figura 2. Redes de haplótipos gerada para *P. lacustris* x *P. nigricans* provenientes das bacias hidrográficas Pindaré, Mearim e Amazônia com base nos genes **A**-rRNA 16S, **B**-COI e **C**-*Cyt b*.

3.2 Análises filogenéticas e distância genética

As análises filogenéticas geradas revelaram a formação de um único grande agrupamento uma vez que as sequências obtidas dos espécimes de *P. lacustris* da bacia do Maranhão agruparam-se em único clado fortemente suportado com 100% de *bootstrap* com as sequências de *P. nigricans* do rio Amazonas, confirmando, portanto, a similaridade entre os espécimes analisados (Figura 3).

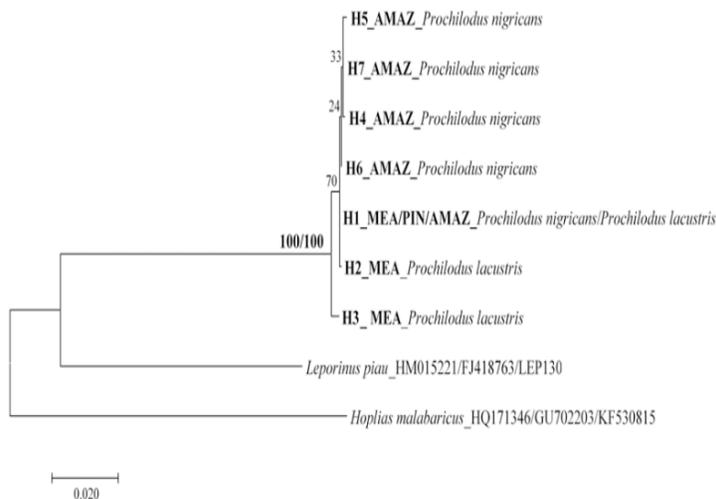


Figura 3. Árvore haplotípica concatenada COI, rRNA 16S e *Cyt b* (1972 pb), obtida através dos métodos Máxima verossimilhança (MV) e Agrupamento de vizinhos (NJ) com 1000 réplicas de *bootstrap*, através do algoritmo Kimura 2-parâmetros. **AMAZ**-Amazonas, **TUR**-Turiiaçu, **PER**-pericumã, **PIN**-Pindare, **PARNA**-Parnaiba, **TOC**-Tocantins, **MEA**-Mearim e **PIN**-Pindaré.

As matrizes de distância genética para os genes analisados, revelou baixos níveis de divergências entre as populações com índices variando de 0 a 0,2 %, quando relacionados com os provenientes dos rios da Amazônia (Tabela 2). Melo et al. (2018), analisando seqüências do gênero *Prochilodus* através do gene COI, também encontrou distâncias genéticas baixas variando de 0,004 a 0,025%.

% DIVERGÊNCIA GENÉTICA			
rRNA 16S			
	1	2	3
1. Mearim	0,1		
2. Pindaré	0	0	
3. Amazônia	0,1	0	0,1
COI			
	1	2	3
1. Mearim	0		
2. Pindaré	0	0	
3. Amazônia	0,2	0,2	0,1
Cyt b			
	1	2	3
1. Mearim	0,2		
2. Pindaré	0,1	0	
3. Amazônia	0,2	0,1	0,1

Tabela 2. Matriz de distância genética com baseados nos genes rRNA 16S, COI e *Cyt b* para as populações de *P. lacustris* x *P. nigricans*. provenientes das bacias hidrográficas Pindaré, Mearim e Amazônia.

3.3 Análise molecular de Variância (AMOVA)

Quando foram analisadas apenas o grupo do Maranhão com as bacias Mearim e Pindaré os testes de AMOVA mostraram que a maior variação ocorreu dentro as populações com valores de p significativos e índices estatísticos F_{ST} de (0,017/0,010/0,019), quando analisados os grupos dos rios Maranhenses e Amazonas os testes da AMOVA mostraram que a maior variação ocorreu dentro das populações para os genes rRNA 16S e *Cyt b* e entre os grupos para o gene COI com valores de p significativos e índices estatísticos F_{ST} de (0,024/0,751/0,238) (Tabela 3).

De acordo com Wrigth (1965), valores entre 0 e 0,05 indicam baixo nível de diferenciação genética; valores entre 0,05 e 0,25 indicam diferenciação genética moderada e acima de 0,25 indicam elevada diferenciação. Nossos resultados assim permitiram verificar para ambas análises (Grupo - Mearim e Pindaré/ Grupo - rios Maranhenses e Amazonas) valores de F_{ST} para em sua maioria baixos, ou seja, com baixa estruturação genética entre as populações, considerando-se os parâmetros adotados por Wrigth (1965).

Genes	%total de variação		F_{ST} Estatístico	P'
	Entre as populações	Dentre as populações		
Grupo Maranhão (Mearim e Pindaré)				
rRNA 16s	1,77	98,23	0.017	<0,0001
COI	1,09	98,91	0.010	
<i>Cyt b</i>	1,96	98,04	0.019	
Grupo (Rios Maranhenses e Amazonas)				
	Entre os grupos	Entre as populações (Dentro dos grupos)	Dentro das populações	
rRNA 16s	0,77	1,71	97,51	0.024
COI	75,58	-0,46	24,88	0.751
<i>Cyt b</i>	22,13	1,76	76,11	0.238

Tabela 3. Resultados da AMOVA para populações de *P. lacustris* x *P. nigricans* como dois grupos com base em seqüências das regiões rRNA 16S, COI e *Cyt b*.

*Valores de P calculados com 1.023 permutações aleatórias.

Os baixos níveis de variabilidade observados em nosso estudo por meio dos marcadores mitocondriais (COI, rRNA16S e *Cyt b*) aparenta ser comum entre as espécies do gênero, uma vez que baixos índices de diferenciação foram retratados por outros autores utilizando diferentes tipos de marcadores moleculares, como nos trabalhos desenvolvidos por Turner et al. (2004); Frible et al. (2016); Melo et al. (2016); Ferreira et al. (2016); Melo et al. (2018); Sales et al. (2018).

Melo et al. (2018) analisando diversas espécies de *Prochilodus* de uma vasta

área da América do Sul, através do gene mitocondrial COI detectou em seu estudo pouca divergência genética entre as linhagens deste gênero. Evidenciando ainda que espécies de *Prochilodus* com distribuição distinta são pouco variáveis compreendendo apenas uma única linhagem mitocondrial.

Evidências substanciais relatam que os baixos níveis de estrutura populacional entre os proclodontídeos são resultados da migração (SIVASUNDAR et al., 2001; RUEDA et al., 2013; FERREIRA et al., 2017; MACHADO et al., 2017). Stanley (1979) sugeriu que a migração e fluxo gênico influenciaram diretamente no estado morfológico conservado neste gênero levantando algumas questões sobre os padrões de migração que influenciaram a diversificação sem mudanças morfológicas. No entanto, não há estudos com o objetivo de detectar se as migrações de longa distância afetam a diversificação genética em nível de espécie em peixes de água doce neotropicais (MELO et al., 2018).

Vale ressaltar, que os peixes desta família exibem certa homogeneidade e conservação dos caracteres morfológicos adotados para a distinção das diferentes espécies (FRABLE et al., 2016). Além disso, alguns grupos de espécies do gênero *Prochilodus* têm diferenciação morfológica muito sutil, sendo as espécies discriminadas por faixas e valores merísticos e pela drenagem biogeográfica onde geralmente são endêmicas (CASTRO; VARI, 2004), inclusive *P. lacustris* e *P. nigricans*.

Os baixos níveis de divergências genéticas encontrados entre as populações das bacias maranhenses (Mearim e Pindaré), se devem ao fato destas bacias possuírem certa conectividade e o fluxo gênico ser maior, uma vez que os rios Mearim e Pindaré formam um único sistema hidrológico que desemboca no rio Itapecuru na região do Golfão Maranhense (PIORSKI, 2010).

Assim nossos resultados utilizando os marcadores moleculares (rRNA16S, COI e *Cyt b*) para *P. lacustris* das bacias maranhenses e *P. nigricans* da bacia amazônica demonstram que estes não apresentaram índices de divergência genética suficiente para discriminar cada espécie, revelando que estamos diante de um único táxon, e que deve ser feita uma revisão para este grupo.

4 | CONCLUSÃO

As populações estudadas apresentaram baixos níveis de variabilidade e distância genética, com os diferentes marcadores mitocondriais (rRNA 16S, COI e *Cyt b*), revelando portando apenas um único táxon entre as espécies de *P. lacustris* e *P. nigricans* sendo necessária uma revisão taxonômica entre estas espécies uma vez que a identificação correta das espécies é o primeiro passo para o sucesso de qualquer programa de manejo e conservação de recursos pesqueiros.

REFERÊNCIAS

- ABREU, J. M. S.; CRAIN, J. M.; ALBERT, J. S.; PIORSKI, N. M. Historical biogeography of fishes from coastal basins of Maranhão State, northeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.17 n.2, 2019.
- ARDURA, A., LINDE, AR, MOREIRA, JC E GARCIA-VAZQUEZ, E. DNA barcoding para conservação e gestão da Amazônia peixe comercial. **Biological Conservation**, p. 1438-1443, 2010.
- BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; ROHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v.16, p.37-48, 1999.
- BARROS, M. C.; FRAGA, E. C.; BIRINDELLI, J. L. Peixes da bacia do rio Itapecuru, no estado do Maranhão, Nordeste do Brasil. **Journal of Biology**, v.71, Brasília, 2011.
- BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal: manual de Identificação**. Embrapa, Corumbá/SP, 1999.
- CALCAGNOTTO, D.; SCHAEFER, S. A.; DESALLE, R. Relationships among characiform fishes inferred from analysis of nuclear and mitochondrial gene sequences. **Molecular Phylogenetic and Evolution**. v. 36, p. 135-153, 2005.
- CARDOSO R. D. L.; SILVA, M. H. L; CARVALHO-NETA R.N.F. Aspects of reproductive biology of curimba *Prochilodus lacustris* (Pisces, Prochilodontidae) in a tropical lake in Northeastern Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, p. 1-13, 2019.
- CASTRO, R. M. C.; VARI, R. Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study. **Smithsonian Contributions to Zoology**, v. 622, p. 1–189, 2004.
- CASTRO, R. M. C.; VARI, R. P. Family Prochilodontidae. In: REIS, R.E; KULLANDER S.O; FERRARIS, C.J. **CheckList of the Freshwaters of South and Central America**. ed. EDIPUCRS 1, Porto Alegre, Brazil, 2003.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin: a software for population data analysis. Version 3.1. **Geneva: University of Geneva**, 2010.
- FARIAS, I. P.; ORTÍ, G.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H.; MEYER, A. Mitochondrial DNA Phylogeny of the Family Cichlidae: Monophyly and fast molecular evolution of Neotropical Assemblage. **Journal of Molecular Evolution**, v. 48, p. 703-711, 2001.
- FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution**, 39:783-791, 1985.
- FERREIRA, D. G., SOUZA-SHIBATTA, L., SHIBATTA, O. A., SOFIA, S. H., CARLSSON, J., DIAS, J. H. P. Genetic structure and diversity of migratory freshwater fish in a fragmented Neotropical river system. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**.v. 27, p.209-231, 2016.

- FRABLE, B. W.; MELO, B. F.; SIDLAUSKAS, B. L. HOEKZEMA, K. VARI, R. P.; OLIVEIRA, C. Data on the multilocus molecular phylogenies of the Neotropical fish family Prochilodontidae (Teleostei: Characiformes). **Data in Brief**, v. 9, p. 128–142, 2016.
- FRAGA, E.; SCHNEIDER, H.; NIRCHIO, M.; SANTA-BRIGIDA, E.; RODRIGUES-FILHO, L. F.; SAMPAIO, I. Molecular phylogenetic analyses of mullets (Mugilidae, Mugiliformes) based on two mitochondrial genes. **Jornal of Applied Ichthyology**, v.23, p. 598-604, 2007.
- FRAGA, E.; SILVA, L. M. M.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I.; BARROS, M. C. Variabilidade genética em populações naturais de *Leporinus piau* (Anostomidae, Characiformes) da bacia do Rio Itapecuru. **Revista Trópica**, v.8, n. 2, p.28-40, 2014.
- GODINHO, A. L.; KYNARD, B. Migration and Spawning of Radio-Tagged *Zulega Prochilodus argenteus* in a Dammed Brazilian River. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.135, p. 811–824, 2006.
- GOUY M., GUINDON S., GASCUEL, O. SeaView versão 4: uma interface gráfica de usuário multiplataforma para alinhamento de seqüências e construção de árvores filogenéticas. **Biologia Molecular e Evolução** v. 27 (2), p. 221-224, 2010.
- HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium**, 1999.
- HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L. e WARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 270, p. 313-321, 2003.
- HUBERT, N.; HANNER, R.; HOLM, E.; MANDRAK, N. E.; TAYLOR, E.; BURRIDGE, M.; WATKINSON, D.; DUMONT, P.; CURRY, A.; BENTZEN, P.; ZHANG, J.; APRIL, J.; BERNATCHEZ, L. Identifying canadian freshwater fishes trough DNA barcodes. **PloS One** www.plosone.org. v. 3, p. 2490, 2008.
- KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, p. 111-120, 1980.
- KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAR, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. **Molecular Biology and Evolution**. v. 35, p. 1547-1549, 2018.
- MACHADO, V. N.; WILLIS, S. C.; TEIXEIRA, A. S.; HRBEK, T.; FARIAS, I. P. Population genetic structure of the Amazonian black flannelmouth characin (Characiformes, Prochilodontidae: *Prochilodus nigricans* Spix & Agassiz, 1829): contemporary and historical gene flow of a migratory and abundant fishery species. **Environmental Biology of Fishes**. v.100, p.1–16, 2016.
- MELO, B. F.; SIDLAUSKAS, B. L.; HOEKZEMA, K.; FRABLE, B. W.; VARI, R. P.; OLIVEIRA, C. Molecular phylogenetics of the neotropical fish family Prochilodontidae (Teleostei: Characiformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 102, p. 189–201, 2016.

MELO, B. F.; DORINI, B. F.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, CLAUDIO. Little Divergence among mitochondrial lineages of *Prochilodus* (Teleostei, characiformes). **Frontiers in genetics**.v. 9, p. 1-9, 2018.

NASCIMENTO, M.H.S., ALMEIDA, M.S., VEIRA, M.N.S., LIMEIRA-FILHO, D., LIMA, R.C., BARROS, M.C.; FRAGA, E.C. DNA barcoding reveals high levels of genetic diversity in the fishes of the Itapecuru Basin in Maranhão, Brazil. **Genetics and Molecular Research**,v. 15, 2016.

OLIVEIRA, C., AVELINO, GS, ABE, KT, MARIGUELA, TC, BENINE, RC, ORTI, G, VARI, RP E CASTRO, RMC. Relações filogenéticas dentro da família Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) baseado em multilocus análise e extensa amostragem em grupo. **BMC Evolution Biology**, v.11, n.1, p. 275, 2011.

PALUMBI, S. **The simple fool's guide to PCR, version 2.0**. University of Hawaii, Honolulu, 1991.

PALUMBI, S.R. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: Hillis, D., Moritz, C., Mable, B. (Eds.), **Molecular Systematics**. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA, USA, 1996.

PEREIRA, L. H. G., HANNER, R., FORESTI, F., AND OLIVEIRA, C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse neotropical freshwater fish fauna? **BMC Genetic**. p. 14-20, 2013.

PEREIRA, LH, MAIA, GM, HANNER, R., FORESTI, F. E OLIVEIRA, C. Códigos de Barras de DNA discriminam peixes de água doce da Paraíba do Sul Bacia do Rio, São Paulo, Brasil. **Revista DNA Mitochondrial**. 22, 71-79, 2011.

PIORSKI, N. M. **Diversidade genética e filogeografia das espécies *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) e *Prochilodus lacustris* Steindachner, 1907 no nordeste do Brasil**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Área de Concentração: Genética e Evolução. Universidade Federal de São Carlos. 2010.

PIORSKI, N. M.; CASTRO, A. C. L.; SOUSA NETO, M. A. S. Peixes do cerrado da Região Sul Maranhenses. In: Barreto, L. **Cerrado do Norte do Brasil. North cerrado of Brasil**. Pelotas: Ed. USEB, 378p. 2007.

QUEIROZ, L.J.; OHARA, W.M.; VARI, R.P. Capítulo 13 Prochilodontidae. v. 1, p. 140-146 p. In: **Peixes do Rio Madeira**. Obra em 3 volumes. 1ª edição. São Paulo. Ed. Dialeto Latin American Documentary, 2013.

RAMOS, T. P. A.; RAMOS, R. T. C.; RAMOS, S. A. Q. A. Ichthyofauna of the Parnaiba river Basin. Northeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v.14, p. 1–8, 2014.

ROZAS, J; SANCHEZ-DELBARRIO, J. C; MESSENGUER, X; ROZAS, R. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. **Bioinformatics**, v.19, p. 2496-2497, 2017.

RUEDA, E. C.; CARRIQUIRIBORDE, P.; MONZÓN, A. M.; SOMOZA, G. M.; ORTÍ, G. Seasonal variation in genetic population structure of sábalo (*Prochilodus lineatus*) in the Lower Uruguay River. **Genética**, v. 141, p. 401–407, 2013.

- SALES, N. G.; PESSALI, T. C.; ANDRADE NETO, F. R.; CARVALHO, D. C. Introgression from non-native species unveils a hidden threat to the migratory Neotropical fish *Prochilodus hartii*. **Biological Invasion**, v. 20, p. 555–566. 2018.
- SANTOS, S.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. Genetic differentiation of *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, p. 151-161. 2003.
- SILVA, F. C.; BARROS, M. C.; FRAGA, E. Sistemática molecular de Curimatá (*Prochilodus*, Prochilodontidae) de bacias hidrográficas do norte e nordeste. In: **63ª SBPC - Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**. Goiânia. 2011.
- SIVASUNDAR, A.; BERMINGHAM, E.; ORTÍ, G. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. **Molecular Ecology**, v. 10, p. 407-418, 2001.
- SOARES, E. C. **Peixes do Mearim**, Fish of the Mearim River. São Luís: Instituto Geia. p. 143, 2005.
- STANLEY, S. M. **Macroevolution: Pattern and Process**. Baltimore, MD: The John Hopkins University Press, 1979.
- TURNER, T.; MCPHEE, M. V.; CAMPBELL, P.; WINEMILLER, K. O. Phylogeography and intraspecific genetic variation of prochilodontidae fishes endemic to rivers of northern South America. **Journal of Fish Biology**, v. 64, p. 186–201, 2004.
- UTSUNOMIA, R., ALVES, JC, PAIVA, LR, SILVA, GJ, OLIVEIRA, C, BERTOLLO, LA E FORESTI, F. Diferenciação genética entre cariomorfos distintos do peixe lobo Complexo de espécies de *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae) e relato de hibridização incomum com triploidia natural. **Journal of Fish Biology**, v. 85, n. 5, p.1682-1692, 2014.
- WARD, R. D., ZEMLBAK, T. S., INNES, B. H., LAST, P.R.; HEBERT, P. D. N. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical transactions of the Royal Society B**, v. 360, n. 1462, p. 1847 – 1857, 2005.
- WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, v. 19, p. 395-420. 1965.

CAPÍTULO 17

QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO URSÓLICO PRESENTE EM EXTRATOS HIDROETANÓLICOS DE DIFERENTES PARTES DA NÊSPERA

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 30/06/2020

Amanda Neris dos Santos

Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/1413393271728078>

Viviane Dias Medeiros Silva

Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7185084760096182>

Camila Argenta Fante

Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/0342621968094479>

RESUMO: Nêspera (*Eriobotrya japonica* Lindl.) é uma fruta com potencial antimicrobiano que provém principalmente do ácido ursólico. O objetivo deste estudo foi quantificar o ácido ursólico presente em extratos de diferentes partes da nêspera. As nêsperas foram coletadas em janeiro de 2017 e separadas em ‘polpa’, ‘polpa e semente’ e ‘semente’. Essas partes foram liofilizadas por 24 horas e trituradas em um processador de alimentos para aumentar a área de contato para extração. As amostras trituradas foram diluídas com solução de etanol-água (1: 1 v / v). Os compostos bioativos do extrato foram identificados por análise UPLC. Para a identificação do pico do ácido ursólico, foi utilizado um detector UV-vis de fotodiodo em uma faixa de 200 a 400 nanômetros, uma coluna C18

com temperatura de trabalho de 23 ± 3 °C e uma fase móvel dividida em duas soluções. O padrão de ácido ursólico foi injetado sob condições predeterminadas. Os respectivos valores de absorvância das concentrações, que variaram de 10 a 150 ppm, foram calculados pela equação ($Y = 8209,4 x$) e o coeficiente de determinação encontrado foi $R^2 = 0,9595$. Os extratos foram injetados nas mesmas condições do padrão. Os resultados da análise UPLC demonstraram que a concentração de ácido úrsólico presente no extrato de “semente” de nêspera ($0,65 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$) foi maior que nos extratos de “polpa e semente” ($0,23 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$) e “polpa” ($0,08 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$). Saber as concentrações do composto antimicrobiano nas partes da nêspera é um primeiro passo para isolar o ácido ursólico da fruta e usá-lo com um conservante orgânico nos alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: Nêspera; Potencial antimicrobiano; Ácido ursólico.

QUANTIFICATION OF URSOLIC ACID PRESENT IN HYDROETHANOLIC EXTRACTS FROM DIFFERENT PARTS OF LOQUAT FRUIT

ABSTRACT: Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) is a fruit with antimicrobial potential that comes mainly from ursolic acid. The aim of this study was to quantify the ursolic acid present in extracts from different parts of loquat fruit. Loquats were collected in January 2017, and separated into ‘pulp’, ‘pulp and seed’ and ‘seed’. These parts were lyophilized for 24 hours and ground in a food processor to increase the contact area for extraction. The crushed samples were diluted by

ethanol-water solution (1:1 v/v). The bioactive compounds of the extract were identified by UPLC analysis. For the identification of the ursolic acid peak, a photodiode array UV-vis detector was used in a range of 200 to 400 nanometers, a C18 column with a working temperature of 23 °C ± 3 and a mobile phase divided into two solutions. The ursolic acid standard was injected under the predetermined conditions. The respective absorbance values of the concentrations, which ranged from 10 - 150 ppm, were calculated by the equation ($Y = 8209,4 x$) and the determination coefficient found was $R^2 = 0.9595$. The extracts were injected under the same conditions as the standard. The results from UPLC analysis demonstrated that the ursolic acid concentration presented in the “seed” extract of loquat (0.65 mg.100mL⁻¹) was higher than the extracts from the “pulp and seed” (0.23 mg.100mL⁻¹) and “pulp” (0.08 mg.100mL⁻¹). Know the concentrations of antimicrobial compound in the loquat parts has is a first step to isoled ursolic acid of the fruit and use it with a organic preservative in foods.

KEYWORDS: Loquat; Antimicrobial potential; Ursolic acid.

INTRODUÇÃO

Nêspera (*Eriobotrya japonica* Lindl.) é uma fruta, ilustrada na Figura 1 com potencial antimicrobiano alcançado principalmente pelo ácido ursólico (Rashed e Butnariu, 2014; Bobis *et al.*, 2015; Wozniak *et al.*, 2015).



Figura 1 - Nêspera.

Fonte: do autor

Ácidos extraídos de plantas atuam por seus metabólitos secundários neutralizando espécies reativas de oxigênio – ROS (Ercisli *et al.*, 2012). Desta forma, é necessária a presença de hidroxilas livres e grupos carboxilas, mas a hidrofobicidade deste composto atrapalha a miscibilidade em água (Sultana, 2011; Eloy *et al.*, 2012). No entanto, este ácido é um composto bioativo presente na composição natural da nêspera e é preservado em seu extrato hidroetanólico (López-Hortas *et al.*, 2018).

OBJETIVO

Quantificar o ácido ursólico presente em extratos de diferentes partes da nêspera.

MATERIAIS

As nêsperas utilizadas foram coletadas no mês de janeiro de 2017, no talude da reitoria da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. O Álcool etílico utilizado foi da marca Synth® e o padrão analítico de ácido ursólico foi adquirido na Sigma Aldrich® com grau de pureza estabelecido como maior ou igual a 98,5 %.

MÉTODOS

A nêspera foi separada em ‘polpa’, ‘polpa e semente’ e ‘semente’, essas partes foram liofilizadas por 24 horas e trituradas em um processador de alimentos para aumentar a área de contato para extração. As amostras trituradas foram diluídas com solução de etanol-água (1: 1 v / v). Para cada vinte gramas de “polpa”, “polpa e semente” e “semente” foram utilizados 100 mL da solução de extração.

A mistura foi agitada, protegida da luz e armazenada à temperatura ambiente (23 ± 3 °C) durante 48 horas. Os extratos foram filtrados em papel de filtro e o solvente foi evaporado rotativamente até todo o etanol ser coletado no balão de destilação e o extrato ainda permanecer líquido.

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO URSÓLICO NOS EXTRATOS

Os compostos bioativos do extrato foram identificados por análise de Cromatografia Líquida de Ultra Performance - UPLC. Para a identificação do pico do ácido ursólico, foi utilizado um cromatógrafo líquido (Waters, Acquity UPLC® Class, Milford, USA) equipado com detector UV-vis de fotodiodo em uma faixa de 200 a 400 nanômetros, uma coluna C18 (Acquity UPLC® BEH C18, 2,1 x 100 mm, 1,7 µm, Waters, Milford, USA) com temperatura de trabalho de 23 ± 3 °C e uma fase móvel dividida em duas soluções: solução A composta por acetonitrila / água (10:90, v / v) e solução B por ácido acético / acetonitrila / água (5:80:15, v / v). Na análise, o gradiente de solvente foi programado de 0 a 50% de B em A por cinquenta minutos a uma vazão de 1 mL.min⁻¹. O padrão de ácido ursólico foi injetado sob condições predeterminadas.

Os respectivos valores de absorbância das concentrações, que variaram de 10 a 150 ppm, foram calculados pela equação ($Y = 8209,4 x$) e o coeficiente de determinação encontrado foi $R^2 = 0,9595$. Os extratos foram injetados nas mesmas condições do padrão.

RESULTADOS

Os resultados da análise UPLC demonstraram que a concentração de ácido ursólico presente no extrato da “semente” da nêspera ($0,65 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$) foi maior que nos extratos de “polpa e semente” ($0,23 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$) e “polpa” ($0,08 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$), conforme Apresentado no Gráfico 1.

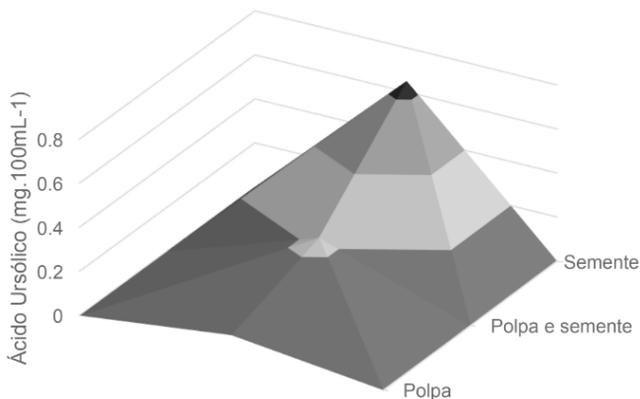


Gráfico 1 - Concentração de ácido ursólico nos extratos das partes da nêspera.

Marques, *et al.*, 2020, constataram que o ácido lactobiónico apresentou ação conservadora no suco de yacom nas concentrações de 0,5 e 1,0%. Já Hernández-Cánovas, *et al.*, 2020 estudaram uma mistura de antimicrobianos naturais extraídos de cítricos e endro, e foi observado ação antifúngica nas concentrações entre 0,7 e 3,2% ao utilizá-la como conservador em molhos.

Desta forma, o extrato da semente da nêspera, é um extrato proveniente de uma das partes da fruta e apresenta concentração de ácido ursólico equivalente ao necessário para ser avaliado como uma possibilidade de utilização na conservação de alimentos.

CONCLUSÃO

O ácido ursólico é um dos principais compostos antimicrobianos da nêspera e determinar as concentrações deste ácido nas diferentes partes deste fruto, é de fundamental importância para isolá-lo e usá-lo como conservante orgânico nos alimentos. Com os resultados apresentados neste trabalho, a semente da nêspera é uma possibilidade de fonte de ácido ursólico.

REFERÊNCIAS

BOBIS, O. *et al.* **Influence of phytochemical profile on antibacterial activity of different medicinal plants against gram-positive and gram-negative bacteria.** Applied Biochemistry and Microbiology, Moscow, v. 51, n. 1, p. 113-118, 2015. ISSN 0003-6838.

ELOY, J. D. O. *et al.* **Desenvolvimento e validação de um método analítico por clae para quantificação de ácido ursólico em dispersões sólidas.** Química Nova, v. 35, p. 1036-1040, 2012.

ERCISLI, S. *et al.* **Some physicochemical characteristics, bioactive content and antioxidant capacity of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) fruits from Turkey.** Scientia Horticulturae, v. 148, p. 185-189; 2012. ISSN 0304-4238.

HERNANDEZ-CA´NOVAS, J. de D. *et al.* **Antimicrobial activity of Citrus spp. and Anethum graveolens components against Candida metapsilosis in ranch sauce;** Journal of Food Science and Technology; v. 57, p. 2713–2721; 2020. ISSN 0975-8402.

LÓPEZ-HORTAS, L. *et al.* **Recent developments on the extraction and application of ursolic acid. A review.** Food Research International, v. 103, p. 130-149; 2018. ISSN 0963-9969.

MARQUES, C. *et al.* **Lactobionic acid as a suitable food preservative for yacon juice;** Innovative Food Science and Emerging Technologies; V. 64; 2020. ISSN 1466-8564.

RASHED, K. N.; BUTNARIU, M. **Isolation and antimicrobial and antioxidant evaluation of bio-active compounds from Eriobotrya japonica stems.** Advanced Pharmaceutical Bulletin, v. 4, n. 1, p. 75-81, 2014. ISSN 2228-5881.

SULTANA, N. **Clinically useful anticancer, antitumor, and antiwrinkle agent, ursolic acid and related derivatives as medicinally important natural product.** J. Enzym. Inhib. Med. Chem. V. 26; p. 616-642; 2011.

WOZNIAK, L.; SKAPSKA, S.; MARSZALEK, K. **Ursolic Acid-A Pentacyclic Triterpenoid with a Wide Spectrum of Pharmacological Activities.** Basel: MDPI AG. 20; 2015. ISSN 20614-20641.

CAPÍTULO 18

TOXICIDADE EM NÍVEL CELULAR DE PRODUTOS SANEANTES DE POLIMENTO DE UTENSÍLIOS DE ALUMÍNIO PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO BRASIL

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 26/08/2020

Éderson Vecchietti Gonçalves

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2524650646926777>

Letícia Scala Frâncica

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2869983463275620>

Ana Caroline Zago Pestana

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1863199106494764>

Leonardo Borges Coletto Correia

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil

Lidiane de Lima Feitoza

Universidade Federal do Piauí (UFPI). Campus
Ministro Petrônio Portella (CMPP)
Teresina, Piauí, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5456816132715008>

Wyrllen Éverson de Souza

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/3149585270858364>

Flávia Vieira da Silva Medeiros

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil.
<http://lattes.cnpq.br/8298141172237555>

Márcia Maria Mendes Marques

Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus
Senador Helvídio Nunes de Barros (CSHNB)
Picos, Piauí, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1673578415957204>

Débora Cristina de Souza

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9682347849778341>

Paulo Agenor Alves Bueno

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1838875919713622>

Ana Paula Peron

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR)
Campo Mourão, Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/3605560420792065>

RESUMO: Ampla é a comercialização e uso de saneantes domissanitários polidores de utensílios de alumínio, popularmente denominados de “brilha aluminios”. No entanto, não são encontrados em bases de dados científica estudos de avaliação de toxicidade em nível celular em relação a esses produtos. Assim, objetivou-se no presente estudo verificar, por

meio de meristemas de raízes de *Allium cepa*, em dois tempos de exposição e três concentrações/diluições, os potenciais citotóxicos e genotóxicos de produtos “brilha alumínio” produzidos e comercializados no Brasil. Observou-se que os saneantes, nas condições de análises estabelecidas, reduziram drasticamente o índice mitótico dos tecidos meristemáticos, caracterizando-se como citotóxicos. Porém, não se verificou ação genotóxica dos “brilha alumínio” ao bioensaio utilizado. A partir dos resultados de citotoxicidade, verificou-se que os saneantes causaram distúrbios a divisão celular de um tecido de funcionalmente normal com intensa divisão celular (meristemas). Esses distúrbios podem prejudicar o funcionamento de tecidos e órgãos de indivíduos expostos direta ou indiretamente a esses saneantes, como humanos e outros organismos presentes no ambiente. Assim, sugere-se que estes saneantes sejam avaliados também em bioensaios fisiologicamente mais complexo para complementar os resultados preliminares e toxicidade aqui obtidos.

PALAVRAS-CHAVE: Surfactantes não saponáceos, toxicidade, células meristemáticas, divisão celular.

CELLULAR TOXICITY OF SANITIZING PRODUCTS FOR POLISHING ALUMINUM UTENSILS PRODUCED AND MARKETED IN BRAZIL

ABSTRACT: The commercialization and use of household sanitizing polishes for aluminum utensils, popularly known as “aluminum shines”, is broad. However, studies on toxicity assessment at the cellular level in relation to these products are not found in scientific databases. Thus, the objective of the present study was to verify, by means of meristems of *Allium cepa* roots, in two times of exposure and three concentrations / dilutions, the cytotoxic and genotoxic potentials of “aluminum shine” products produced and commercialized in Brazil. It was observed that sanitizers, under the conditions of established analyzes, drastically reduced the mitotic index of meristem tissues, being characterized as cytotoxic. However, there was no genotoxic action of the “aluminum shines” to the bioassay used. From the results of cytotoxicity, it was found that sanitizing caused disturbances to the cell division of a functionally normal tissue with intense cell division (meristems). These disorders can impair the functioning of tissues and organs of individuals exposed directly or indirectly to these sanitizers, such as humans and other organisms present in the environment. Thus, it is suggested that these sanitizers are also evaluated in more complex physiologically bioassays to complement the preliminary results and toxicity obtained here.

KEYWORDS: Non-saponaceous surfactants, toxicity, meristematic cells, cell division.

INTRODUÇÃO

Com a busca constante de maior praticidade atrelada ao surgimento/aperfeiçoamento de tecnologias, a cada dia novos produtos e marcas de saneantes domissanitários são lançados no mercado, como aqueles de limpeza e polimentos de utensílios domésticos metálicos. Dentre estes produtos estão os surfactantes

não saponáceos de superfícies de alumínio -popularmente denominados de “brilha alumínios”, comercializados em todo o mundo. Em geral, tais produtos possuem formulação constituída de agentes surfactantes e ácidos, bem como de aditivos supressores de espuma, reforçadores de brilho, inibidores de corrosão, conservantes e corantes. No Brasil, os saneantes são regulamentados, quanto a fabricação e formas de uso, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária por meio das Leis N° 6.360, de 1976 e N° 9782/99, de 1999.

Porém, embora as atividades de limpeza e polimento de utensílios de alumínio sejam de uso rotineiro entre atividade domésticas, a formulação química de produtos para essa finalidade pode ser danosa quando realizadas sem equipamentos de proteção individual (EPI), e causar, por exemplo, a desidratação das mãos e braços, lesões e irritações na pele, e queimaduras aos olhos e ao trato respiratório. Ademais, e não menos importante, podem ser prejudiciais ao ambiente uma vez que em domicílios esses produtos são enviados ao esgoto comum após o enxague de utensílios, contaminando rios e prejudicando os organismos que ali estão. Também podem contaminar águas que abastecem a população, uma vez que sistemas de tratamento de água convencionais não são eficientes em removê-los.

Apesar dos testes de avaliação de toxicidade sistêmica e celular serem obrigatórios para a liberação e comercialização de saneantes domissanitários, não foram encontrados na literatura científica estudo de avaliação de toxicidade em nível celular de agentes saneantes polidores de alumínio. Ressalta-se que a toxicidade em nível celular reflete o potencial de uma substância ou várias substâncias causarem efeito danoso a um organismo vivo e ao ambiente. Esta condição pode ser avaliada por meio dos potenciais citotóxico e genotóxico desses compostos em diferentes bioensaios, como em plantas, animais e cultura de células.

Bioensaios com plantas são sensíveis e simples para monitorar efeitos citotóxicos e genotóxicos de diversos produtos presentes no ambiente. Entre esses, o sistema teste *Allium cepa* (cebola) é considerado como um bioensaio inicial eficiente para avaliar a toxicidade em nível celular. Isso se deve as suas propriedades de rápida proliferação, cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$), o que facilita a detecção do potencial citotóxico pela inibição ou proliferação celular excessiva, e do potencial genotóxico, determinado pela frequência e tipos de alterações celulares observadas. Este sistema teste é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e o pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento da citotoxicidade e genotoxicidade de substâncias de interesse. É importante mencionar que os resultados obtidos por meio do bioensaio *A. cepa*, em grande parte das vezes, são similares aos resultados observados em outros sistemas testes, como aqueles realizados em animais e cultura de células.

Portanto, com base no contexto abordado, objetivou-se no presente estudo avaliar, por meio de células meristemática de raízes de *A. cepa*, a citotoxicidade e genotoxicidade de produtos saneantes polidores de utensílios domésticos de alumínio, denominados de “brilha aluminios”, produzidos e comercializados no Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção dos saneantes de limpeza e polimento, e determinação das concentrações para a avaliação de toxicidade em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*

Os produtos de limpeza e polimento para utensílios de alumínio, na forma líquida, de três diferentes marcas comerciais autorizadas pela ANVISA (BRASIL, 1999), foram adquiridos em um distribuidor especializado na venda nacional de produtos de limpeza, localizado na cidade de Maringá, Estado do Paraná, Brasil. Tais produtos são produzidos e comercializados em todo o país. Os produtos encontravam-se dentro do prazo de validade e os frascos em perfeitas condições.

Nos rótulos não havia especificado o quanto utilizar de cada produto, e não foi encontrado na literatura e nem no site das empresas desses saneantes esta informação. Dessa forma, estabeleceu-se para a avaliação preliminar de citotoxicidade e genotoxicidade de três concentrações: 1; 10 e 20 mL de cada saneante, diluídos em 1L de água de destilada.

Teste de citotoxicidade e genotoxicidade em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L.

Para a avaliação dos três produtos, inicialmente, bulbos de cebolas foram colocados em frascos aerados com água destilada até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento. Para análise de todo tratamento (concentração/diluição) foi estabelecido um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a seus respectivos tratamentos, algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo, o que se identificou como tempo de análise 0 hora (0h).

Em seguida, as raízes restantes foram postas em suas respectivas concentrações por 24 e 48 horas, procedimentos denominados de tempos de exposição 24 e 48h, onde se realizou coleta de raízes a cada 24 horas. Preparou-se um controle negativo, somente com água destilada, no qual também se coletou raízes nos tempos 0, 24 e 48 h. Todas as raízes coletadas foram fixadas em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por até 24 horas.

As lâminas foram confeccionadas segundo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x. Para cada

bulbo analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada grupo controle (0h), grupo tempo de exposição 24h e grupo tempo de exposição 48h. Contabilizou-se células em interfase e em divisão celular, e definiu-se o índice mitótico, determinando-se assim o potencial citotóxico.

Ainda, avaliou-se a genotoxicidade através da frequência de micronúcleos, e de alterações aneugênicas ou de fuso mitótico, por meio do número observado de metáfases colchínicas, pontes anáfasicas e telofásicas, ampliações gênicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares. Os resultados obtidos dos foram analisados pelo teste estatístico Qui-quadrado (χ^2) a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados apresentados na Tabela 1, todos os saneantes, nas três concentrações, causaram redução significativa da divisão celular, nos tempos de exposição 24 e 48 horas, quando comparados aos índices mitóticos observados para o controle com água destilada e respectivos controles de bulbo (tempo de exposição 0h). Esses resultados mostraram que, nas condições de análises estabelecidas, os três polidores de alumínio foram amplamente citotóxicos as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. É importante evidenciar que independente da concentração/diluição avaliada para os três produtos, a inibição do índice mitótico se intensificou com o aumento do tempo de exposição.

Controle		TE/IM(%)		
		0 h	24 h	48 h
Água destilada		39,7 ^a	30,9 ^a	30,2 ^a
		TE/IM(%)		
Produtos	TR (mL/L)	0 h	24 h	48 h
A	1,0	39,3 ^a	18,5 ^b	8,2 ^c
	10,0	40,0 ^a	5,0 ^b	1,8 ^c
	20,0	39,8 ^a	3,5 ^b	0,2 ^c
B	1,0	33,1 ^a	15,8 ^b	12,1 ^c
	10,0	38,2 ^a	10,9 ^b	11,2 ^c
	20,0	30,6 ^a	9,4 ^b	7,4 ^c
C	1,0	31,0 ^a	13,0 ^b	1,7 ^c
	10,0	28,1 ^a	3,7 ^b	0,9 ^c
	20,0	27,3 ^a	9,9 ^b	0,1 ^c

Tabela 1 – Índices mitóticos observados em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos a 24 e 48 horas a produtos de limpeza e polimento de utensílios de alumínio, denominados nesse estudo de A, B e C, nas concentrações 1, 10 e 20 ml de

saneante em 1L de água destilada.

Legenda: Co: controle; TE: tempo de exposição; IM: índice mitótico; h: hora; TR: tratamento. Letras diferentes indicam quem em cada concentração os índices mitóticos obtidos, nos diferentes tempos de exposição, diferem entre si. ***índice mitótico obtido para o tempo de exposição em uma concentração diferiu** do seu respectivo tempo exposição no controle com água destilada.

Para o produto B verificou-se que todas as concentrações causaram inibição significativa da divisão celular, nos tempos de exposição 24 e 48 horas quando comparados aos índices mitóticos observados para os seus respectivos controles. No entanto, em B os índices de divisão celular obtidos para os dois tempos de análises considerados (24 e 48 h) não diferiram entre si.

Com base nos dados apresentados na Tabela 01, os três “brilha alumínio”, desde a menor concentração considerada, foram citotóxicos as raízes de *A. cepa*, em razão de terem causado inibição significativa da divisão celular a estes meristemas. Nenhum dos saneantes causaram alterações de fuso mitótico e celular aos tecidos analisados, mostrando-se não genotóxico.

Conforme citado por Herrero et al. (2012) e Sousa et al. (2017), índices mitóticos significativamente inferiores aos índices dos controles - como os observados no presente estudo - indicam a presença de agentes cuja ação tóxica compromete o crescimento e o desenvolvimento dos organismos expostos. Ademais, esses autores declaram que a inibição da proliferação celular desencadeada por compostos citotóxicos em tecidos de intensa proliferação celular e com desempenho normal, como os utilizados nesta pesquisa, é bastante prejudicial a maioria dos organismos vivos por inibir ou limitar a reposição de células, alterar a produção de proteínas e resultar no mal funcionamento do órgão onde está localizada. Estes prejuízos, segundo Valavanidis et al. (2013) e Zilifdar et al. (2014), podem comprometer significativamente a divisão celular do tecido ou órgão afetados e desencadear e/ou potencializar processos cancerosos. Ainda, podem causar a morte de muitos organismos presentes em ambientes hídricos.

Sobre a condição dos “brilha alumínio” terem apresentado potencial citotóxico mas não genotóxico, Sales et al. (2017) e Moura et al. (2018) ressaltam que a inibição drástica da divisão em tecidos normais podem ocorrer pela ação de agentes que afetam a integridade do fuso nuclear durante a mitose promovendo significativo desarranjo cromossômico. Ao considerar que o princípio do ciclo celular é a formação de células idênticas, a produção de novas células com alteração significativa na estrutura e/ou no número cromossômico tornam o funcionamento celular inviável e tendem a ser eliminadas de tecidos com desempenho normal, o que pode acarretar efeito antiproliferativo significativo e morte dependendo do organismo considerado.

De acordo com os rótulos dos polidores, tais produtos são constituídos por surfactantes não saponáceos (não especificados), ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, conservante isotiazolinona, corante (não especificado), aditivo antiespumante -não especificado- e aditivo anticorrosivo - não especificado. Para os compostos não especificados, não se encontrou na literatura informações sobre quais compostos em específico são utilizados na fabricação de saneantes polidores de superfícies metálicas. Para a isotiazolinona não se verificou estudos de avaliação de toxicidade sistêmica e celular. No entanto, é sabido que essa substância pode provocar queimaduras em primeiro e segundo grau dependendo da concentração utilizada (MONSALVEZ et al., 2011). Os ácidos mencionados são altamente corrosivos e tóxicos aos organismos vivos (TORRES et al., 2016).

Assim, os dados de citotoxicidade obtidos no presente estudo indicam a necessidade de se avaliar saneantes polidores de alumínio em bioensaios mais complexos para complementar os resultados de toxicidade aqui obtidos, e possibilitar uma maior segurança à população na utilização desses produtos e a outros organismos que podem ser expostos a eles.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei N° 6.360, de 23 de setembro de 1976. **Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos.** Diário Oficial da União 1976. Acesso em 01 de ago 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Lei N° 9782/99, de 22 de julho de 1999. Dispõe sobre Registro de Produtos Saneantes Domissanitários e Afins, de Uso Domiciliar, Institucional e Profissional.** Diário Oficial da União 1999. Acesso em 01 de ago 2018.

GUERRA M., SOUZA M.J. **Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2004.

HERRERO O., MARTÍN J.P., FREIRE O.F., LÓPEZ L.C., PEROPADRE A, HAZEN M.J. **Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test.** Mutation Research. v. 743, p. 24-34, 2012.

MONSALVEZ V., FUERTES L., FRUTOS J.O., VANACLOCHA F. **Sensibilización a metil-cloro-isotiazolinona/metilisotiazolinona tras quemadura por exposición profesional massiva accidental.** Actas Dermos-Sifiligráficas. v. 102, 224-226, 2011.

MOURA D.D.A., VELOSO C.J.S., OLIVEIRA V.A., SILVA M.M.M., SANTOS F.K.S., PERON A.P **Toxicity of Goji Berry fruit *in natura* and associated with artificial excipients.** Acta Scientiarum. Biological Science, v. 41, p. 13-20, 2018.

SALES, I.M.S., BARBOSA J.S.; SANTOS F.K.S., SILVA F.C.C., FERREIRA P.M.P., PERON A.P. **Acute Toxicity of Grape, Plum and Orange Synthetic Food Flavourings Evaluated *in vivo* Test Systems**. Food Technology and Biotechnology, v. 55, p. 131-137, 2017.

SOUSA J.M.C., PERON A.P., SOUSA L.S., MATOS L.A., OLIVEIRA V.A., LIMA A.M.V, SILVA F. C.C., BONECKER C.C., JULIO JUNIOR H.F. **Cytotoxicity and genotoxicity of river waters surface Guaribas (Piauí - Brazil) influenced by anthropogenic action**. Environmental Monitoring Assessment, v. 189, p. 501-507, 2017.

SALES I.M.S., BARBOSA, J.S., SANTOS F.K.S., SILVA, F.C.C., FERREIRA, P. M.P., PERON, A. P. **Assessment of Grape, Plum and Orange Synthetic Food Flavourings Using *in vivo* Acute Toxicity Tests**. Food Technology and Biotechnology, v. 55, p. 131-137, 2017.

TORRES V.V., CABRAL G.B., SILVA A.C.G.D., FERREIRA K.C.R., D'ELIA E. **Inhibitory action of papaya seed extracts on the corrosion of carbon steel in 1 mol l⁻¹ hcl solution**. Quimica Nova, v. 39:423-430, 2016.

VALAVANIDIS A., VLACHOGIANNI A., FIOTAKIS K., LORIDAS, S. **Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms**. International Journal Environmental Research Public Health, v. 10, p.3886-3907, 2013.

ZILIFDAR F., ALPER-HAYTA S., YILMAZ S., KAPLAN-ÖZEN Ç., FOTO E., AYDOĞAN Z. **Genotoxic potential eukaryotic DNA topoisomerase I inhibitory effects of some benzoxazine derivatives**. Medicinal Chemistry Research ,v. 23, p. 480-486, 2014.

QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO EM ÁREAS CULTIVADAS COM CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE GOIÁS

Data de aceite: 23/09/2020

Ana Caroline da Silva Faquim

<http://lattes.cnpq.br/0791648753335083>

Eliana Paula Fernandes Brasil

<http://lattes.cnpq.br/7324619074753727>

Wilson Mozena Leandro

<http://lattes.cnpq.br/9052207260053937>

Aline Assis Cardoso

<http://lattes.cnpq.br/4270933743190484>

Michel de Paula Andraus

<http://lattes.cnpq.br/9595136781464277>

Joyce Vicente do Nascimento

<http://lattes.cnpq.br/5548884686226950>

Jéssika Lorraine de Oliveira Sousa

<http://lattes.cnpq.br/6547884826431259>

Adriana Rodolfo da Costa

<http://lattes.cnpq.br/8142254771826531>

Caio Fernandes Ribeiro

<http://lattes.cnpq.br/8407646305334454>

RESUMO: A expansão da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) no cenário agrícola brasileiro tem sido impulsionada por tecnologias que contribuem na conservação do solo, redução de custo de produção e maior produtividade. O solo é a base para produção sustentável, a qualidade do solo é um fator que está diretamente relacionado com a sustentabilidade das funções de um agroecossistema. Nesse

sentido, é importante dar atenção à qualidade do solo que é definida como sendo a capacidade deste em funcionar dentro de um ecossistema, de modo a manter sua produtividade, a qualidade do ambiente e a saúde de plantas e animais. A qualidade do solo é uma temática amplamente discutida na literatura, principalmente no que diz respeito à sua definição e ao conjunto de atributos que podem mensurá-la, levando em consideração a grande diversidade química, física e biológica. Neste contexto, a preocupação com a avaliação da qualidade do solo tem sido crescente, e a quantificação de alterações nos seus atributos, decorrentes da intensificação de seu uso e manejo, tem sido realizada objetivando aumentar o índice de produtividade das culturas e, ao mesmo tempo, promover a sustentabilidade do ecossistema terrestre. Dentre os indicadores disponíveis para a avaliação da qualidade do solo destacam-se a determinação da biomassa microbiana e da respiração basal, ou seja, indicadores biológicos de qualidade do solo. Esses indicadores são mais suscetíveis que os indicadores físicos e químicos às mudanças impostas ao ambiente, como o uso e manejo do solo, e por isso, podem indicar qualquer alteração na sustentabilidade de um meio ambiente. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência da cultura da cana-de-açúcar nos atributos biológicos do solo, em duas regiões do estado de Goiás (Quirinópolis e Goianésia), em talhões de cana-de-açúcar com diferentes anos de implantação, de modo a identificar se há equilíbrio, sustentabilidade e possíveis modificações no solo em decorrência do cultivo da cana-de-açúcar.

PALAVRAS-CHAVE: Setor Sucroalcooleiro, Bioindicadores de solo, Cerrado goiano.

ABSTRACT: The expansion of the culture of sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) in the Brazilian agricultural scenario has been driven by technologies that contribute to soil conservation, reduced production costs and increased productivity. Soil is the basis for sustainable production, soil quality is a factor that is directly related to the sustainability of the functions of an agroecosystem. In this sense, it is important to pay attention to soil quality, which is defined as the capacity of the soil to function within an ecosystem, in order to maintain its productivity, the quality of the environment and the health of plants and animals. Soil quality is a topic widely discussed in the literature, especially with regard to its definition and the set of attributes that can measure it, taking into account the great chemical, physical and biological diversity. In this context, the concern with the evaluation of soil quality has been growing, and the quantification of changes in its attributes, resulting from the intensification of its use and management, has been carried out aiming to increase the productivity index of the crops and, at the same time, promote the sustainability of the terrestrial ecosystem. Among the indicators available for the evaluation of soil quality, the determination of microbial biomass and basal respiration stands out, that is, biological indicators of soil quality. These indicators are more susceptible than physical and chemical indicators to changes imposed on the environment, such as land use and management, and therefore, they can indicate any change in the sustainability of an environment. Thus, the objective of this work was to study the influence of sugarcane culture on the biological attributes of the soil, in two regions of the state of Goiás (Quirinópolis and Goianésia), in sugarcane stands with different years of implantation, in order to identify whether there is balance, sustainability and possible changes in the soil due to the cultivation of sugarcane.

KEYWORDS: Sugar and alcohol sector, Soil bioindicators, Cerrado goiano.

1 | INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais países na produção mundial de cana-de-açúcar, tendo destaque em sua produtividade por hectare e no custo de produção (Salles-Filho et al. 2017). Obteve um rendimento de 620,44 milhões de toneladas produzidos na colheita de 2018/19 provenientes de uma área plantada de 8,48 milhões de ha (CONAB, 2020). Devido as questões econômicas, agrônômicas e ambientais grande parte das áreas que produzem cana-de-açúcar adotam a colheita mecânica por ser mais sustentável, de modo a evitar a queima, além de permitir a manutenção da palhada sobre o solo (Leal et al., 2013).

Segundo levantamentos da CONAB (2019), a agroindústria sucroalcooleira nacional, opera sob circunstâncias positivas e sustentáveis, conciliando preocupações relacionadas ao meio ambiente e aos efeitos indesejáveis da utilização dos combustíveis fósseis. Além da produção de etanol e açúcar, as unidades de produção

têm buscado aumentar sua eficiência na geração de energia elétrica, auxiliando no aumento da oferta e redução dos custos e contribuindo para ampliar a sustentabilidade do setor (Guimarães, 2019).

A expansão da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) no cenário agrícola brasileiro tem sido impulsionada por tecnologias que contribuem na conservação do solo, redução de custo de produção e maior produtividade (Schultz et al., 2010).

O solo é a base para produção sustentável, a qualidade do solo é um fator que está diretamente relacionado com a sustentabilidade das funções de um agroecossistema (Camargo, 2016). Nesse sentido, é importante dar atenção à qualidade do solo que é definida como sendo a capacidade deste em funcionar dentro de um ecossistema, de modo a manter sua produtividade, a qualidade do ambiente e a saúde de plantas e animais (Doran & Parkin 1994).

A qualidade do solo é uma temática amplamente discutida na literatura, principalmente no que diz respeito à sua definição e ao conjunto de atributos que podem mensurá-la, levando em consideração a grande diversidade química, física e biológica (Melo et al., 2017). Neste contexto, a preocupação com a avaliação da qualidade do solo tem sido crescente, e a quantificação de alterações nos seus atributos, decorrentes da intensificação de seu uso e manejo, tem sido realizada (Mercante et al., 2008; Silva et al., 2010) objetivando aumentar o índice de produtividade das culturas e, ao mesmo tempo, promover a sustentabilidade do ecossistema terrestre (Oliveira, 2016)

Dentre os indicadores disponíveis para a avaliação da qualidade do solo destacam-se a determinação da biomassa microbiana e da respiração basal (Bünemann et al., 2018), ou seja, indicadores biológicos de qualidade do solo. Esses indicadores são mais suscetíveis que os indicadores físicos e químicos às mudanças impostas ao ambiente, como o uso e manejo do solo, e por isso, podem indicar qualquer alteração na sustentabilidade de um meio ambiente (Bicalho, 2019).

Quantificar as alterações nos atributos do solo, resultado de sistemas produtivos ou exploração de recursos naturais, permite avaliar interferências antrópicas sobre o ambiente, fornece informações para definir sistemas racionais de manejo, contribui para tornar o solo menos suscetível à perda de capacidade produtiva e colabora para conservação ambiental (Cardoso, 2008).

A compreensão e levantamento dos aspectos biológicos e bioquímicos do solo nas áreas de produção de cana-de-açúcar são considerados critérios importantes capazes de apontar a existência de degradação e também advertir sobre potenciais perturbações ou melhoria do solo, além de identificar a sustentabilidade e equilíbrio dos sistemas de manejo (Aratani et al., 2009). A cana-de-açúcar, por ser uma cultura de expressivo impacto sobre o solo, torna-se necessário conhecer o efeito de

alterações sobre os atributos do solo (Evangelista et al, 2013). Qualquer alteração no solo pode alterar diretamente sua estrutura e atividade biológica e, em consequência, a fertilidade, com reflexos na sua qualidade e na produtividade das culturas (Carneiro et al., 2009).

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência da cultura da cana-de-açúcar nos atributos biológicos do solo, em duas regiões do estado de Goiás (Quirinópolis e Goianésia), em talhões de cana-de-açúcar com diferentes anos de implantação, de modo a identificar se há equilíbrio, sustentabilidade e possíveis modificações no solo em decorrência do cultivo da cana-de-açúcar.

2 | REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana de açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta monocotiledônea, alógama e perene, pertencente à família Poaceae e do gênero *Saccharum*. Seus atuais cultivares são híbridos interespecíficos, os quais possuem, em suas constituições genéticas, as espécies *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. barberi*, *S. robustum* e *S. edule* (Gupta et al., 2010).

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas do mundo, fonte de açúcar, álcool e energia e cultivada em mais de 100 países (WORDATLAS, 2016). Aproximadamente 1700 milhões de toneladas são produzidas anualmente em 24 milhões de hectares. O maior produtor é o Brasil, com 620,44 milhões de toneladas produzidos em 8,48 milhões de hectares na safra 2018/19 (CONAB, 2019).

A colheita da cana ocorre em períodos distintos para as regiões Centro-Sul e Nordeste, devido os diferentes regimes de chuvas. No Centro-Sul, as precipitações ocorrem de setembro a fevereiro, fazendo com que o período de colheita se concentre nos meses de abril/maio a novembro/dezembro. Por esta razão indica-se a produção no Brasil conforme o ano agrícola (CONAB, 2019).

No Brasil, a região Centro-Sul é a produtora de maior destaque, com cerca de 90% da produção brasileira, sendo os 10% restantes produzidos na região Norte-Nordeste. O estado de São Paulo é o maior produtor, possuindo 53% da produção nacional, seguido por Goiás, com 11% (CONAB, 2019).

A indústria de cana-de-açúcar desde muito tempo é uma das atividades que sustenta a economia brasileira. As usinas passaram a ter foco na produção do etanol e, mais recentemente na bioeletricidade, nos álcoolquímicos e na comercialização de créditos de carbono. Tudo isso com a possibilidade do emprego de tecnologias avançadas que aumentam a produtividade e reduzem custos (Neves et al, 2010). A segurança energética se destaca entre as razões decisivas para o aumento da

produção da cana-de-açúcar. O aumento da população mundial e do consumo per capita, associados ao problema da mudança do clima apontam a necessidade de ações mais sustentáveis, nos âmbitos sociais, econômicos e ambientais (Gauder et al, 2011).

A produtividade agrícola da cana-de-açúcar apresenta uma variabilidade em função de diversos fatores e cenários que vem sendo praticados no Brasil, os quais podem variar segundo o tipo de preparo do solo, o tipo de plantio, o tipo de tratos culturais (Oliveira et al, 2007; Andrade & Diniz, 2007), e ainda a composição e quantidade do adubo aplicado.

Nos dias atuais, o interesse mundial em energia renovável e as perspectivas de expansão para a indústria da cana-de-açúcar apontam para a necessidade em aumentar a sustentabilidade na produção de cana-de-açúcar por meios tecnológicos que refletem na diversificação de culturas e a integração das cadeias produtivas (Silva & Fernandes, 2014). Visto isso, um acompanhamento mais direcionado das culturas de cana-de-açúcar deve ser proposto a fim de diagnosticar mais precocemente os efeitos sobre a qualidade do solo, pensando na importância dessa cultura.

2.2 Solos do cerrado

O solo é uma ocorrência natural em que materiais orgânicos, minerais e biológicos formam uma mistura heterogênea e estruturas complexas, fornecendo um ambiente favorável para o desenvolvimento da vida (Jenny, 1992; Ditterich, 2016). Entre as diversas funções que o solo desempenha, tem-se a de moderar a estocagem, liberação e ciclagem de nutrientes, da água e outros elementos, habitat e suporte para o crescimento de diversos organismos vivos, além de diversos serviços sociais, como fonte de alimentos, vestuário e suporte para edificações (Artiom, 2016).

Os solos do Cerrado são predominantemente Latossolos, estando presente em cerca de 46% da área total do bioma (Embrapa, 2006). Latossolos são solos muito antigos, ácidos, intemperizados e, portanto, pobre em nutrientes e suscetíveis à erosão (Manzatto, 2002; Klink & Machado, 2005). São considerados solos de mineralogia simples, prevalecendo o quartzo na sua fração grosseira (silte + argila), com menores quantidades de muscovita e alguns feldspatos potássicos, quando derivados de rochas ácidas. Magnetita e ilmenita com pequena proporção de quartzo prevalecem quando se desenvolvem a partir de rochas básicas, com destaque para o basalto. Na fração argila são variadas as quantidades de caulinita, gibbsita, goethita e hematita, a depender do tipo de material de origem, da intensidade do intemperismo e drenagem do sistema, entre outros fatores. O conceito central dos Latossolos prevê o domínio de caulinita e óxidos de ferro e alumínio, com menores proporções de outros componentes na fração argila (Ker, 1997).

Além das condições de acidez e baixa disponibilidade de nutrientes, os solos

do cerrado apresentam limitações relacionadas a solo e clima, as quais afetam diretamente o desenvolvimento de uma agricultura intensiva. A alta probabilidade de ocorrência de períodos secos durante a estação chuvosa é uma das maiores limitações à produção de alimentos num sistema de agricultura não irrigada. Somando esse fator à baixa capacidade de retenção de água no solo esse problema tende a ser agravado. Um terceiro componente importante é a alta saturação por alumínio e/ou baixo teor de cálcio que age como uma barreira química à penetração das raízes. As baixas produções nesses ambientes podem ser justificadas pelo desenvolvimento restrito do sistema radicular das culturas nos subsolos ácidos dos cerrados, uma vez que o volume de solo explorado pelas raízes não é suficiente para suprir a planta de água e nutrientes durante os períodos de estiagem que ocorrem na estação chuvosa (Ritchey et al., 1980).

Dessa forma, o funcionamento dos ecossistemas naturais deste bioma é dependente da matéria orgânica do solo (MOS) bem como de sua ciclagem, através da atividade microbiana (Bustamante et al., 2004; Shaw & DeForest, 2013; Wallenstein & Burns, 2011).

A baixa fertilidade dos solos não foi um empecilho para a ocupação pela agricultura moderna, os aproximadamente 2 milhões de km² de Cerrado originais, mais da metade já foi convertido em áreas agrícolas. Os principais usos agrícolas do Cerrado são para pastagens e culturas anuais, com destaque para as monoculturas de soja, cana-de-açúcar, milho, café e algodão (Machado et al., 2004; Marris, 2005).

Os solos da região apresentam elevado potencial para a agricultura mecanizada intensiva, uma vez corrigidas as deficiências químicas, mostram, sob vegetação natural, propriedades físicas favoráveis (Cerri et al., 1991).

O uso de culturas na cobertura do solo é uma estratégia para que haja melhorias na qualidade ambiental, pois protege o solo dos agentes climáticos, mantém ou até aumenta o teor de matéria orgânica no solo, armazenando e reciclando nutrientes, beneficiando também a atividade biológica do solo (Argenton et al., 2005).

2.3 Qualidade dos solos

A qualidade do solo é uma propriedade determinante para aumento de produtividade e sustentabilidade das culturas, influenciando também na saúde das plantas, animais e conseqüentemente dos seres humanos (Melo et al., 2017). A discussão sobre qualidade do solo intensificou-se no início de 1990, quando a comunidade científica, consciente da importância do solo para a qualidade ambiental, começou a abordar nas publicações a preocupação com a degradação dos recursos naturais, a sustentabilidade agrícola e a função do solo nesse contexto (Vezzani & Mielniczuk, 2009).

Para Doran & Parkin (1994), a qualidade do solo é expressa quanto a sua

capacidade em manter a produtividade biológica, a qualidade ambiental e a vida vegetal e animal saudável na terra. Geralmente é determinada por um conjunto de atributos físicos, químicos e biológicos, que definem as diferentes características do solo e que influenciam suas diversas funções.

O termo saúde do solo, usado normalmente como sinônimo de qualidade do solo, significa assumir o solo como um sistema vivo e dinâmico, cujas funções são mediadas por uma diversidade de organismos que precisam de práticas adequadas de manejo e conservação. De acordo com Dumanski & Pieri (2000), a base científica que respalda a busca por indicadores de qualidade do solo é a compreensão de que esses indicadores estão direcionados para avaliação ou monitoramento das condições do solo, que o tornam um corpo vivo. De outra forma, esses indicadores devem ter a capacidade e a sensibilidade para medir e avaliar atributos e processos do solo que interfiram na promoção da sua vida.

O entendimento do solo como um corpo vivo significa considerar que todos os seus processos e componentes estão funcionalmente bem integrados. Dessa forma, a vida do solo e os seus processos vitais são regulados pela biota do solo. A regulação da biota sobre a decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, degradação de poluentes químicos e a sua forte influência sobre a estrutura do solo, faz com que esses microrganismos e esses processos sejam naturalmente escolhidos como indicadores da saúde ou qualidade do solo (Papendik & Parr, 1992).

Com a necessidade de analisar a qualidade do solo, um conjunto mínimo de indicadores englobando características físicas, químicas e biológicas são utilizados (Cherubin et al., 2015). Esses atributos refletem o status ambiental ou a condição de sustentabilidade do ecossistema (Araújo & Monteiro, 2007) e devem ser avaliados de forma integrada entre eles.

Uma variedade de atributos físicos, químicos e biológicos pode ser usada para caracterizar a qualidade do solo, devendo-se selecionar atributos apropriados para cada forma específica de uso da terra (Carter et al., 1997; Nortcliff, 2002). Pesquisas têm apontado que alguns indicadores relacionados com a comunidade microbiana do solo são bastante sensíveis às alterações provenientes das atividades agrícolas, fornecendo, dessa forma, subsídios importantes para o correto planejamento do uso da terra e manejo do solo (Stöcker et al., 2017).

Bioindicadores são propriedades ou processos biológicos dentro do solo que indicam a situação deste ecossistema (Cherubin et al., 2015), podendo ser utilizados no biomonitoramento da qualidade do solo, que é a medida da resposta de organismos vivos a mudanças no seu ambiente (Heger et al., 2012).

O nível de alteração na qualidade do solo pode ser estimado avaliando o estado atual de determinados atributos comparando com o estado natural do solo, sem interferência antrópica, ou com valores considerados ideais. Para ser considerado um

bom indicador da qualidade do solo o parâmetro ou conjunto de parâmetros avaliados deve ser facilmente mensurado, ser sensível ao estresse no sistema, responder de forma previsível à perturbação, ser capaz de prever o estresse ou mudança na iminência de sua ocorrência, ser integrativo, ter resposta conhecida a distúrbios naturais e ações antropogênicas, ter padrão de variabilidade de resposta conhecido devendo considerar o contexto espacial e temporal da unidade mensurada (Dale et al., 2008).

2.4 Qualidade biológica dos solos

A preocupação com a qualidade do solo tem crescido muito nos últimos anos, já que seu uso e manejo intensivos podem diminuir sua capacidade de manter uma produção biológica sustentável (Carvalho et al., 2004). As mudanças na qualidade do solo têm sido avaliadas utilizando indicadores apropriados que efetuam comparações com valores desejáveis em diferentes intervalos de tempo, para um fim específico em ambientes diversos (Karlen & Stott, 1994; Chaer, 2001; Melo Filho et al., 2007).

Stenberg (1999) destaca que existe uma relação entre todos os atributos do solo e nenhum indicador individualmente conseguirá descrever e quantificar todos os aspectos da qualidade do solo. Diversos parâmetros microbianos podem ser utilizados na determinação do status de qualidade do solo, contudo um conjunto mínimo de indicadores deve ser utilizado para realizar uma avaliação significativa da qualidade do solo (Arshad & Martin, 2002), sendo os mais comumente utilizados a biomassa microbiana e sua atividade (Paz-Ferreiro & Fu, 2016).

Os indicadores biológicos têm importante atuação no solo, podem ser utilizados para monitorar três parâmetros básicos: estrutura ou desenvolvimento do solo, estoque de nutrientes e atividade biológica (Gregorich et al., 1994). Esses indicadores biológicos representam diferentes aspectos da qualidade do solo nos diferentes ecossistemas (Elliott, 1997).

Segundo Doran & Parkin (1994), bioindicadores são propriedades ou processos biológicos que ocorrem no solo que indicam as condições deste ecossistema, podendo ser utilizados no biomonitoramento da qualidade do solo. Witting (1993) define biomonitoramento como a resposta dos organismos vivos a mudanças no seu ambiente.

As atividades dos microrganismos têm sido sugeridas como indicadores potenciais de qualidade do solo, uma vez que elas respondem rapidamente a mudanças nas práticas de manejo (Pandey et al., 2014; Rasool et al., 2014), característica que não é observada nos indicadores químicos ou físicos. Em alguns casos, alterações na população e na atividade microbiana podem preceder mudanças nas propriedades químicas e físicas, refletindo um sinal na melhoria ou na degradação do solo (Araújo & Monteiro, 2007).

Os atributos biológicos e bioquímicos do solo são considerados os mais sensíveis a pequenas variações que ocorrem no ambiente, fornecendo assim, informações imediatas e precisas sobre mudanças na qualidade do solo (Pascual et al., 2000; Bending et al., 2004; Araújo & Monteiro, 2007; Fließbach et al., 2007). Esses atributos podem ser muito dinâmicos e sensíveis a mudanças nas condições do solo, sendo assim, observado muitas vezes, preferência por atributos de natureza biológica e bioquímica nas avaliações de curto prazo (Nortcliff, 2002).

Brookes (1995) descreve cinco critérios para seleção e utilização dos indicadores biológicos para monitoramento da qualidade do solo: os atributos biológicos devem ser exatos e avaliados para se obter respostas em uma ampla escala de tipos e condições de solo; devido ao alto número de amostras analisadas normalmente, os atributos biológicos devem ser fáceis e econômicos de serem avaliados; os atributos biológicos devem ser sensíveis a estresses, mas suficientemente robustos para não fornecer alarmes falsos; devem ter validação científica, com base na realidade e conhecimento atual; dois ou mais atributos, independentes, devem ser utilizados.

O metabolismo microbiano do solo pode sofrer alterações devido ao sistema de manejo adotado (conservacionista ou convencional) e o uso de resíduos na agricultura (agroquímicos, vinhaça, chorume), além de preparo e manejo do solo. Esses procedimentos modificam alguns parâmetros, como disponibilidade e tipo de matéria orgânica, pH e umidade (Gupta & Roget, 2004). A adoção de sistemas conservacionistas de manejo e uso do solo são opções que contribuem com a sustentabilidade econômica e ambiental dos agroecossistemas (Barreto et al., 2006), visto que estes possibilitam a melhoria ou manutenção em relação a qualidade de seus atributos (Carneiro et al., 2009).

Atributos como a biomassa microbiana do solo (BMS), respiração basal (RBS), quociente metabólico (qCO_2) e quociente microbiano ($qMic$) são indicadores biológicos que fornecem informações que servirão de subsídios para avaliação da qualidade do solo (Moreira & Siqueira, 2006).

A BMS é considerada a parte mais viva e mais ativa da matéria orgânica do solo e atua em importantes processos bioquímicos. Estudos mostram que os indicadores biológicos são mais sensíveis que os indicadores químicos e físicos para detectar com mais antecedência alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo (Stöcker et al., 2017).

A BMS funciona como compartimento reserva de carbono, nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S) no solo, elementos essenciais para o desenvolvimento vegetal e como catalisador na decomposição da matéria orgânica (Souza et al., 2010).

A atividade microbiana representa todas as reações bioquímicas catalisadas pela biomassa do solo. As reações catabolizadas pelos microrganismos são de extrema importância para a manutenção da qualidade do solo. Além de atuar nos

ciclos biogeoquímicos, os microrganismos podem degradar substâncias tóxicas, controlar patógenos no solo, contribuir para a estruturação do solo, entre outras funções (Silveira, 2011).

Os atributos biológicos têm apresentado um bom desempenho como indicador de mudanças de qualidade do solo, visto sua alta sensibilidade em detectar mudanças, mesmo que mínimas, no manejo do solo (Mendes et al., 2012). Cunha et al. (2011) mencionam que esses atributos permitem medir condições de desequilíbrio ou equilíbrio de um determinado ambiente. Os microrganismos do solo ainda atuam com importantes reguladores na ciclagem dos nutrientes (Mendes et al. 2012).

Para análise qualitativa dos solos, os indicadores biológicos, como carbono da biomassa microbiana, respiração microbiana e quociente metabólico, têm sido sugeridos como mais sensíveis aos impactos causados pelo manejo, tendo em vista que estes sistemas influenciam constantemente na atividade metabólica dos microrganismos do solo (Alves et al., 2011).

2.5 Matéria orgânica do solo: aspectos biológicos

A matéria orgânica do solo (MOS) pode ser definida como o conjunto dos materiais orgânicos presentes no perfil do solo (Stevenson, 1994; Siqueira & Moreira, 2002). A acumulação de resíduos de plantas e animais, parcialmente decompostos e bioquimicamente transformados, produz a MOS. Esse material, em ativo estado de decomposição, está submetido ao ataque contínuo de microrganismos, de forma que boa parte dele tem caráter transitório, sendo continuamente renovado pela adição de resíduos animais e vegetais (Silva & Resck, 1997).

A matéria orgânica do solo (MOS) é composta pela parte viva e pela parte não vivente. A fração viva corresponde ao material orgânico que se encontra temporariamente imobilizado, mas com potencial de mineralização que está associado às células de organismos vivos como bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários, algas, macrofauna e raízes, raramente superando 4% do C orgânico total do solo (Novais et al., 2007). Já a parte não vivente compõem 98% do C orgânico do solo, podendo ser subdividida em matéria macrórgânica e húmus (substâncias húmicas e não-húmicas).

Para Silva & Mendonça (2007) a matéria orgânica é constituída basicamente de C, H, O, N, S e P. Segundo Guerra et al. (2008) esses elementos compõem as unidades estruturais dos tecidos, como as proteínas, celuloses, hemicelulose, amido, pectina, lignina e lipídeos. O C compreende cerca de 58% da matéria orgânica do solo, H 6%, O 33%, enquanto N, S e P contribuem com cerca de 3%, individualmente (Silva & Mendonça, 2007).

Geralmente, a matéria orgânica do solo está presente em maior quantidade nas camadas superficiais, onde atua no suprimento de nutrientes e proporciona, ao

mesmo tempo, as condições físicas favoráveis ao crescimento dos vegetais. A MOS exerce grande influência sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, apesar de, muitas vezes, apresentar-se em quantidades relativas muito pequenas na maioria dos solos minerais (Brady, 1989).

AMOS contribui com uma parcela significativa da capacidade de troca de cátions do solo, além de ser, provavelmente, o principal fator responsável pela estabilidade dos seus agregados e fornecer os componentes necessários à sobrevivência e crescimento dos microorganismos (Brady, 1989). Por todas estas razões, a quantidade e a qualidade da matéria orgânica são fundamentais na determinação da qualidade do solo (Brady & Weil, 2008).

Dentre os efeitos da MOS sobre o solo pode-se destacar: a liberação de nutrientes para as plantas e microorganismos, resultado dos processos de decomposição e mineralização; formação de complexos solúveis com micronutrientes catiônicos (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+}), aumentando o seu transporte e disponibilidade; combinação com argilas, exercendo importante função cimentante na formação de agregados e melhorando a estruturação do solo; retenção de água; contribuição para coloração mais escura do solo, facilitando seu aquecimento; aumento da capacidade de troca de cátions do solo (Stevenson, 1994; Sparks, 1995; Furtini Neto et al., 2001).

As bactérias do solo constituem o grupo de microrganismos que apresenta a maior abundância e diversidade entre as espécies de microrganismos que compõem a MOS. Esses organismos apresentam uma elevada taxa de crescimento e grande capacidade de decomposição dos diferentes substratos contidos no solo, exercendo um importante papel na decomposição da matéria orgânica e na ciclagem dos elementos (Brandão, 1992).

Os fungos são organismos quimiorganotróficos cuja principal função no solo é a decomposição de resíduos orgânicos (Moreira & Siqueira, 2006). São predominantes em solos ácidos, onde sofrem menor competição, uma vez que bactérias e actinomicetos são favorecidos por ambientes neutros e alcalinos. Por isso, os fungos podem ser encontrados em solos com pH entre 3 e 9, devendo-se observar, porém, que o valor ótimo é variável com a espécie (Brandão, 1992).

Pode-se dizer que a matéria orgânica do solo é a fração mais importante para o suporte das populações microbianas desse ecossistema, especialmente a porção biologicamente disponível da MOS. A biomassa microbiana, que representa parte do componente vivo da matéria orgânica do solo, constitui de 2 a 7% do carbono orgânico no solo e atua como um mecanismo promotor da mineralização da MOS e da liberação de nutrientes (Gupta & Roget, 2004).

2.6 Indicadores biológicos do solo

2.6.1 *Respiração Basal do Solo*

A respiração basal é um parâmetro usado para quantificar a atividade microbiana. Ela representa a oxidação da matéria orgânica do solo por organismos aeróbios. Esse parâmetro mede a atividade biológica do solo onde os microrganismos degradam os compostos orgânicos a CO_2 (Silva et al., 2013). Utilizam O_2 comoceptor final de elétrons e liberam CO_2 (Anderson, 1982). As bactérias e os fungos são os principais responsáveis pela liberação de CO_2 via degradação da matéria orgânica (Silva et al. 2007).

A respiração basal reflete a velocidade de decomposição de um resíduo orgânico adicionado ao solo. Quando essa atividade microbiana é alta ocorre maior decomposição e, conseqüentemente, liberação de nutrientes para as plantas, porém, também pode significar perdas de carbono do solo, a longo prazo (Souza et al., 2010).

A respiração basal do solo é uma atividade metabólica que depende do estado fisiológicos das células microbianas, e sofre influência de fatores, tais como a umidade, a temperatura, a estrutura do solo, a textura, a quantidade de matéria orgânica, dentre outros (Silva et al., 2010). A avaliação da respiração do solo é a técnica mais frequente para quantificar a atividade microbiana, sendo positivamente relacionada com o conteúdo de matéria orgânica e com a biomassa microbiana (Alef & Nannipieri, 1995).

2.6.2 *Carbono e Nitrogênio da Biomassa Microbiana*

Para se avaliar a qualidade do solo são propostos indicadores que sejam sensíveis as mudanças no solo. A Biomassa Microbiana do Solo (BMS) é dita como a fração viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, sendo formada por microrganismos menores que $5.10^{-3} \mu\text{m}^3$ como fungos, bactérias, protozoários e algas, representando em média de 2 % a 5% do C orgânico (Jenkinson & Ladd, 1981) e 1 % a 5% do nitrogênio total do solo (Smith & Paul, 1990).

O carbono é a estrutura de toda atividade biológica, os tecidos vivos que constituem os organismos, corresponde ao componente vivo da matéria orgânica, constituído por bactérias, arqueas e eucariotos, excetuando-se a biomassa de raízes e a macrofauna (Kaschuk et al., 2010). Todas as substâncias orgânicas contêm o elemento carbono em sua composição, sendo que, em média, o C compreende cerca de metade da massa de toda MOS (Brady & Weil, 2008).

O carbono da biomassa microbiana é um importante parâmetro de ciclagem de nutrientes nos ecossistemas, pois representa a fração da matéria orgânica do solo (MOS) mais facilmente decomponível (Rangel-Vasconcelos et al., 2015), permitindo a avaliação mais rápida e precoce de suas alterações (García-Orenes et al., 2013), quando comparada aos atributos químicos e físicos (Kaschuk et al.,

2010). Reflete tendências de mudanças que estão ocorrendo na mesma (Feigl et al. 1998) tornando-se um indicador sensível de qualidade do solo.

O nitrogênio da matéria viva encontra-se principalmente nas plantas, sendo representado por 94% do total, outros 4% estão na microbiota e 2% nos animais. Estima-se que o N da matéria orgânica do solo varia entre 3.10^{17} a $5,5.10^{17}$ g de N; sendo $1,5.10^{15}$ g de N na biomassa microbiana do solo e $1,0.10^{15}$ g de N orgânico no solo (Moreira & Siqueira, 2006). Desta forma, o solo representa o principal reservatório de ligação entre os componentes da biosfera (Rochette & Angers, 1999).

Diversos fatores podem influenciar a biomassa microbiana, refletindo em alterações na densidade e atividade dos microrganismos no solo. Dentre eles são a disponibilidade de carbono e outros nutrientes (N, P e S), umidade, aeração, pH, teor e tipo de argila e textura do solo (Moreira & Siqueira, 2006). E ainda, pode ser influenciada pelas variações sazonais de umidade e temperatura, pelo cultivo e, também, pelos resíduos vegetais (Venzke Filho et al., 2008).

2.6.3 Quociente Metabólico (qCO_2)

A análise individual do carbono da biomassa microbiana (C_{mic}) e da respiração basal do solo (RBS) pode fornecer informações limitadas quanto à atividade microbiana. Dessa forma, o quociente metabólico, junto com essas variáveis é proposto para fornecer informações mais adequadas para melhor entendimento da atividade biológica do solo (Alves et al., 2011).

O quociente metabólico (qCO_2) é a razão entre a respiração basal e a biomassa microbiana do solo, por unidade de tempo (Anderson & Domsch, 1993). Ele expressa quanto de CO_2 é liberado pela biomassa microbiana em função do tempo (Alves et al., 2011). Esse parâmetro pode ser usado como indicador na avaliação de mudanças na qualidade do solo, verificando o nível de estresse da biomassa microbiana.

Biomassa Microbiana mais eficiente é aquela que perde menores quantidades de C na forma de CO_2 (no processo de respiração) e incorpora mais C aos tecidos microbianos, ou seja, sistemas com menores taxas de qCO_2 . Por outro lado, valores maiores de quociente metabólico indicam que os microrganismos do solo estão em condições de estresse e, portanto consomem mais carbono oxidável para sua manutenção (Partelli et al., 2012) ou ainda, significa que as populações microbianas podem estar em estágios iniciais de desenvolvimento (Anderson & Domsch, 1993).

2.6.4 Quociente Microbiano ($qMic$)

Quociente Microbiano ($qMic$) é a relação entre o Carbono da biomassa microbiana e o Carbono orgânico do solo (Anderson & Domsch, 1993). Esse parâmetro

tem sido utilizado como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo, pois indica a quantidade de carbono orgânico que está imobilizado na biomassa e aponta a eficiência dos microrganismos na utilização dos compostos orgânicos (Silva et al., 2010).

O q_{Mic} expressa o percentual de carbono orgânico total no solo, e pode-se observar que áreas com baixa atividade microbiana apresentam baixos valores de quociente microbiano, indicando menor reserva de compostos orgânicos nessas áreas (Carneiro et al., 2009). Índices elevados de q_{Mic} indicam que a matéria orgânica do solo é ativa e está sujeita a ser decomposta pela microbiota.

Em ecossistemas estáveis, com condições favoráveis, há uma tendência de aumento da atividade microbiana e, em consequência, o q_{Mic} tende a crescer até atingir um equilíbrio (Powlson et al., 1987). Desse modo em ambientes preservados, em equilíbrio, o valor desta relação pode ser usado para avaliar qualidade do solo.

Araújo et al. (2007) afirma que em áreas de cultura de cana-de-açúcar a alta atividade microbiana não necessariamente indica melhoria na qualidade do solo, de modo que os processos de decomposição de matéria orgânica são acelerados causando a diminuição do tempo desse componente no solo.

REFERÊNCIAS

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. Londres: Academic Press. 576p, 1995.

ALVES, T. D. S.; CAMPOS, L. L.; ELIAS NETO, N.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M. F. **Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos**. Acta Scientiarum. Agronomy, Maringá, v. 33, n. 2, 2011.

ANDRADE, J. M.; DINIZ, K. M. **Impactos Ambientais da Agroindústria da Cana de-açúcar: Subsídios para a Gestão. Especialização em Gerenciamento Ambiental** (Monografia). Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, 2007.

ANDERSON, J. P. E. Soil respiration. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). *Methodo fanalysis*. 2nd ed. part2. Madison: **American Society of Agronomy: Soil Science Society of America**, p. 831-871, 1982.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (q_{CO_2}) as a specific activity parameter to assess the effect so environmental Conditions, such as pH, onthe microbial biomass of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ARATANI, R. G.; FREDDI, O. S.; CENTURION, J. F.; ANDRIOLI, I. Qualidade física de um Latossolo Vermelho acriférrico sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v. 33, n. 1, p. 677-687, 2009.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, p. 66-75, 2007.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W.J.; LACERDA, M.P.C. Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1099-1108, 2007

ARGENTON, J.; ALBUQUERQUE, J. A.; BAYER, C.; WILDNER, L. P. Comportamento de atributos relacionados com a forma da estrutura de Latossolo vermelho sob sistemas de preparo e plantas de cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa-MG, v. 29, n. 3, p. 425-435, 2005.

ARTIOM, F. **Improve the system of agriculture to provide ecosystem and social services**. 2016. 53f. Tese (Mestrado) - Faculty of sciences, Universidade da Coruña, Coruña, 2016.

ARSHAD, M. A.; MARTIN, S. Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 88, n. 2, p. 153-160, fev. 2002.

BARRETO, A. C. et al. Características químicas e físicas de um solo sob floresta, sistema agroflorestal e pastagem no sul da Bahia. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 4, p. 415-425, 2006.

BENDING, G.D.; TURNER, M.K.; RAYNS, F.; MARX, M.C.; WOOD, M. Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. **Soil Biology & Biochemistry**, Brisbane, v. 36, n. 11, p. 1785-1792, 2004.

BICALHO, I. M. **Conversão de floresta de pinus em sistema plantio direto: indicadores físicos, químicos e microbianos em Latossolo fase cerrado**. 2019. 104f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

BRADY, N.C. **Natureza e propriedade dos solos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos. P. 898 p, 1989.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. **The nature and properties of soils**. 14. ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 975 p, 2008.

BRANDÃO, E.M. **Os componentes da comunidade microbiana do solo**. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Coord.). Microbiologia do solo. Campinas: SBCS. cap. 1, p. 1-16, 1992.

BROOKES, D. C. **The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals**. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v. 19, p. 269-279, 1995.

BÜNEMANN, E. K.; BONGIORNO, G.; BAI, Z.; CREAMER, R. E.; DEYN, G., DE GOEDE, R.; FLESKENS, F.; GEISSEN, V.; KUYPER, T. W.; MÄDER, P.; PULLEMAN, M.; SUKSEL, W.; VAN GROENIGEN, J. W.; BRUSSAARD, L. Soilquality: a critical review. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 120, p. 105-125, 2018.

BUSTAMANTE, M. M. C.; NARDOTO, G. B.; MARTINELLI, L. A. Aspectos de ciclaje de nutrientes entre bosques amazónicos de terra firme y sabanas tropicales (Cerrado brasileiro). In: CABRERA, H. M. *Fisiología ecológica en Plantas: mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*. Valparaíso: (ed.) **Ediciones Universitarias de Valparaíso**, p. 189–206, 2004.

CAMARGO, F. F. Indicadores físicos, químicos e biológicos da qualidade do solo em sistemas agroflorestais agroecológicos na área de preservação ambiental Serra da Mantiqueira, MG. **Tese** (doutorado) – Universidade Federal de Lavras (UFLA), 241 f. 2016.

CARDOSO, E. L. **Qualidade do solo em sistemas de pastagens cultivadas e nativa na sub-região da Nhecolândia, Pantanal Sul Mato-Grossense**. 2008. 154 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

CARNEIRO, M. A. C.; SOUZA, E. D. D.; REIS, E. F. D.; PEREIRA, H. S.; AZEVEDO, W. R. D. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, p. 147-157, 2009.

CARTER, M.R.; GREGORICH, E.G.; ANDERSON, D.W.; DORAN, J.W.; JANZEN, H.H.; PIERCE, F.J. **Concepts of soil quality and their significance**. In: GREGORICH, E.G.; CARTER, M.R. (Ed.). Soil quality for crop production and ecosystem health. Wageningen: Developments in Soil Science, v. 25, n. 1, p. 1-19, 1997

CARVALHO, R.; GOEDERT, W.J.; ARMANDO, M.S. Atributos físicos da qualidade de um solo sob sistema agroflorestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 39, v. 11, p. 1153-1155, 2004.

CERRI, C.C.; FELLER, C. & CHAUVEL, A. **Evolução das principais propriedades de um Latossolo Vermelho-Escuro após desmatamento e cultivo por doze e cinquenta anos com cana-de-açúcar**. Cahier ORSTOM: Série Pédol. v. 50, p. 26:37, 1991.

CHAEER, G.M. **Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, MG. 89f. 2001.

CHERUBIN, M.R.; EITELWEIN, M.T.; FABBRIS, C.; WEIRICH, S.W.; SILVA, R.F.; SILVA, V.R.; BASSO, C.J. Qualidade física, química e biológica de um Latossolo com diferentes manejos e fertilizantes. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, vol. 39, p. 615-625, 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. v. 4. Brasília: Conab, 2019.

CUNHA, E. Q.; STONE, L. F.; FERREIRA, E. P. B.; DIDONET, A. D.; MOREIRA, J. A. A.; LEANDRO, W. M. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho. II – atributos biológicos do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 603-611, 2011.

DALE, V. H.; PEACOCK, A. D.; GARTEN JR, C. T.; SOBEK, E.; WOLFE, A. K. Selecting indicators of soil, microbial, and plant conditions to understand ecological changes in Georgia pine forests. **Ecological Indicators**, v. 8, n. 6, p. 818-827, 2008.

DITTERICH, F. **Microbial community structure and function is shaped by microhabitat characteristics in soil**. 2016, 125 f. Tese (Doutorado) - Institute of Soil Science and Land Evaluation, University of Hohenheim, Würzburg, 2016.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. D.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. Defining soil quality for sustainable environment. Madison: **Soil Science Society of America Proceedings**, P. 3-21, 1994.

DUMANSKI, J., PIERI, C. "Land quality indicators: research plan", **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v 81, n. 2, p. 93-102, 2000.

ELLIOTT, E.T. Rationale for developing bioindicators of soil health. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (eds.). **Biological indicators of soil health**. New York: CAB International. p. 49-78, 1997.

EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 2. ed. 2006. Rio de Janeiro - RJ: EMBRAPA-SPI.

EVANGELISTA, C. R.; PARTELLI, F. L.; FERREIRA, E. P. B.; PIRES, F. R. Atributos microbiológicos do solo na cultura da cana-de-açúcar sob manejo orgânico e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1549-1562, 2013.

FEIGL, B. J.; CERRI, C. C.; BERNOUX, M. **Balço de carbono e biomassa microbiana em solos da Amazônia**. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds). Ecologia microbiana. Jaguariúna: Embrapa-NPA, p.423-441, 1998.

FLIEßBACH, A.; OBERHOLZER, H.R.; GUNST, L.; MÄDER, P. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Zürich, v. 118, n. 1-4, p. 273-284, 2007.

FURTINI NETO, A.E.; VALE, F.R.; RESENDE, A.V.; GUILHERME, L.R.G.; GUEDES, G.A.A. **Fertilidade do solo**. Lavras: UFLA/FAEPE. p. 252, 2001.

GARCÍA-ORENES, F.; MORUGÁN-CORONADO, A.; ZORNOZA, R.; CERDÀ A & SCOW, K. Changes in soil microbial community structure influenced by agricultural management practices in a Mediterranean agro-ecosystem. **Plos One**, vol. 11, n. 3, 2013.

GAUDER, M., GRAEFF-HONNINGER, S., CLAUPEIN, M., **The impact of a growing bioethanol industry on food production in Brazil**. Applied Energy , v. 88, p. 672-679, 2011.

GREGORICH, E.G.; CARTER, M.R.; ANGERS, D.A.; MONREAL, C. M. & ELLERT, B.H. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. **Canadian Journal Soil Science**. p. 367-385, 1994.

GUERRA, J. G. M.; SANTOS, G. A., SILVA, L. S.; CAMARGO, F. A. O. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S. da; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. de O (Ed.). Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistema tropicais e subtropicais. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole. p. 19-25, 2008.

GUIMARÃES, T. M.. Preparo profundo e calagem em solos arenoso e argiloso na física e carbono do solo e na produtividade de cana-de-açúcar. 2019. 107f. **Tese (Doutorado)** - Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2019.

GUPTA, V.V.S.R.; RAGHUVANSHI, S.; GUPTA, A.; SAINI, N.; GAUR, A.; KHAN, M.N.; GUPTA, R. S.; SINGH, J.; DUTTAMAJUMDER, S.K.; SUMAN, A.; KHURANA, J. P.; KAPUR, R.; TYAGI, A. K. The water-deficit stress- and red-rot-related genes in sugarcane. **Functional Integrative Genomics**, Berlim, v. 10, n. 2, p. 207-214, 2010.

GUPTA, V.V.S.R.; ROGET, D.K. Understanding soil biota and biological functions: management of soil biota for improved benefit stocrop productionand environmental health. In: LINES-KELLY, R. (Ed.). **Soil biology in agriculture**. Orange: NSW Department of Primary Industries, p. 1-7, 2004.

HEGER, T.J.; IMFELD, G.; MITCHELL, E.A.D. Special issue on “Bioindication in soil ecosystems”: Editorial note. **European Journal of Soil Biology**, vol. 49, p. 1-4, 2012.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E. A.; Ladd J. N (eds). Soil biochemistry. Marcel Deker, 1981.

JENNY, H. Factors of soil formation: a system of quantitative pedology. Courier Corporation, 1992.

KARLEN, D.L. & STOTT, D.E. A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BZEDICEK, D.F. & STEWART, B.A., eds. Defining soil quality for a sustainable environment. Madison, **Soil Science Society of America**, p.53-72, 1994.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O. & HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, vol. 42, n. 1, p. 1-13, 2010.

KER, J. C. Latossolos do Brasil: uma revisão. Departamento de Solos: Universidade Federal de Viçosa, 1997.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro Departamento de Ecologia. Instituto de Biologia. Universidade de Brasília (UnB). Mega diversidade, Brasília, v.1, n. 1, 2005.

LEAL, M.R.L.V.; GALDOS, M.V.; SCARPARE, F.V.;SEABRA, J.E.A.; WALTER, A.; OLIVEIRA, C.O.F. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: a literature review. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, p.11–19, 2013.

MACHADO, R.B.; RAMOS NETO,M.B.; PEREIRA, P.; CALDAS, E.; GONÇALVES, D.; SANTOS, N.; TABOR, K.;STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Conservation International do Brasil, Brasília, 2004.

MANZATTO, C. V.; DE FREITAS JUNIOR, E.; PERES, J. R. R. Uso agrícola dos solos brasileiros. Embrapa, 2002.

MARRIS, E. Conservation in Brazil: The forgotten ecosystem. *Nature*, v. 437, n. 7061, 128 p. 944 – 945, 2005.

MELO FILHO, J. F; SOUZA, A.L.V; SOUZA, L.S. Determinação do índice de qualidade subsuperficial em um Latossolo Amarelo Coeso dos Tabuleiros Costeiros, sob floresta natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.6, p.1599-1608, 2007.

MELO, V.F.; SILVA, D.T.; EVALD, A.; ROCHA, P.R.R. Chemical and biological quality of the soil in different systems of use in the savanna environment. **Revista Agro@mbiente on-line**, vol. 11, n.2 p. 101-110, 2017.

- MENDES, I. C.; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; REIS JUNIOR, F.B. dos. Biological functioning of Brazilian Cerrado soils under different vegetation types. **Plant and Soil**, v. 359, p. 183–195, 2012.
- MERCANTE, F.M.; SILVA, R.F.; FRANCELINO, C.S.F.; CAVALHEIRO, J.C.T. e OTSUBO, A.A. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, p. 479-485, 2008.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras: Ed. da UFLA, 729p, 2006.
- NEVES, M. F., TROMBIN, V. G., & CONSOLI, M.. O mapa sucroenergético do Brasil. In U. –U. **Cana-de-açúcar, Etanol e bioeletricidade: a cana-de-açúcar no futuro da matriz energética**). São Paulo: Luc Projetos de Comunicação, p. 14-43, 2010.
- NORTCLIFF, S. Standardisation of soil quality attributes. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 88, n.2, p. 161–168, 2002.
- NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. Fertilidade do solo. **Sociedade Brasileira de Ciência do solo**. p. 1017, 2007.
- OLIVEIRA, J. R. S. **Qualidade de solo cultivado com cana-de-açúcar sob diferentes manejos**. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade Rural de Pernambuco. Recife. 82f. 2016
- OLIVEIRA, M. W. de; FREIRE, F. M.; MACÊDO, G. A. R.; FERREIRA, J. J. Nutrição mineral e adubação da cana-de-açúcar. **Informe Agropecuário**, v. 28, n. 239, p. 30-43, 2007.
- PANDEY, D.; AGRAWAL, M.; BOHRA, J.S. Effects of conventional tillage and no tillage permutations on extracellular soil enzyme activities and microbial biomass under rice cultivation. **Soil and Tillage Research**, v. 136, p. 51-60 2014.
- PARTELLI, F. L.; VIEIRA, H. D.; FERREIRA, E. P. B.; VIANA, A. P.; MARTINS, M. A.; URQUIAGA, S. Chemical and microbiological soil characteristics under conventional and organic coffee production systems. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 43, n. 2, p. 847-864, 2012.
- PAPENDIK, R ; PARR, J.F., Soil quality, The key to sustainable agriculture. **American Journal of Alternative Agriculture**. V. 7, p. 2-3, 1992.
- PASCUAL, J.A.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; MORENO, J.L.; ROS, M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. **Soil Biology & Biochemistry**, Brisbane, v.32, n.13, p. 1877-1883, 2000.
- POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.K.; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, n.2, p.159-164, 1987.
- RANGEL-VASCONCELOS, L.G.T.; ZARIN, D.J.; OLIVEIRA, F.A.; VASCONCELOS, S.S.; CARVALHO, C.J.R. & SANTOS, M.M.L.S. Effect of water availability on soil microbial biomass in secondary forest in eastern Amazonia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, vol. 39, n. 2, p. 377-384, 2015.

RASOOL, N.; RESHI, Z.A.; SHAH, M.A. Effect of butachlor (G) on soil enzyme activity. **Eurasian Journal of Soil Biology**, v. 61, p. 94-100, 2014.

RITCHEY, K.D.; SOUSA, D.M.G.de; LOBATO, E. & SOUSA, O.C. Calcium leaching to increase rooting depth in Brazilian savanna Oxisol. **Agronomy Journal**, Madison, v. 34, n. 40-4, 1980.

ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A. Soil surface carbon dioxide fluxes induced by spring, summer, and fall moldboard plowing in a sandy loam. **Soil Science Society of American Journal**, v.63, p.621- 628, 1999.

SALLES-FILHO S. L. M.; CASTRO, P. F. D.; BIN, A.; EDQUIST, C.; FERRO, A. F. P.; CORDER, S. Perspectives for the Brazilian bioethanol sector: the innovation driver. **Energy Policy**, v.108, p.70-77, 2017.

SCHULTZ, N.; LIMA, E.; PEREIRA, M. G.; ZONTA, E. Efeito residual da adubação de cana planta e da adubação nitrogenada e potássica na cana-soca colhidas com e sem a queima de palhada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 811-820, 2010

SHAW, A. N.; DeFOREST, J. L. The cycling of readily available phosphorus in response to elevated phosphate in acidic temperate deciduous forests. **Applied Soil Ecology**, Oxford, v. 63, p. 88-93, 2013.

SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO_2). Seropédica: **Embrapa Agrobiologia**, 4 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 99). 2007.

SILVA, J. M.; ALBURQUERQUE, L. S. D.; SANTOS, T. M. C. D.; OLIVEIRA, J. U. L. D.; GUEDES, E. L. F. Mineralização de vermicompostos estimada pela respiração microbiana. **Revista Verde**, Pombal, PB, v. 8, n. 4, p. 132-135, 2013.

SILVA, I. R. da ; MENDONÇA, E. de Sá. Matéria orgânica In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V, V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). Fertilidade do solo. Viçosa, MG: **Sociedade Brasileira de Ciências do Solo**. p. 275-357, 2007.

SILVA, R. P. da; FERNANDES, C. Soil uses during the sugarcane fallow period: influence on soil chemical and physical properties and on sugarcane productivity. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, n. 2, p. 575-584, 2014.

SILVA, R.R.; SILVA, M.L.N.; CARDOSO, E.L.; MOREIRA, F.M.S.; CURI, N. e ALOVISI, A.M.T. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes – MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, vol. 34, p. 1585-1592, 2010.

SILVEIRA, A. O. **Avaliação de metodologias para o monitoramento da qualidade do solo**. 2011. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2011.

SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.; STOTZKY, D. G. (Ed.). **Soil Biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1990.

SOUZA, E.D.; COSTA, S.E.V.G.A.; ANGHINONI, I.; LIMA, C.V.S.; CARVALHO, P.C.F. & MARTINS, A.P. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 79-88, 2010.

SPARKS, D.L. **Environmental soil chemistry**. San Diego: Academic Press, Inc. p.267, 1995.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arableland: microbiological indicators. **Acta Agricultura e Scandinavia**, Estocolmo, v. 49, p. 1-24, 1999.

STEVENSON, F.J. **Humus chemistry**: genesis, composition, reactions. 2. ed. New York: John Wiley & Sons. p. 496, 1994.

STÖCKER, C.M., MONTEIRO, A.B., BAMBERG, A.L., CARDOSO, J.H., MORSELLI, T.B.G.A.; LIMA, A.C. R.. Bioindicadores da qualidade do solo em sistemas agroflorestais. 14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa, 2017.

VENZKE FILHO, S.P.; FEIGL, B.J.; PICCOLO, M.C.; SIQUEIRA NETO, M. & CERRI, C.C. Biomassa microbiana do solo em sistema de plantio direto na região de Campos Gerais – Tibagi, PR. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, vol.32 p. 599-610, 2008.

VEZZANI, M. L.; MIELNICZUK, J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 743-755, 2009.

WALLENSTEIN, M. D.; BURNS, R. G. Ecology of extracellular enzyme activities and organic matter degradation in soil: a complex community-driven process. In:Methods of Soil Enzymology. DICK, R. P. Wisconsin: (ed.) **Soil Science Society of America**, 2011

WORDATLAS. Top Sugarcane Producing Countries. Disponível em: <https://www.worldatlas.com/articles/top-sugarcane-producing-countries.html> . Acesso em: 06 Fev 2020.

CAPÍTULO 20

ELABORAÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO PARA AÇÕES DE EDUCAÇÃO E SAÚDE SOBRE CÂNCER DE PELE NA EJA NA COMUNIDADE PESQUEIRA DE PIAÇABUÇU/AL

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 30/07/2020

Fabiano Silva Pinheiro

Universidade Federal de Alagoas
Penedo, Alagoas, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1935964327105319>

Ana Paula de Almeida Portela da Silva

Universidade Federal de Alagoas
Penedo, Alagoas, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2419248387915311>

RESUMO: O câncer de pele é o tipo de câncer mais comum no mundo. Acomete em grande parte as populações de pele clara, sendo o câncer de pele não melanoma (CPNM) o mais frequentemente encontrado. Os pescadores são profissionais que estão incluídos dentro do grupo de risco devido à sua frequente exposição aos raios solares. Diante dessa problemática, vivenciada por essa comunidade vulnerável, e por ser esta profissão a de maior fonte de renda dos moradores do município de Piaçabuçu/AL, faz-se necessário trabalhar esta temática nas escolas da região. Este tema está vinculado ao conteúdo de histologia contido no Livro Didático utilizado pela escola nas turmas da EJA. Este trabalho teve como objetivo a construção de um material didático para auxiliar na execução de ações de educação e saúde a respeito do câncer de pele. As atividades foram executadas na Escola Estadual Correia Titara, nas turmas da 1ª e 3ª séries do Ensino Médio da modalidade EJA,

inserida na comunidade que abriga a colônia de Pescadores Américo Pereira de Brito - Z19, no município de Piaçabuçu/AL. O material produzido trata-se de um folder informativo com as principais abordagens a respeito da prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer de pele. O material foi avaliado segundo critérios referentes ao conteúdo, linguagem, estrutura e atividades, contribuindo com o processo de aprendizagem dos envolvidos. Ao final das ações, foi distribuído o folder informativo aos estudantes envolvidos que serviu como orientação acerca de novas concepções a respeito da doença e suas formas de prevenção, possibilitando maiores cuidados com a saúde. O material produzido atendeu aos critérios pré-estabelecidos e ainda poderá contribuir como ferramenta de multiplicação de conhecimento na comunidade.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer de pele; Comunidades vulneráveis; Educação e Saúde; EJA.

ELABORATION OF TEACHING MATERIAL FOR EDUCATION AND HEALTH ACTIONS ON SKIN CANCER IN EJA IN FISHING COMMUNITY OF PIAÇABUÇU/AL

ABSTRACT: Skin cancer is the most common type of cancer in the world. It affects mostly light-skinned populations, with non-melanoma skin cancer (NMSC) being the most often found. Fishermen are professionals who are included in at risk because of their frequent exposure to sunlight. Given this experienced by this vulnerable community, and because this profession is one of Larger source of income of the residents of Piaçabuçu / AL, it is necessary to work on this

theme in the schools of the region. This theme is linked to the histology content contained in the Textbook used by the school in EJA classes. This work aimed to build a didactic material to assist in the execution of education and health actions regarding skin cancer. The activities were carried out at the Correia Titara State School, in the 1st and 3rd grades of the EJA High School, inserted in the community that houses the Américo Pereira de Brito Fishermen's Colony - Z19, in the municipality of Piaçabuçu / AL. The material produced is an informative folder with the main approaches regarding the prevention, diagnosis and treatment of skin cancer. The material was evaluated according to criteria related to content, language, structure and activities, contributing to the learning process of those involved. At the end of the actions, the informative folder was distributed to the students involved, which served as guidance on new conceptions about the disease and its prevention, allowing greater health care. The material produced met the pre-established criteria and may still contribute as a tool for knowledge multiplication in the community.

KEYWORDS: Skin Cancer; Vulnerable Communities; Education and health; EJA.

INTRODUÇÃO

Os materiais didáticos são bastante utilizados por profissionais da educação por serem considerados como recursos pedagógicos de capacidade instrucional que se elabora para fins didáticos (BANDEIRA, 2009). Desta forma, eles podem ser utilizados para abordagem de temáticas diversas em ações que envolvam educação e saúde.

O câncer de pele é atualmente considerado como o câncer mais comum no mundo, sendo o câncer de pele não melanoma (CPNM) o mais frequentemente encontrado (90% dos casos). Acomete mais as populações de pele clara, do fototipo que queima e não bronzeia e, por isso, hispânicos, asiáticos e negros desenvolvem em menor número esse tipo de câncer (INCA, 2015).

Dados publicados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) estimam uma incidência mundial de 2 a 3 milhões de casos de CPNM ao ano, e ainda, mostram que em cada três cânceres diagnosticados no mundo, um é de pele; e, entre os americanos, um em cada cinco indivíduos o desenvolverá ao longo da sua vida. No Brasil, a estimativa para o ano de 2018 foi de 165.580 novos casos de CPNM, destes, 85.170 ocasionados em homens e 80.140 entre as mulheres (OMS, 2018).

Tendo em vista a frequência cada vez maior de câncer de pele na população brasileira, inclusive na população pesqueira, e a carência de informações de prevenção, faz-se necessário um melhor esclarecimento à população quanto à importância da prevenção à exposição de agentes mutágenos, como a radiação ultravioleta do sol (CASTILHO et al., 2010). Os profissionais da pesca estão enquadrados dentro dos grupos vulneráveis em relação ao câncer de pele, merecendo especial atenção no tocante ao planejamento e execução de ações com essa temática, em virtude do

tempo de exposição à radiação solar, principalmente em horários inapropriados, sem proteção.

Em trabalhos realizados com descrição de aspectos de segurança de pesca, no Pontal do Peba (Piaçabuçu/Alagoas), foi relatado que 97,3% dos pescadores afirmaram nunca ter tido problema algum causado pela radiação solar, porém, 13,51% conhecem pescadores com problemas causados pela radiação (câncer de pele). Além disso, apenas 18,92% dos pescadores fazem uso de medidas preventivas como usar protetor solar regularmente; 40,54% dos pescadores nunca usaram, ou usam às vezes (SILVA, 2014).

Os principais fatores responsáveis pelo aumento da ocorrência do CPNM são o crescimento do buraco na camada de ozônio, o aumento do tempo de exposição aos raios UV pelo crescimento das práticas de atividades ao ar livre e mais indivíduos com episódios de queimaduras solares intermitentes na pele. Sua incidência tem aumentado principalmente numa faixa etária cada vez mais jovem. Por isso, a prevenção, o diagnóstico inicial e o tratamento têm um substancial significado na saúde pública e grande impacto nas políticas governamentais (JUNBERG et al., 2012).

Diante desta problemática, é de suma importância que ações com a finalidade de educação e saúde sejam planejadas e trabalhadas, a fim de que as populações vulneráveis recebam orientação e informação acerca da prevenção e tratamento do Câncer de pele. Assim, este trabalho teve como objetivo produzir um material didático como ferramenta de auxílio às ações educativas de promoção da saúde e prevenção ao Câncer de pele para os Estudantes do Ensino Médio da EJA, Educação de Jovens e Adultos, de uma escola do município de Piaçabuçu/AL. Essa modalidade é caracterizada por a maioria dos estudantes terem abandonado os estudos para se dedicarem às atividades laborais (SILVA, 2015), principalmente à atividade pesqueira, na região, e ajudar a compor a renda da família.

METODOLOGIA

O município de Piaçabuçu é caracterizado por suas águas calmas e areia fina e escura, destacando-se as extensas formações de dunas encontradas por toda a praia, especialmente na Foz do rio São Francisco. É conhecida por ser um dos lugares mais importantes de desova das tartarugas marinhas que habitam nas costas brasileiras e que estão protegidas pelas leis do país (IBGE, 2017). Localizado na parte sul da faixa litorânea do estado de Alagoas, inserido na mesorregião do Leste Alagoano e microrregião de Penedo, o município de Piaçabuçu ocupa uma área de aproximadamente 293 km² e fica a 140 km de distância da capital. É vizinho dos municípios de Feliz Deserto e Brejo Grande, e fica situado a 20 km a Sul-Leste de Penedo, a maior cidade nos arredores.

Segundo Rezende e Oliveira (2015), a colônia de pescadores Z-19, em Piaçabuçu, é a que apresenta maior número de associados (3.980 pescadores) na região do Baixo São Francisco, porque concentra, além dos pescadores do Baixo São Francisco (BSF), pescadores marinhos do Pontal do Peba e de povoados circunvizinhos. Os pescadores do BSF trabalham, em média, 04 dias por semana, 8 horas por dia, apresentando jornada de trabalho similar aos trabalhadores formais (8 horas/dia). A principal fonte de renda provém da atividade primária, como a plantação do coco, do arroz, da cana-de-açúcar e principalmente, da pesca. Piaçabuçu também tem o maior banco de camarão da Região Nordeste do Brasil e é um importante pólo pesqueiro. Os pescadores do baixo São Francisco, em sua maioria (83%), têm a pesca como principal fonte de renda, ressaltando a importância socioeconômica da atividade pesqueira para a maioria das regiões ribeirinhas (IBGE, 2017).

O projeto foi desenvolvido na Escola Estadual Correia Titara, no município de Piaçabuçu- Alagoas, que fica localizada na Rua Tamandaré, Centro, nas turmas da 1ª e 3ª séries do Ensino Médio da Educação de Jovens e Adultos. A Escola é a única no município, mantida pela Secretaria Estadual de Educação de Alagoas, contemplando 24 turmas distribuídas nas modalidades do Ensino Fundamental (8º e 9º anos), Ensino Médio regular e a Educação de Jovens e Adultos, nos turnos matutino, vespertino e noturno, respectivamente, de segunda a sábado. O calendário escolar é dividido em dois semestres. A forma de organização do Ensino Fundamental é bimestral e na EJA, os três anos letivos do ensino médio são cursados em dois anos com divisão de quatro períodos escalonados em 6 meses cada.

Foi realizado um levantamento bibliográfico sobre a frequência do câncer de pele no mundo, no Brasil, no Estado de Alagoas e no município de Piaçabuçu/AL e sua incidência nas diferentes profissões para servir de base para a elaboração do material didático e das palestras educativas na escola.

Com base nas informações extraídas do levantamento bibliográfico sobre o câncer de pele, foram preparadas palestras educativas sobre educação e saúde, para os estudantes do 1º e 3º anos da EJA, com foco nas orientações de causa (exposição excessiva aos raios solares em horários inadequados), prevenção (uso regular de recursos como protetor e vestimenta apropriada) e tratamento do câncer de pele por meio de um médico especialista, uma vez que grande parte dos estudantes exerce a atividade pesqueira.

As ações educativas tiveram como finalidade responder questões à cerca da orientação, prevenção e tratamento do câncer de pele, visto que uma grande parte destes estudantes exerce a atividade pesqueira corriqueiramente, sem os devidos cuidados; foi respeitado o calendário escolar, para que estes estudantes pudessem atuar como facilitadores e multiplicadores do conhecimento junto à comunidade onde vivem, promovendo a incorporação de hábitos saudáveis de prevenção de câncer de

pele, no seu dia a dia.

Pensando em melhor atender aos estudantes da EJA, diante das particularidades apresentadas por este público, foi proposto um material didático informativo que os auxiliassem no processo de aprendizagem acerca da temática abordada nas palestras. Foi produzido um material didático auxiliar (folder) com informações diretas e objetivas, utilizando uma linguagem clara, de fácil entendimento e compatível com o grau de escolaridade dos envolvidos, visando ao planejamento didático-pedagógico para a melhor assimilação dentro da sala de aula. Assim, é possível mediar à construção do conhecimento com recursos que podem estimular o estudante por meio da percepção visual, auditiva ou ambas, simultaneamente (FREITAS, 2007). Ao final das palestras, os folders foram distribuídos aos estudantes, muitos deles pescadores da Colônia Z – 19.

O material didático foi analisado no pré-uso e no uso segundo Cunningsworth (1995), que visa à compreensão do material, suas características, seus objetivos, dentre outros aspectos, para atender aos critérios de conteúdo, linguagem, atividades e estrutura, dentre outros, adequados aos educandos da EJA. Os quadros comparativos foram adaptados de Silva et al., (2015).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ações educativas na Escola – Palestras

Nas palestras de educação e saúde foram abordados conceitos sobre o câncer de pele, causas e os principais meios de prevenção: uso do protetor solar e vestimentas adequadas e a não exposição aos raios solares em horários inadequados, além de ilustrações de imagens para reconhecimento da lesão e a importância da realização do autoexame da pele (Figura 3).

Durante as palestras, foi possível observar o interesse dos estudantes sobre o assunto. Os mesmos participaram fazendo questionamentos, à medida que surgia alguma dúvida, tais como: se a cor dos olhos era um fator de risco; se o câncer era transmissível; se pessoas de pele escura poderiam desenvolver câncer de pele, dentre outras.

Após as ações, foram distribuídos os folders em forma de material didático complementar que continham informações sobre o câncer de pele, as principais formas de prevenção, sintomas e tratamento. O ensinar e aprender na EJA são um desafio. É necessário chamar a atenção dos estudantes e adequar os conteúdos a práticas palpáveis para explicar de maneira mais próxima da realidade, deixando a aprendizagem mais significativa e mais próxima de seu mundo (SILVA et al., 2014).

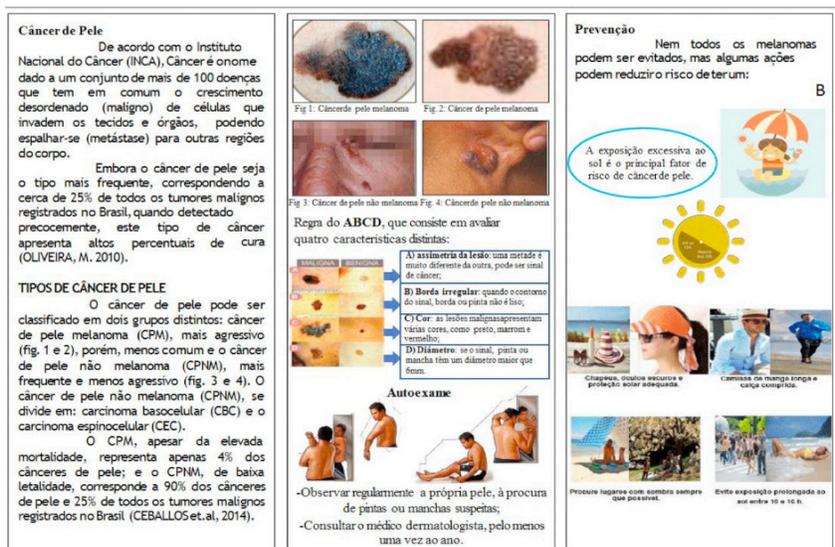


Figura 4. Material didático - folder informativo (frente (A); verso (B)).

Avaliação do material didático

Os materiais foram avaliados no pré-uso: avaliação da possibilidade de emprego do material com base na análise de necessidade e no uso: compreensão e avaliação do material na prática com a aplicação pelo professor e a recepção pelo aluno. A finalidade de compreensão e avaliação da eficácia, da adequação ao contexto e as opiniões e constatações do professor e alunos, buscam sempre envolver todos os participantes no processo (educadores e educandos) possibilitando assim, sugerir alterações na concepção do material, tanto na estrutura quanto na linguagem. A avaliação do material didático foi realizada através de critérios estabelecidos por Silva et al, (2015), conforme quadros abaixo:

Observações	Sim	Não	Em parte
As informações são adequadas	X		
As informações essenciais estão destacadas no texto	X		
Há informações sem relevância		X	
O material propicia novas informações	X		
O conteúdo atende ao propósito do curso	X		
Os objetivos estão claros	X		
Há sequência gradual do conteúdo	X		
Fomentam-se atitudes de cooperação e participação.	X		

Quadro 1 - Avaliação do folder “Combate ao câncer de pele” quanto ao conteúdo.

Fonte: adaptado de Silva et. al, (2015)

Foram observadas as informações essenciais e conceitos de simples compreensão e aplicação para que o princípio mínimo de qualidade e clareza fosse atendido, e garantindo que estivessem de acordo com o plano de ensino do professor, visto que o conteúdo faz parte do ementário utilizado na EJA, e possibilitando-lhes uma melhoria no processo de ensino e aprendizagem, estimulando a participação e a cooperação (Figura 8). Tais dados coadunam com a pesquisa de Mercado e Freitas (2013) ao afirmar que a análise do conteúdo é feita por meio do perfil dos alunos, dos objetivos da unidade de ensino, da atualidade, da profundidade e do nível de linguagem apresentado.

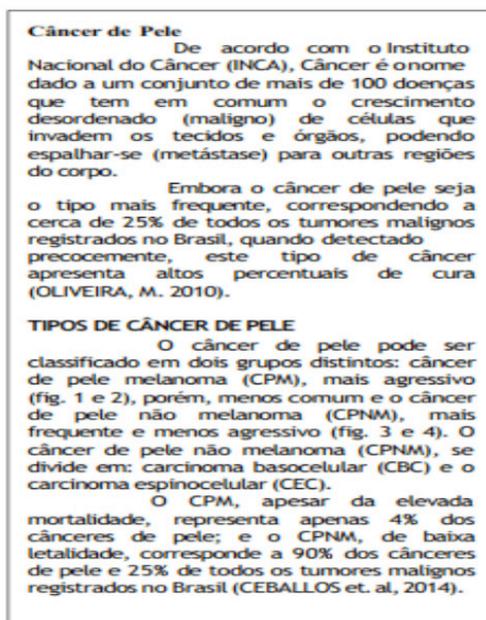


Figura 5. Recorte do folder “Combate ao câncer de pele” destacando o conteúdo.

Observações	Sim	Não	Em parte
As orientações são claras e objetivas sobre o que fazer	X		
Propiciam oportunidade para compreensão do assunto estudado	X		
Permitem autoavaliação	X		
Atendem ao conteúdo exposto	X		
Estão bem distribuídos no texto	X		

Quadro 2 - Avaliação do folder “Combate ao câncer de pele” quanto às atividades.

Fonte: adaptado de Silva et. al, (2015)

A linguagem utilizada no folder está adequada às séries em questão, com algumas adaptações de termos específicos do tema para deixá-la clara e direta, afim de que permita uma maior interação entre o aluno e o professor (Figura 10). Neste item, a análise converge com a proposta de Mercado e Freitas (2013) ao destacarem uma Linguagem dialógica proposta nos materiais didáticos na qual se propõe uma participação ativa do aluno, estimulando-o a participar de um diálogo: interrogar, escutar, responder, concordar, questionar, divergir e propor pausas reflexivas.



Figura 7. Recorte do folder “Combate ao câncer de pele” destacando aspectos da linguagem aplicada ao público-alvo

Observações	Sim	Não	Em parte
O número de partes é adequado, em função do tempo previsto.	X		
Os parágrafos não são extensos	X		
Os destaques (frases, quadros, resumos, notícias) ajudam na leitura.	X		
A organização em partes, unidades, tópicos é clara e coerente.	X		

Quadro 4 - Avaliação do folder “Combate ao câncer de pele” quanto à estrutura.

Fonte: adaptado de Silva et. al, (2015)

Houve a preocupação com a estrutura do material produzido para deixá-lo esteticamente agradável e organizado, promovendo uma leitura coerente dos textos e a compreensão das imagens ilustrativas. Foram abordadas as questões pertinentes aos tipos de câncer de pele, desde o título proposto ao folder, que vem com um questionamento, visando à reflexão do leitor, até as temáticas abordadas dentro do material produzido. Foram apresentadas as formas de diagnóstico, tipos de tratamento e prevenção, autoexame da pele e algumas atividades lúdicas. A finalidade desse tipo de avaliação está de acordo com a avaliação técnico-pedagógica preconizada por pesquisadores que discutem o processo de desenvolvimento de material didático, enfatizando a necessidade de se fazer revisões e mudanças consideradas necessárias do ponto de vista didático-pedagógico com fins de um aprendizado significativo (CORREA; BOTELHO; NUNES, 2008).

O material proposto é um tipo de ferramenta escrita que serve para aprimorar o processo educativo, permitindo aos estudantes, uma leitura posterior do conteúdo, cuja finalidade é contribuir para a superação de eventuais dificuldades conforme recomenda Freitas e Cabral (2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho foi, deste modo, eficaz na promoção de conhecimento acerca dos impactos causados à saúde devido à exposição demasiada ao sol, pois, o conteúdo apresentado no material serviu como apoio para a avaliação pontuada aplicada posteriormente pela professora da disciplina. A docente considerou o resultado obtido pela maioria dos estudantes como satisfatório, garantindo que o conteúdo foi assimilado. Assim sendo, percebe-se cada vez mais a necessidade de desenvolvimento de ações educativas de prevenção e orientação para a promoção da saúde das pessoas, principalmente daquelas que pertencem a grupos vulneráveis.

A relevância das ações educativas, visando à adoção de práticas preventivas e de suporte para a detecção precoce de lesões malignas se justifica, pois, de acordo com a literatura, o público-alvo citado detém pouco conhecimento sobre o câncer de pele. Assim, o presente estudo promoveu o conhecimento acerca dos impactos causados à saúde devido à exposição demasiada ao sol por meio das ações educativas de prevenção e orientação para a promoção da saúde dos educandos da EJA, já que muitos são trabalhadores da pesca e podem agir como multiplicadores do conhecimento junto à sua comunidade.

Salienta-se também, a importância de auxiliar as atividades docentes por meio de materiais didáticos que promovam a interação e a mediação da aprendizagem, promovendo assim uma significativa mudança na construção do saber; principalmente, porque o material produzido fez referência a algo vivenciado pelos educandos em

seu cotidiano, possibilitando o uso de estratégias de aprendizagem inovadoras e diferentes das aulas mais tradicionais.

É necessário que os governantes locais tenham um olhar diferenciado para com estes profissionais, que realizam atividade de grande potencial em relação ao setor pesqueiro na região, sendo esta atividade, na maioria das vezes, a única fonte de renda.

Diante disto, infere-se que o trabalho desenvolvido foi de grande relevância social, uma vez que é escassa a realização desses projetos que promovam a mudança de atitude no dia-a-dia e que fazem toda a diferença na vida da comunidade.

REFERÊNCIAS

CASTILHO, I.G.; LEITE, R. M. S; SOUSA, M. A. A. **Fotoexposição e fatores de risco para câncer de pele: uma avaliação de hábitos e conhecimentos entre estudantes universitários.** Anais Brasileiros de Dermatologia. v. 85, n.2, p.173-8; 2010.

CORREA, Maria N.; BOTELHO, Carolline S.; NUNES, Beatriz. **A avaliação de material didático impresso para uma aprendizagem independente e individualizada do NEAD da UEMA e o seu significado instrucional.** Santos, 14º Congresso Internacional de ABED de Educação a Distância. Santos: ABED, 2008. Disponível em: www.abed.org.br/congresso2008/tc/5112008110237PM.pdf. Acesso em 25 out. 2019.

CUNNINGSWORTH, A. **Choosing your coursebook.** Oxford: Heineman, 1995.

INCA - Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2014: **Incidência de Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2015. Disponível em: www.inca.gov.br. Acesso em: 05.07.2019.

FREITAS, O. **Equipamentos e materiais didáticos.** / Olga Freitas. - Brasília: Universidade de Brasília, p.132, 2007.

FREITAS, A.A.S., CABRAL, I.E. **O cuidado à pessoa traqueostomizada: análise de um folheto educativo.** Esc Anna Nery Rev Enferm, v.12, p.1, p. 84 – 9, mar. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ean/v12n1/v12n1a13.pdf>> Acesso em: 02 fev.2020.

JUBERG, C.; VERJOVSKY, M.; PEREIRA, G.; TEIXEIRA, L. A. **Perfis das Notícias sobre o Câncer no Correio da Manhã e no The New York Times nos Anos 1931-1932 e 1948-1949.** Revista Brasileira de Cancerologia, v.58, n.2, p.143-152, 2012.

MERCADO, L. P. L; FREITAS, M. A. S. **Avaliação de materiais didáticos para educação online dos cursos da UAB: perspectiva analítica e reconstrutiva.** Revista e-Curriculum, São Paulo, ISSN: 1809-3876. Programa de Pós-graduação Educação: Currículo – PUC/SP <http://revistas.pucsp.br/index.php/curriculum>. V.02, n.11, ago, 2013.

OMS - Organização Pan-Americana de Saúde, Organização Mundial de Saúde (OMS). **Temas de saúde.** Disponível em: www.paho.org.br. Acesso em: 05.06.2019.

SILVA, V. I. F. **Descrição e Aspectos de Segurança da Pesca de Arrasto do Camarão no Povoado de Pontal do Peba, Piaçabuçu, Alagoas – Brasil.** Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado em 02 de dezembro de 2014 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Pesca. Orientador: Prof. Dr. Igor da Mata Oliveira.

SILVA, Milena Dutra da; MELO, Évio Eduardo Chaves de; ALMEIDA, Nadjacleia Vilar; CARVALHO, Bernardina Silva de. **Módulo VIII – Concepções e análises de materiais didáticos na perspectiva da diversidade.** UFPB: 2015.

SILVA, B. R. M; OLIVEIRA, L. F. S; PANTOJA, J. C. D; SOUZA, J. R. T. **Obstáculos nos processos de ensino e aprendizagem em Química no 9º ano do Ensino Fundamental.** In: 14º Encontro de profissionais da Química da Amazônia. A atuação dos profissionais da química frente aos desafios atuais, 2014.

SILVA, Hérica Fontes da. **As causas da evasão escolar: um estudo de caso numa unidade de ensino da rede municipal de Itupiranga – Pará nos anos de 2013 e 2014.** In: Congresso Nacional de Educação. 12, Anais..., Paraná, 2015.

CAPÍTULO 21

ANÁLISE DE CONCEITOS GEOCIÊNTÍFICOS ABORDADOS EM UM LIVRO DIDÁTICO DO 6º ANO UTILIZADO EM UMA ESCOLA MUNICIPAL NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 21/07/2020

Filipe de Souza Pinto

Universidade Castelo Branco (UCB)
Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/8676102377198519>

Letícia dos Santos Pinto da Cunha

Universidade Castelo Branco (UCB)
Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/3281728406572214>

Ana Paula de Castro Rodrigues

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)
Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/3842494688644394>

Jane Rangel Alves Barbosa

Universidade Castelo Branco (UCB)
Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/0937248866076875>

RESUMO: O ensino das Geociências, ou Ciências da Terra, mostra-se cada vez mais necessário no cenário ambiental atual. Somente a partir da compreensão de como o planeta e suas esferas funcionam, será possível evitar catástrofes ambientais futuras. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo analisar a eficiência de como o conteúdo geocientífico está sendo empregado em um livro didático do 6º ano, série dedicada a ciências naturais, em comparação com a Base Nacional Comum Curricular. Desta forma, foram escolhidas palavras-chave para

uma pesquisa quali-quantitativa. Foi verificado que os temas são abordados de formas variadas e em múltiplos momentos, de forma clara, indicando que o livro texto poderia ser utilizado de forma adequada para o ensino de conceitos geocientíficos que devem ser desenvolvidos no sexto ano.

PALAVRAS-CHAVE: Geociências. Livro Didático. Ensino.

ANALYSIS OF GEOSCIENTIFIC CONCEPTS APPROACHED IN A TEXTBOOK OF THE 6TH GRADE USED IN A MUNICIPAL SCHOOL IN RIO DE JANEIRO CITY

ABSTRACT: The teaching of Geosciences, or Earth Sciences, is increasingly necessary at the actual environmental scenario. Only through the knowledge of how our planet and its spheres work, it will be possible to avoid environmental disasters in the future. Thus, this work aims to analyze the efficiency of how content on this area is being used in a textbook of the 6th grade, which is dedicated to natural sciences, compared to the National Curricular Common Base. In this way, keywords were chosen for a quali-quantitative research. It was observed that the terms were applied in different ways and in multiple moments along the textbook, clearly, indicating that this textbook could be used as a properly base for teaching the geoscientific concepts that must be developed on the 6th grade.

KEYWORDS: Geosciences. Textbook. Teaching.

1 | INTRODUÇÃO

O ensino das Geociências encontra-se presente nas escolas do Ensino Fundamental até o Superior. As Ciências da Terra mostram-se cada vez mais necessárias no cenário ambiental atual. Somente a partir da compreensão de como o planeta e suas esferas (geosfera, hidrosfera, biosfera, atmosfera, antroposfera) funcionam, será possível evitar catástrofes ambientais futuras (CARNEIRO, 2004). No momento que trazemos essa realidade ambiental para o Rio de Janeiro, percebe-se o quão importante é a propagação desse estudo, já que desastres ambientais comuns poderiam ser facilmente evitados a partir de uma educação geocientífica apropriada.

Ambientalmente, diversos eventos foram marcantes, como movimentos de massa em Angra dos Reis, em 2002 e 2010, desastre do Morro do Bumba em 2010 e o megadesastre que atingiu a Região Serrana em Janeiro de 2011, que deixou 918 mortos, 103 desaparecidos e 30 mil moradores desalojados ou desabrigados nas cidades de Nova Friburgo, Petrópolis e Teresópolis (SILVA, 2015).

Cassali (2017) apresenta dados alarmantes e propõe novas metodologias e leis para evitar esse tipo de desastre ambiental. Porém, outro método eficiente é a conscientização, a educação ambiental e o estudo das geociências, principalmente no âmbito escolar (COSTA, 2013).

Uma prática eficiente de ensino é a utilização dos livros didáticos, um instrumento com importante valor educacional no contexto histórico do Brasil e grande aliado dos professores na hora da construção do conhecimento. Santos (2011) destaca que os livros assumiram um papel muito importante à prática pedagógica no sistema educacional brasileiro desde as décadas de 1970 e 1980.

Segundo Gérard e Roegiers (1998, p.19), o livro didático é *“um instrumento impresso, intencionalmente estruturado para se inscrever num processo de aprendizagem, com o fim de lhe melhorar a eficácia”*. Com o ensino das geociências não é ao contrário, a forma como estas se mostram presentes nos livros é um grande aliado para a assimilação de conteúdo e construção de conceitos.

Entretanto, segundo Costa (2013, p.3), os livros acerca da temática das geociências:

“Apresentam comumente conceitos de terminologia geológica equivocados, errôneos, desatualizados e sem nenhuma sistematização com os fatos ocorridos na história do planeta durante a sua formação e evolução, sendo coincidentemente elaborados por outros profissionais que não são geocientistas. Alguns nem sequer abordam “assuntos considerados importantes para o ensino de geociências, como rochas, minerais e modelos do interior da Terra”, previstos nos PCN”.

Sendo assim, este trabalho tem como proposta analisar a forma como estes conteúdos estão sendo utilizados, através do material didático ofertado no 6º ano

de uma Escola Municipal na Cidade do Rio de Janeiro em comparação à matriz curricular proposta pela SME-RJ (Secretaria Municipal de Educação da Cidade do Rio de Janeiro), que utiliza a Base Nacional Comum Curricular (BNCC).

2 I BASE NACIONAL COMUM CURRICULAR

A BNCC é o documento que tem o propósito de nortear a construção do currículo das escolas de Educação básica, públicas e particulares, do país, e de seus projetos pedagógicos. Em relação ao documento, PCN - Parâmetros Curriculares Nacionais (BRASIL, 1997), o avanço da BNCC está em definir direitos e objetivos de aprendizagem e desenvolvimento aos quais todas as crianças, adolescentes e jovens brasileiros devem ter acesso ao longo do processo de escolarização. Além disso, este documento visa o respeito à diversidade, às particularidades e aos contextos dos indivíduos (MEC, 2015).

Sua primeira versão foi lançada no ano de 2015 e apresentava elementos fundamentais que precisavam ser ensinados desde a educação infantil até o ensino médio, organizados pelas seguintes áreas de conhecimento: Matemática; Linguagens; Ciências da Natureza e Ciências Humanas (MEC, 2015). A segunda versão foi lançada em 2016, ainda organizada pelas mesmas áreas de conhecimento (MEC, 2016).

Para estabelecimento dos direitos de aprendizagem e desenvolvimento, a BNCC se fundamenta em princípios éticos, políticos e estéticos, que devem consolidar a Educação. Assim, para cada uma das etapas da escolarização – ensino fundamental e médio, os direitos preveem a definição dos objetivos de aprendizagem e desenvolvimento dos componentes curriculares.

Desta maneira, convém ressaltar que, conforme Santos (2007, p.488):

“Se a alfabetização/letramento na educação básica for vista com o papel restrito de ensinar a linguagem científica para realizar exames ou obter certificados, pode-se considerar que o modelo convencional de escolas mais tradicionais atende ao seu propósito, ainda que não propicie aprendizagem significativa nos moldes esperados pelos teóricos de aprendizagem. Se a função da educação científica na educação básica for a formação de cidadãos letrados em ciência e tecnologia, [...] será necessário instituir uma ampla reforma no sistema educacional.”

3 I O ENSINO DE CIÊNCIAS E AS PRÁTICAS DAS GEOCIÊNCIAS

Vários estudos estão sendo realizados sobre o estudo das ciências nas escolas (KINDEL, 2012; KRASILCHIK, 2012; SANTOS, 2007), porém, segundo Silva (2017), ainda há vários questionamentos em aberto sobre o contexto escolar e o que deve ser considerado na elaboração dos currículos institucionais.

De acordo com Carneiro (2008), a formação científica jamais poderá ser esquecida, uma vez que toda uma nação sofre com o analfabetismo científico. Além disso, segundo Britto (1994), a ciência pode ser entendida como um processo de descoberta de fatos e busca de leis, para explicar os fenômenos e enriquecer de maneira ordenada e inteligente os conhecimentos do homem a respeito da natureza.

Ainda sobre este assunto, deve-se ressaltar a grande relevância dos conhecimentos aplicados a esta área, uma vez que explora o meio ambiente em que o ser humano está inserido, o próprio desenvolvimento humano, além das transformações tecnológicas e outras temáticas correlacionadas (CAMARGO, 2015).

Neste contexto, podemos afirmar a importância dos ensinamentos das ciências desde os primeiros anos, na educação básica, uma vez que, segundo Coelho (2017, p.1):

“O estudo da ciência para as crianças terá sempre a importância de fazê-las observar o mundo de modo completamente novo, mais completo e muito mais rico, entendendo cada detalhe e conseguindo enxergar conceitos em praticamente tudo”.

Dentro das temáticas abordadas nesta área, temos as Ciências da Terra ou Geociências. O Ensino de Geociências na educação básica é comumente desenvolvido no ensino fundamental em disciplinas como Ciências e Geografia, em especial no ensino fundamental II (6º ao 9º ano). Segundo o estudo de Toledo (2005, p. 31):

“Com as pesquisas atuais sobre as mudanças ambientais globais e locais, fruto das atividades humanas integradas aos ciclos naturais, fica claro que o ensino útil à vida e ao trabalho preconizado [...] deve incluir o conhecimento integral sobre o funcionamento do ambiente e das relações de interdependência de todos os seus setores, inclusive a biosfera, numa perspectiva histórica da evolução planetária. No entanto, no Brasil, salvo raras exceções, os tópicos geocientíficos têm tido um tratamento fragmentado e disperso, insuficiente para promover a compreensão da Terra como um sistema complexo e dinâmico, e para desenvolver a sensibilidade necessária para enfrentar os desafios impostos pela degradação ambiental, mostrando um caráter antropocêntrico e imediatista da filosofia de orientação dos conteúdos”.

Neste sentido, reforça-se a necessidade de estudos como este, onde podemos analisar a aplicabilidade deste conteúdo dentro da sala de aula diretamente, utilizando como base o objeto de estudo diário (livro didático) de forma a esclarecer no caminho certo para a eficiência do estudo das geociências.

4 | METODOLOGIA

Este estudo foi realizado através do método comparativo, constituindo-se de uma análise de um livro de 6º ano que foi utilizado para o ano de 2019 em uma

escola da 5ª CRE (Coordenadoria Regional de Educação), situada no bairro de Bento Ribeiro na Zona Norte da cidade do Rio de Janeiro, em comparação com os temas geocientíficos previstos na Base Nacional Comum Curricular, disponível no site da Prefeitura do Rio.

O livro didático (LD) em questão é o “Ciências: Planeta Terra.” de Fernando Gewandszajner do Projeto Teláris, da Editora Ática, 2ª Edição, 2016. Segundo o autor, na apresentação de seu livro, o objetivo do mesmo é apresentar as características da Terra e de seus recursos e descobrir como cada um de nós pode contribuir para preservar o planeta.

O LD divide-se em quatro unidades e dezesseite capítulos, contendo as seguintes seções: abertura de unidade, abertura de capítulo, boxes ao longo dos capítulos, textos com informações complementares, glossário, dicas de sites interessantes para aprimoramento dos assuntos abordados, atividades (propostas de pesquisas e atividades práticas), leitura especial (contextualização dos temas do volume) e uma visão geral dos principais conteúdos de cada unidade.

Esta análise foi feita verificando os tópicos de Geociências apontados nas orientações curriculares (BNCC), destacando algumas palavras-chave e comparando com o conteúdo proposto pelo livro em questão.

Os temas relacionados a Geociências aparecem muito sutis e resumidos na BNCC, somente uma unidade temática está relacionado a estes temas (Tab.1) e foram utilizadas as seguintes palavras-chave: ‘Terra’, ‘Universo’, ‘Rocha’ e ‘Atmosfera’ para servir como pesquisa. No livro, estas foram pesquisadas, quantificadas e identificadas onde e de qual forma elas apareciam.

CIÊNCIAS – 6º ANO		
UNIDADES TEMÁTICAS	OBJETIVOS DE CONHECIMENTO	HABILIDADES
Terra e Universo	Forma, estrutura e movimentos da Terra	(EF06CI11) Identificar as diferentes camadas que estruturam o planeta Terra (da estrutura interna à atmosfera) e suas principais características. (EF06CI12) Identificar diferentes tipos de rocha, relacionando a formação de fósseis a rochas sedimentares em diferentes períodos geológicos. (EF06CI13) Selecionar argumentos e evidências que demonstrem a esfericidade da Terra. (EF06CI14) Inferir que as mudanças na sombra ao longo do dia em diferentes períodos do ano são uma evidência dos movimentos de rotação e translação da Terra.

Tabela 1 – Termos de Geociências apresentados na BNCC

Fonte: BNCC (Adaptado)

5 | ANÁLISE DE DADOS

Para a pesquisa das palavras-chave, análise quantitativa e qualitativa foi utilizado o programa Adobe Acrobat Reader DC com a ferramenta de Localizar Texto (Ctrl+F). Os dados obtidos foram tratados e catalogados através do programa Microsoft Office Excel 2010.

6 | RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram localizadas as palavras-chave nos capítulos do livro apresentado e fora constatado que as mesmas aparecem múltiplas vezes e de diferentes formas (fig. 1).

Palavras-Chave	QtDs de Aparecimentos	Capítulos que Aparecem	Como Aparecem
Terra	298 x	1, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16 e 17	Textos, Exemplos, Exercícios e Imagens
Universo	46 x	5, 11, 12, 15, 16 e 17	Textos e Exercícios
Rocha	60 x	4, 5, 6, 8, 9, 12 e 16	Textos, Exemplos, Exercícios e Imagens
Atmosfera	117 x	1, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 16	Textos, Exemplos, Exercícios e Imagens

Figura 1 – Resultados para o uso de termos geocientíficos no livro didático.

Fonte: Dados do Estudo.

A palavra ‘Terra’ é a apresentada mais vezes no livro e a que mais está diversificada em conteúdo, trazendo consigo outras informações e eixos temáticos ligados ao estudo das Geociências, não somente sua terminologia. Além disso, podemos também verificar o modo como a palavra ‘Rocha’ está sendo apresentada aos estudantes, uma vez que com ela, traz também o significado do termo ‘Solo’ e as maneiras de serem tratados, mesmo a palavra ‘Solo’ não sendo colocada na BNCC como eixo temático do 6º ano.

O estudo das Geociências ainda é uma das maiores dificuldades apresentadas pelos estudantes (BEZERRA *et al.*, 2018), e conforme Paulo *et al.* (2014) apresenta em seu trabalho, a dificuldade de professores em lecionar alguns desses temas na sala de aula está relacionada à falta de recursos didáticos adequados e suas abrangências nos livros didáticos. Entretanto, o contrário pode ser verificado neste trabalho, onde foi

analisado que muitos destes conteúdos estão presentes no livro utilizado pela SME-RJ (Secretaria Municipal de Educação) e, muitos destes, se quer são colocados como mencionados para este ano escolar segundo a BNCC.

7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se, portanto, que o livro empregado na Escola Municipal da 5ª CRE na Cidade do Rio de Janeiro obteve resultados favoráveis quanto à prática e ao desenvolvimento de tópicos referente a Geociências, comparando com os eixos temáticos propostos pela Base Nacional Curricular Comum.

O que se deve propor agora é um trabalho em conjunto do professor com o livro didático para que esta temática seja amplamente divulgada e estudada, devido ao seu grau de importância. Deve-se ressaltar que o ensino das Geociências promove a reflexão do indivíduo no espaço em que ele vive, a preservação do meio ambiente e conceitos que poderão ser colocados até mesmo para suas decisões pessoais futuramente. Por isso, é tão importante a propagação desse eixo temático dentro das ciências biológicas.

REFERÊNCIAS

BEZERRA, H. P. A.; Et Al. **Informática e o Ensino de Geociências: Estudo de Caso em uma Escola Privada na Zona Oeste do Rio de Janeiro**. Geosaberes. v. 9, n. 17, p. 1-15, Fortaleza, Jan/Abr, 2018.

BRASIL. **Base Nacional Comum Curricular**. Disponível em: <http://prefeitura.rio/web/rioeduca/recursos-pedagogico>. Acesso em: 13 maio 2019.

BRASIL. Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional. **Lei número 9394, 20 de dezembro de 1996**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9394compilado.htm. Acesso em: 15 jun. 2019.

BRITO, N. C. **Didática Especial**. São Paulo: Ed do Brasil, 1994.

CAMARGO, N. S. J; BLASZKO, C. E; UJIE, N. T. **O Ensino de Ciências e o Papel do Professor: Concepções de Professores dos Anos Iniciais do Ensino Fundamental**. XXII Congresso Nacional de Educação. Disponível em: https://educere.bruc.com.br/arquivo/pdf2015/19629_9505.pdf. Acesso em: 10 jul. 2019.

CARNEIRO, C. D. R. *Et Al*. **Dez Motivos para a Inclusão de Temas de Geologia na Educação Básica**. Revista Brasileira de Geociências. v. 34, n. 4, p. 553-660. Curitiba, 2004.

CARNEIRO, C. D. R; SANTOS, G. R. B. **Ensino de geociências na formação profissional em meio ambiente no estado de São Paulo**. Revista Brasileira de Geociências. v. 42, (Suppl 1), p. 84-95. São Paulo, Dez. 2012.

CARNEIRO, C. D. R; SIGNORETTI, V. V. **A carência de conteúdos de Geociências no Currículo Básico Comum de Geografia do Ensino Fundamental em Minas Gerais.** Revista Geografia. v. 33, n. 3, p. 467-483. Rio Claro, Set./Dez, 2008.

CASSALI, N. K. **Desastres Ambientais: Regulação e Métodos de Compensação.** Revista de Direito da Empresa e dos Negócios. v. 1, n. 2, p. 107-126. Brasil, 2017. Disponível em: <http://revistas.unisinos.br/index.php/rden/article/view/15750>. Acesso em: 10 maio 2019.

COELHO, A. N. **A Importância das Ciências na Séries Iniciais do Ensino Fundamental (Conclusão).** Diário do Amapá, Macapá, 31 jul. 2017. Disponível em: <https://www.diariodoamapa.com.br/cadernos/artigos/a-importancia-das-ciencias-na-series-iniciais-do-ensino-fundamental-conclusao/>. Acesso em: 15 jun. 2019.

CORAZZA, S. M. **Currículo na Contemporaneidade.** Formação Continuada: Blumenau, 2008. Disponível em: <https://docplayer.com.br/4013836-Currículo-na-contemporaneidade.html>. Acesso em: 03 jun. 2019.

COSTA, A. O; Almeida, B. G; CARNEIRO, B. H. M. **Educação Ambiental: Conscientização que Não Pode Faltar no Âmbito Escolar.** Revista Eletrônica Pro-Docência/UEL. v.05, n.5, p. 81-94, Londrina, Jul/Dez, 2013. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/prodocenciafope/pages/arquivos/Volume5/7.%20COSTA%20-%20CARNEIRO%20-%20ALMEIDA.pdf>. Acesso em: 10 maio 2019.

COSTA, S. A. **O Reconhecimento das Geociências na Educação Básica: Uma Proposta de Material Pedagógico para Professores do Distrito Federal.** Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Naturais) – Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2013.

ERNESTO, M; CORDANI, U. G; CARNEIRO, C. D. R; DIAS, M. A. F; MENDONÇA, C. A; BRAGA, E. S. **Perspectivas do Ensino de Geociências.** Estudos Avançados. vol.32, n. 94, p. 331-343. São Paulo, Set./Dez, 2018.

GÉRARD, F. M, ROEGIERS, X. **Concevoir et évaluer des manuels scolaires.** Bruxelas: Boeck-Wesmail, 1993. (Tradução Portuguesa de Júlia Ferreira e de Helena Peralta, Porto: 1998).

GEWANDSZNAJDER, F. **Ciências: Planeta Terra:** 2ª ed. São Paulo: Ática, 2016.

HAGEMEYER, R. C. C. **Currículo e Mudança: Práticas Mediadoras como Catálise, Ultrapassagens e Referências para a Formação Docente na Contemporaneidade.** Currículo Sem Fronteiras. v.11, n.1, p.232-251, Jan/Jun, 2011.

KINDEL, E. A. I. **A Docência Em Ciências Naturais - Construindo Um Currículo para o Aluno e para a Vida.** Porto Alegre: Edelbra, 2012.

KRASILCHIK, M. **O Professor e o Currículo de Ciências.** São Paulo: E.P.U, 2012.

MEC. **História da Base Nacional Comum Curricular.** Disponível em: <http://basenacionalcomum.mec.gov.br/historico>. Acesso em: 03 jul. 2019.

PAULO, A. S. G.; XAVIER, R. A.; DORNELLAS, P. C. **O ensino de geociências no 1º ano do ensino médio nas escolas de Arapiraca – Al.** Geosaberes, v. 5, n. 10, p. 04 -16, Fortaleza, Jul./Dez, 2014.

SANTOS, W. L. P. **Educação Científica na Perspectiva de Letramento como Prática Social: Funções, Princípios e Desafios.** Revista Brasileira de Educação. v. 12 n. 36 p. 474-550. Rio de Janeiro, Set./Dez, 2007.

SANTOS, V. A.; MARTINS, L. **A Importância do Livro Didático.** Candombá – Revista Virtual. v. 7, n. 1, p. 20-33, Jan/Dez, 2011. Disponível em: <http://revistas.unijorge.edu.br/candomba/2011v7n1/pdf/3VanessadosAnjosdosSantos2011v7n1.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2019.

SILVA, C. A. M. **Os Desastres no Rio de Janeiro: Conceitos e Dados.** Cadernos do Desenvolvimento Fluminense, Rio de Janeiro, pp. 55–71, jul/dez 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.12957/cdf.2015.26555>. Acesso em: 10 jul. 2019.

SILVA, R. P. **Ensino de Geociências na Educação Básica: Uma Análise dos Planos de Estudos de uma Rede Municipal de Ensino.** Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ensino) – Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2017.

SILVA, T. T. **Documentos de Identidade: Uma introdução às Teorias do Currículo:** 1ed. Belo Horizonte: Autêntica, 1999.

TOLEDO, M. C. M. **Geociências no Ensino Médio Brasileiro – Análise dos Parâmetros Curriculares Nacionais.** Revista do Instituto de Geociências – USP. Publicação Especial, v. 3, p. 31-44. São Paulo, Set/2005.

CAPÍTULO 22

MANDALA SENSORIAL COMO RECURSO PEDAGÓGICO PARA INCLUSÃO DE ALUNOS COM NECESSIDADES ESPECIAIS NO ENSINO DE BOTÂNICA E EDUCAÇÃO AMBIENTAL

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 19/08/2020

Maiara Andrêssa Pozzebon

Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
UTFPR
Dois Vizinhos – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/9771537065922298>

Daniela Macedo de Lima

Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
UTFPR
Dois Vizinhos – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8290411245922793>

RESUMO: Ao longo da história observa-se uma mudança da percepção do homem em sua relação com a natureza, primeiramente acreditava-se que esta era um elemento primordial, após, que o homem a dominava, tendo a mudança dessa concepção iniciada entre as décadas de 60 e 70, devido ao avanço dos movimentos ambientalistas, e continuamente pela inserção da Educação Ambiental a partir da década de 90 nos espaços educacionais. Este estudo analisou os impactos negativos que tal concepção equivocada da natureza causou aos vegetais, pois dentre os demais seres vivos, talvez sejam os mais ignorados pelos seres humanos, influenciada pela denominada “cegueira botânica” e por mudanças de hábitos culturais e sociais, como a crescente urbanização, êxodo rural, distanciamento da natureza, etc. Atrelado a isso, acrescenta-se o ensino defasado e

desestimulante de Botânica. Ademais, se o ensino de Botânica e Educação Ambiental é deficitário para alunos com “perfeito” desenvolvimento e cognição, imagine-se como esses problemas afetam alunos com necessidades especiais... Assim, utilizou-se a Mandala Sensorial, construída na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, para promover a construção do conhecimento de Educação Ambiental e Botânica, além de promover a inclusão de alunos atendidos pela sala de recursos multifuncionais de um Colégio de Dois Vizinhos-PR, nessa abordagem, pois a Mandala permite o estímulo dos cinco sentidos humanos contribuindo para que o conhecimento seja construído mitigando as limitações de seus visitantes. Utilizou-se a metodologia qualitativa para análise dos resultados obtidos por meio da coleta de dados realizada através de entrevistas semiestruturadas. Realizou-se uma explanação sobre Educação Ambiental e Botânica, e duas dinâmicas práticas, sendo uma forma de promover o processo de aprendizagem dos participantes. Concluiu-se que a Mandala Sensorial como recurso pedagógico contribuiu para a construção do conhecimento pelos participantes, aumentou a percepção ambiental destes e os incluiu de forma efetiva no processo de ensino-aprendizagem.

PALAVRAS-CHAVE: Meio Ambiente; Recurso Pedagógico; Inclusão; Mandala Sensorial.

SENSORY MANDALA AS A PEDAGOGICAL RESOURCE FOR THE INCLUSION OF STUDENTS WITH SPECIAL NEEDS IN TEACHING BOTANY AND ENVIRONMENTAL EDUCATION

ABSTRACT: Throughout history it is observed a change in the perception of man in its relationship with nature, first it was believed that this was a primordial element, after that man dominated it, with the change of this conception initiated between the 60s and 70, due to the advancement of environmental movements, and continuously for the insertion of Environmental Education from the 90s in educational spaces. This study analyzed the negative impacts that such a misconception of nature caused to plants, because among other living beings, they are perhaps the most ignored by humans, influenced by the so-called “botanical blindness” and by changes in cultural and social habits, such as increasing urbanization, rural exodus, distance from nature, etc. In addition to this, adds up the outdated and discouraging teaching of Botany. Furthermore, if the teaching of Botany and Environmental Education is deficient for students with “perfect” development and cognition, imagine how these problems affect students with special needs ... Thus, it was used the Sensory Mandala, built at the Federal Technological University of Paraná - Câmpus Dois Vizinhos, to promote the construction of knowledge in Environmental and Botanical Education, in addition to promoting the inclusion of students attended by the multifunctional resource room of a College from Dois Vizinhos-PR, in this approach, because the Mandala allows the stimulation of the five human senses contributing for the knowledge to be built mitigating the limitations of its visitors. Qualitative methodology was used to analyze the results obtained through data collection performed through semi-structured interviews. An explanation about Environmental and Botanical Education was executed, and two practical dynamics, being a way to promote the participants’ learning process. It was concluded that the Sensory Mandala as a pedagogical resource contributed to the construction of knowledge by the participants, increased their environmental perception and included them effectively in the teaching-learning process.

KEYWORDS: Environment; Pedagogical Resource; Inclusion, Sensory Mandala.

1 | INTRODUÇÃO

Ao longo da história verificou-se uma mudança da percepção do homem e a sua relação com a natureza, isso porque, na história antiga, a natureza era vista como um elemento primordial, essencial e à disposição dos seres humanos (GONÇALVES, 2006). Tais concepções somente começaram a ser modificadas no século XX, em meados das décadas de 60 e 70 com a crescente preocupação com os desastres e crimes ambientais que aconteciam, bem como devido ao início dos debates e movimentos ambientalistas. Já entre as décadas de 80 e 90 pesquisadores e estudiosos apontavam que a mudança de pensamento e atitudes dos homens só seria possível por meio de uma Educação Ambiental (SANTOS; IMBERMON, 2015).

Se a natureza como um todo era vista apenas como recurso à disposição do homem, não é forçoso imaginar qual consequência isso gerou aos vegetais,

seres quase que completamente esquecidos e até mesmo ignorados. Tal fato pode ser explicado como uma consequência da denominada “cegueira botânica” e até mesmo por questões culturais e sociais, como o êxodo rural, a urbanização, entre outros (WANDERSEE; SCHUSSLER, 2001).

Diante de todo esse contexto, a presente pesquisa objetivou, por meio da utilização de um recurso pedagógico denominado de Mandala Sensorial, auxiliar na construção do conhecimento acerca de temáticas relacionadas à Botânica e Educação Ambiental, trazendo uma alternativa ao ensino tradicional, desestimulante e enfadonho da abordagem estritamente tecnicista.

Fomentou-se por meio da presente pesquisa a inclusão de alunos atendidos pela Sala de Recursos Multifuncionais do Ensino Fundamental II e do Ensino Médio na construção do conhecimento. Isso porque, diante da acessibilidade de que a Mandala Sensorial dispõe, bem como o misto de sensações que esta proporcionou, todos os seus visitantes puderam construir o conhecimento ao seu modo, respeitando suas limitações, eis que ali os cinco sentidos são parte integrante dessa construção.

2 | A IMPORTÂNCIA DO HOMEM SE SENTIR PARTE DO MEIO E O ENSINO DE BOTÂNICA E EDUCAÇÃO AMBIENTAL

A relação entre o ser humano e a natureza se dá desde os primórdios da humanidade, além disso ao longo da história é possível identificar modificações do modo em que essa relação foi se construindo e se moldando.

Acreditava-se até pouco tempo atrás, que todos os problemas ocasionados no ambiente e na sociedade seriam resolvidos por meio da ciência e da tecnologia, o que de certa forma afastou a necessidade do homem de se colocar ativamente e conscientemente como parte do meio.

Gonçalves (2006) afirma que os seres humanos estão ainda muito longe de se entender como participantes do meio, tendendo tal posicionamento a constantes problemas entre homens e natureza. Segundo ele “muitos ainda parecem acreditar que existem problemas econômicos, sociais e políticos cuja solução é prioritária em relação à preservação do meio ambiente” (GONÇALVES, 2006, p. 42).

O homem é parte do meio, ele integra como os demais organismos as relações ecológicas existentes na natureza, portanto, a visão de que a natureza e os seus bens estão à disposição da humanidade tem que ser mitigada. É necessário o entendimento de que todos os organismos são igualmente importantes biologicamente falando, todos devem cumprir suas funções ecológicas e um necessita da ação do outro para a sobrevivência nesse planeta.

Diante desse contexto, Kobayashi (1991) afirmava que a relação equivocada do homem com a natureza só seria mudada por meio da Educação Ambiental. O

homem só seria capaz de entender o seu papel no meio quando travasse relação direta com a natureza, através da qual seria possível a interação deste por meio dos seus sentidos com os elementos naturais.

Assim, diante desse contexto emergente surgiu a ideia de que seria necessária, portanto, uma Educação Ambiental a qual segundo Carvalho (2012, p.79):

A EA fomenta sensibilidades afetivas e capacidades cognitivas para uma leitura do mundo do ponto de vista ambiental. Dessa forma, estabeleceu-se como mediação para múltiplas compreensões da experiência do indivíduo e dos coletivos sociais em relação ao ambiente. Esse processo de aprendizagem por via dessa perspectiva de leitura dá-se particularmente pela ação do educador como intérprete dos nexos entre sociedade e ambiente e da EA como mediadora construção de novas sensibilidades e posturas éticas do mundo.

É notória a importância e a emergência de se adotar uma Educação Ambiental que seja capaz de demonstrar aos indivíduos as demandas que o meio necessita, e o que os mesmos sejam capazes de enfrentar tais questões de forma crítica e atuante. Dessa forma, visando sempre a consciência de que o homem assim como as demais espécies faz parte do meio, dele necessita e com ele realiza trocas, e somente a partir dessa sensibilização é que será possível uma tomada de decisões pautada na ética cidadã e ecológica.

Além da importância de se inserir no contexto educacional e na formação de cidadãos conscientes a Educação Ambiental, o presente trabalho pretende aprofundar-se em uma temática específica em meio a todo esse contexto. Aqui o objeto de estudo será o ensino da Botânica e as dificuldades que o referido ensino enfrenta no âmbito escolar, mas também no âmbito da sociedade em geral.

Salatino e Buckeridge (2016, *apud* GOHEEN; PALMER, 2010) citam um exemplo para contextualizar a dificuldade encontrada pela percepção humana acerca da importância das plantas no meio:

Imaginemos uma foto típica da savana africana, mostrando árvores, arbustos, gramíneas e girafas. Se apresentássemos essa foto a uma pessoa escolhida aleatoriamente e perguntássemos o que se vê na foto, provavelmente ela diria: "girafas". A probabilidade de que ela mencionasse as plantas na foto seria mínima. No entanto, não apenas elefantes, girafas, gnus, hipopótamos, rinocerontes e zebras são seres interessantes na savana africana. Por exemplo, as folhas de acácias (como as de *Acacia cornigera*, (Leguminosae) são alimento não só de girafas, mas também de elefantes. Os enormes espinhos que elas possuem surpreendentemente não são um problema para as girafas nem para os elefantes. Porém, no interior dos espinhos, reproduzem-se formigas mutualistas muito agressivas (por exemplo, *Pseudomyrmex ferruginea*, Formicidae), que podem causar forte

irritação na mucosa da tromba dos elefantes. Portanto, a conotação formada ao olhar a foto mencionada acima e acreditar que a única coisa perceptível são girafas falha no sentido de não compreender que a girafa só aparece na foto porque as plantas existem.

Diante desse contexto, há uma tendência em dar-se maior atenção àquilo que se mova, como por exemplo, os animais, ficando as plantas nesse contexto somente como parte do cenário, ou seja, seres que não chamam a atenção dos seres humanos (SOLATINO; BUCKERIDGE, 2016).

Devido à observação desse fenômeno, a literatura passou a interpretá-lo como uma negligência botânica altamente perigosa a manutenção e equilíbrio do meio. Assim, Wandersee e Schussler (2001), atentos a essa problemática desenvolveram o que se chama pela literatura de “cegueira” botânica.

Os supracitados autores criaram o termo “cegueira” botânica e assim os definiram:

a) a incapacidade de reconhecer a importância das plantas na biosfera e no nosso cotidiano; b) a dificuldade em perceber os aspectos estéticos e biológicos exclusivos das plantas; c) achar que as plantas são seres inferiores aos animais, portanto, imerecedores de atenção equivalente (WANDERSEE; SCHUSSLER, 2001).

Uma das hipóteses citadas por Wandersee e Schussler (2001) para justificar a ocorrência da “cegueira” botânica é:

A cegueira botânica tem origem na neurofisiologia. Na percepção visual, o olho humano gera dez milhões de bits de dados por segundo; desse total, o cérebro extrai cerca de 40 bits na mesma unidade de tempo; a quantidade de dados que é finalmente processada é de 16 bits por segundo. Portanto, somente 0,00016% dos dados produzidos nos olhos é processado, com prioridade para aspectos como movimento, padrões salientes de cores, elementos conhecidos e seres ameaçadores. As plantas são estáticas, não se alimentam de humanos e confundem-se com o cenário de fundo, tendendo a ser ignoradas no processamento cerebral, a não ser que estejam em floração ou frutificação. Segundo essa visão, a cegueira botânica seria uma condição *default* de humanos (WANDERSEE; SCHUSSLER, 2001).

Porém, essa não seria a única hipótese a justificar essa tendência de negligenciar-se as plantas. Além das questões fisiológicas dos seres humanos, um outro fator muito importante que leva os homens a não reconhecer o devido significado e importância dos vegetais: o fator cultural, como, por exemplo, os fenômenos de êxodo rural e o aumento das concentrações populacionais em centros urbanos e o conseqüente distanciamento da natureza.

Além disso, percebe-se que a realidade escolar contribui para que o desinteresse pela Botânica se acentue, por exemplo, percebe-se situações em que

professores da educação básica, por se identificarem muito mais com os animais do que com as plantas só deem exemplos relacionados a animais em suas aulas, ficando os vegetais de certo modo esquecidos. Além disso, as aulas muito técnicas, com exemplos de difícil visualização por parte dos alunos, inexistência de aulas de campo, a quase nula utilização de laboratórios, todos esses exemplos são empecilhos para que a Botânica seja apreciada pelos alunos (KATON, *et al.*, 2013).

3 I UTILIZAÇÃO DA MANDALA SENSORIAL COMO RECURSO PEDAGÓGICO

Alternativas às dificuldades apresentadas no tópico anterior devem ser buscadas, um exemplo disso é a utilização de recursos pedagógicos a fim de enriquecer o processo de ensino-aprendizagem, inclusive com alunos com necessidades especiais, isso porque, nesses casos o ensino tradicional se mostra ainda mais ineficiente, vez que tais alunos precisam de uma maior atenção e de um tratamento inclusivo para o seu desenvolvimento. Nesse contexto, os educadores podem se utilizar de recursos pedagógicos para promover tal inclusão.

A proposta de utilização de uma Mandala Sensorial muito se adequa nos parâmetros aqui estabelecidos, eis que tal recurso pedagógico explora os conhecimentos de forma interdisciplinar e de forma integradora. A utilização da Mandala Sensorial como um recurso pedagógico para a ensino de Botânica e Educação Ambiental visa promover o processo de ensino-aprendizagem por meio da exploração e estímulo dos sentidos dos alunos participantes, através da inteiração destes com plantas sensoriais presentes na Mandala. Desse modo, por ser uma prática mais humanizada do ponto de vista de sua acessibilidade esta poderá incluir a mais variada gama de alunos em sua utilização, inclusive alunos com necessidades especiais.

Pode-se por exemplo, utilizá-la para contextualizar os conteúdos de solos (microfauna), clima, tipos de vegetação, espécies vegetais, produção de mudas, polinização, plantas medicinais, questões de cidadania e de Educação Ambiental, dentre várias outras alternativas.

Dando destaque à abordagem da Educação Ambiental nesse contexto, esta pode ser trabalhada com o auxílio da Mandala Sensorial, promovendo o contato direto dos participantes com a natureza, desenvolvendo o pensamento ecológico e estimulando a percepção da natureza por meio de seus sentidos (ALMEIDA *et al.*, 2017).

O público-alvo da presente pesquisa foi constituído de alunos atendidos pela Sala de Recursos Multifuncionais de um Colégio situado no município de Dois Vizinhos/PR, justamente com o fim de investigar a efetividade da Mandala na

construção do conhecimento de pessoas com certas limitações cognitivas ou até mesmo físicas. As Salas de Recursos Multifuncionais foram instituídas pelo Ministério da Educação – MEC através de Portaria Ministerial nº 13/2007. Esta portaria foi instituída para integrar o Plano de Desenvolvimento da Educação – PDE, plano este que se destina a fornecer apoio técnico e financeiro as redes de ensino para garantir a inclusão de alunos com deficiência, transtornos globais do desenvolvimento e/ou altas habilidades/superdotação junto ao ensino regular (BRASIL, 2010).

4 | METODOLOGIA

Em função das questões e objetivos propostos nesse trabalho, considerou-se que a perspectiva da abordagem qualitativa de pesquisa é a que mais atendia aos interesses almejados. Para o embasamento teórico, buscou-se auxílio em autores como Uwe (2009), Yin (2016), Gibbs (2009), entre outros. Utilizou-se de coleta de dados por meio de entrevistas semiestruturadas. Este tipo de entrevista, é assim definido por Minayo (2008) “Combina perguntas fechadas e abertas. Nesse tipo de entrevista o entrevistado tem liberdade para se posicionar favorável ou não sobre o tema, sem se prender à pergunta formulada”.

O presente estudo está relacionado ao projeto Sala Verde, uma chancela do Ministério do Meio Ambiente (MMA) concedida à Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV) desde o ano de 2013. É coordenado pelo Departamento de Educação Ambiental do Ministério do Meio Ambiente (DEA/MMA) e consiste no incentivo à implantação de espaços socioambientais para atuarem como potenciais Centros de Informação e Formação ambiental (MMA, 2019).

A pesquisa desenvolvida neste estudo teve como participantes 28 alunos matriculados no Ensino Fundamental II e Médio de um Colégio localizado no município de Dois Vizinhos – Paraná, atendidos pela Sala de Recursos Multifuncionais do referido Colégio, estes com faixa etária variável entre 11 e 23 anos de idade. Todos os participantes possuem algum tipo de necessidade especial.

O método de coleta de dados da pesquisa foi o de entrevistas semiestruturadas com 11 alunos dentre os participantes, 3 matriculados em 6º anos, 3 matriculados em 7º anos, 2 matriculados em 8º anos, 2 matriculados em 9º anos e 1 matriculado no 3º ano do Ensino Médio. As entrevistas seguiram um roteiro pré-estabelecido pela pesquisadora, afim de estruturá-la. O referido roteiro continha as seguintes perguntas: 1) Para você o que é uma planta? 2) No seu dia a dia você tem contato com plantas? Se sim, como é esse contato? 3) Para você qual é a importância das plantas para o meio ambiente? 4) Você acha que os animais são mais importantes que as plantas para o meio? Por quê? 5) Na sua escola você já estudou as plantas?

Como foi? Foram usados recursos pedagógicos? Descreva como foi essa aula. 6) O que você aprendeu com as atividades que você não sabia sobre as plantas? 7) Você acha que existem relações entre as plantas, animais, seres humanos e demais seres vivos? Explique.

Os alunos se deslocaram até a Universidade e lá foram recepcionados e conduzidos até a Mandala Sensorial, onde desenvolveu-se a parte prática do presente trabalho, que consistiu na aplicação de duas dinâmicas complementadas por explicações de temáticas relacionadas à Botânica e Educação Ambiental.

Desse modo, realizou-se falas acerca da importância do homem se sentir parte do meio, da importância dos vegetais para o equilíbrio do meio ambiente, fotossíntese, algumas considerações acerca das características específicas das plantas presentes na Mandala, como presença de tricomas, características dos caules e folhas, as interações destas com o solo, a água, a luz solar e demais seres vivos.

A primeira dinâmica foi idealizada pela própria pesquisadora a qual lhe deu o nome de “Usando os cinco sentidos para conhecer as plantas”. A dinâmica foi desenvolvida da seguinte maneira: os alunos foram colocados em fila indiana, o primeiro na entrada da Mandala e os demais subsequentemente atrás deste. Todos os alunos foram vendados e iniciaram um circuito na Mandala. Para essa atividade foi necessário o auxílio de monitores, os quais estavam em pontos estratégicos ao longo do trajeto percorrido, sendo estes alunos do Curso de Ciências Biológicas do Câmpus, bem como integrantes do Projeto de Extensão Sala Verde nas Ondas do Rio Iguaçu.

Nessa atividade, os participantes vendados, com o auxílio dos monitores, tocaram quatro plantas presentes na mandala, a Hortelã de Leite (*Mentha spicata* L.), a Erva Cidreira (*Lippia Alba*), o Capim-Limão (*Cymbopogon citratus*) e o Boldo (*Plectranthus barbatus*). Essas espécies foram tateadas e percebendo suas formas, relevos e texturas, após a utilização do tato, os participantes foram orientados a utilizar-se do olfato para conhecer a planta que anteriormente tatearam. Os monitores questionaram se os participantes conheciam a planta que estavam tateando e cheirando. Essa atividade foi realizada com cada um dos participantes, sendo que cada um deles conheceu quatro plantas presentes na Mandala ao longo do trajeto. Foram escolhidas plantas aromáticas para que o sentido do olfato fosse devidamente estimulado.

Após isso, após os participantes completarem o trajeto da Mandala, estes foram direcionados a um local próximo dela onde fizeram um círculo. Nesse momento, a pesquisadora ofereceu chás e águas saborizadas feitos com as plantas que anteriormente os alunos conheceram por meio do tato e do olfato. Assim, com o auxílio do paladar estes conheceram as plantas a partir de um outro aspecto. Por

fim, os participantes foram convidados a novamente fazerem o trajeto anteriormente percorrido, porém agora sem a venda, para que estes pudessem conhecer as plantas com o auxílio da visão e da audição.

Logo após, a pesquisadora apresentou as plantas utilizadas na dinâmica, falando aos participantes os seus nomes populares, nomes científicos, suas principais características e suas utilizações medicinais. Além disso, foi promovida uma roda de conversa para que os participantes relatassem a experiência vivenciada.

A segunda dinâmica realizada é denominada de “Teia da Vida”. Esta dinâmica é muito utilizada no meio educacional, mas desconhece-se a sua autoria. A referida dinâmica foi utilizada para estimular nos participantes a percepção de interação do homem com o meio ambiente, bem como para contextualizar a importância da Educação Ambiental nesse viés.

Para a sua realização os participantes se posicionaram em círculo e cada um deles representou um elemento (água, sol, folha, fruto, inseto, sapo, etc.) identificado por um crachá, simulando elos de uma teia. Após uma breve explicação de como seria realizada a dinâmica, iniciou-se a atividade.

Com um novelo de barbante em mãos estabeleceu-se uma relação com outro elemento presente na teia, por exemplo, se a pesquisadora estivesse representando o sol, ela poderia estabelecer uma relação com a folha, sendo assim, levaria o novelo de barbante até o participante representando a folha, após isso, este participante estabeleceria uma relação com outro elemento levando o novelo de barbante até ele. E assim seguiu, até que todos os elementos tivessem sido correlacionados. Quando todas as correlações foram realizadas, os participantes foram questionados acerca de suas escolhas, o porquê que cada um deles estabeleceu aquelas relações.

Em seguida, a pesquisadora questionou aos participantes sobre a consequência da quebra dessas relações, supondo a ocorrência de uma situação-problema (uso indiscriminado de agrotóxico) e deu início a uma discussão, por exemplo, e se todos os insetos da teia morressem, o que iria acontecer com os demais elementos? Muito provavelmente a resposta seria que o seu predador não teria mais alimento, sendo assim, o mesmo iria morrer. Se essa fosse a conclusão alcançada, o participante que estivesse representado o predador do inseto se abaixaria, representando a sua morte. Repetiu-se até que todos os elementos estivessem de alguma forma prejudicados e quando não se chegou à resposta almejada, a pesquisadora induziu a conclusão esperada de forma a continuar o questionamento, até o grupo alcançar a resposta.

Ao fim da dinâmica foi promovida uma reflexão com os participantes acerca da importância das inter-relações entre os diversos elementos ali representados, fazendo-se também uma breve explanação acerca da importância da Educação Ambiental nesse contexto. Em seguida, realizou-se as entrevistas aos participantes

selecionados para tal fim, feito isso, fechou-se as atividades com uma roda de conversa para que os mesmos compartilhassem as experiências vivenciadas ao longo do dia de visitação à Mandala Sensorial.

5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente pesquisa objetivou não só puramente analisar a efetividade da Mandala Sensorial como um recurso pedagógico, mas também se atentou à algumas nuances que auxiliam na conclusão objetivada. Sendo assim, alguns outros pontos foram analisados, tais como se a pesquisa contribuiu para a inclusão dos alunos com necessidades especiais na construção do conhecimento, se houve uma sensibilização ambiental dos participantes, se estes contribuíam para a conceituação de “cegueira botânica”, e se estes se sentiram valorizados e inseridos no processo de ensino-aprendizagem.

De modo geral, todos os entrevistados sabiam que os vegetais são seres vivos, tendo associado o fato de que estes possuem vida ao dever de cuidado dos seres humanos, cuidados estes, como por exemplo, rega, iluminação adequada, limpeza, etc. Como evidencia-se nas falas abaixo:

Entrevistado 03: uma flor, uma árvore, um ser vivo, mas não um animal.

Entrevistado 05: a... é... tipo um ser vivo que a gente deve cuidar que tem vida igual nós.

Constatou-se que, embora os alunos já possuíssem um conceito construído de vegetal, alguns deles inseriram nele parte do conteúdo trabalhado, ou seja, foram capazes de inserir nos conceitos pré-estabelecidos informações como texturas distintas de folhas, indicações medicinais e nome popular das espécies estudadas, demonstrando, portanto, a construção do conhecimento por meio das atividades desenvolvidas na pesquisa.

Em um estudo realizado por Silvério (2017), conclusões semelhantes foram alcançadas. O referido autor pesquisou as percepções dos visitantes em um jardim sensorial, avaliando por meio delas a construção do conhecimento disseminado pelo pesquisador aos participantes, obtendo um resultado de 100% quanto ao quesito do jardim sensorial ter contribuído de alguma forma com a transmissão do conhecimento. Além disso, o autor concluiu que independentemente do tipo de visita, o jardim funcionou como um recurso de troca de saberes tanto aos participantes quanto aos monitores das atividades.

Acerca do questionamento do contato dos participantes com vegetais em seus cotidianos, verificou-se que na maioria das respostas o contato relatado pelos participantes referia-se a cuidados como a rega, retirada do sol

em determinados horários do dia e limpeza. Nenhum dos entrevistados externou outras práticas com a utilização de vegetais, além de que, associaram os referidos cuidados à ajuda aos pais. Como nota-se nas seguintes falas:

Entrevistado 02 - sim, muito, eu dou bastante água no final da tarde, ajudo a mãe plantar, tiro as folhas que tão seca e cuida bastante...

Entrevistado 05: Ah, rego elas, dou água, faço a limpeza lá. Ah... eu limpo, tipo... é cuidado bem, faço o que a mãe pede.

Além disso, percebeu-se que não existe um contato com vegetais de forma rotineira para a maioria dos participantes, ou seja, este se dá de forma esporádica não fazendo parte do cotidiano dos entrevistados.

Porém, mesmo diante do pouco contato evidenciado foi possível perceber que os participantes não se enquadram em regra ao descrito pela literatura como “cegueira botânica”. Chegou-se a essa conclusão em decorrência do questionamento se eles consideravam os animais mais importantes do que os vegetais em relação ao meio ambiente. Embora nem todos tenham conseguido se expressar de maneira satisfatória, verificou-se que eles consideram os vegetais igualmente importantes ao meio e, em alguns casos, os avaliam como mais importantes que os animais. Ressalta-se que essa análise realizada possa ter sido superficial, não refletindo talvez o real sentimento ou entendimento acerca do tema pelos entrevistados. Veja-se:

Entrevistado 07: porque os dois eles tem a mesma coisa, porque a gente cuida do animal e cuida da planta, então eles sempre estão na nossa vida e a gente sempre vai cuidar, não deixa, nenhum é mais importante que o outro, deixa de ser jogado fora, não, os dois são importantes pra todos nós.

Entrevistado 08: a mesma eu acho, porque os animais trazem felicidade como as plantas também.

Entrevistado 09: tem a mesma importância, que as plantinhas também respiram e nós precisa dela porque elas dão sombra e alimentos, umas coisas com árvore e fazem chá e outras coisas também e os animais também comem, toma água, sente coisa, as plantinhas também sente coisas.

Além disso, foi possível notar a construção do conhecimento em relação à importância desempenhada pelos vegetais no meio ambiente. Na aplicação da pesquisa foi feita uma breve conversa afim de quantificar o conhecimento dos participantes acerca da importância dos vegetais ao meio, nessa oportunidade obteve-se apenas uma resposta, um dos alunos referiu-se a importância das matas

ciliares, porém, todos os outros não souberam opinar.

Já nas entrevistas pós aplicação, percebeu-se que grande parte dos participantes souberam dizer pelo menos uma importância desempenhada pelos vegetais ao meio, nota-se, portanto, que mesmo diante de toda a dificuldade de aprendizagem enfrentada pelos participantes, foi possível construir conhecimento a esse tocante. Veja-se:

Entrevistado 01: Ah... que a pranta a gente... a salada a gente come, os tempero também, daí as flor eles usam mais pra fazer perfume, isso e aquilo, Ah... as plantas fazem fotossíntese, elas fazem um monte de negócio.

Entrevistado 03: respiração, proteger os riachos.

Entrevistado 05: elas fazem a fotossíntese, pra daí tipo... pras plantas fazer a própria comida delas, tipo... elas fazem a própria comida delas e nós não.

Conclusões como essas reafirmam a importância do contato direto e concreto com os vegetais para a maior conscientização acerca da importância da preservação do meio ambiente (TURPIE, 2003). Ou seja, além da importância relativa à construção do conhecimento pelos participantes, foi possível através das atividades desenvolvidas agregar entendimentos relativos à Educação Ambiental.

De maneira geral, todos os participantes em algum momento de suas falas externaram a preocupação com a conservação e preservação do meio ambiente, tendo contribuído para tais opiniões a execução da dinâmica “Teia da Vida”. Eles destacaram a referida dinâmica de modo positivo e, afirmaram aprender conceitos acerca de Ecologia, bem como de Educação Ambiental.

Ademais, os participantes citaram importâncias ecológicas dos seres vivos para justificar o dever de preservação do meio, tais como, dispersão de sementes por animais, polinização, a relação do desmatamento e a migração de animais silvestres para os centros urbanos, uso de agrotóxicos e a relação do mesmo com a poluição de rios.

A dinâmica “Teia da Vida” permitiu a construção do conhecimento de uma maneira lúdica com a atuação efetiva dos alunos, isso porque, foram estes que delimitaram as relações com os elementos que estavam representados na atividade e após a inserção de uma situação problema (uso indiscriminado de agrotóxicos), eles chegaram às conclusões das consequências que o referido problema causaria ao meio. Como se vê nas seguintes falas:

Entrevistado 04 - Os humanos depende da vegetação e essas coisas pra comer, os animais dependem do oxigênio, o peixe... é isso daí. A

gente fez o que cada coisa da natureza precisa de outra, sabe? Solo, sol e ... CO2 acho que é o nome que não precisa que o CO2 vive no ar e sol vive bem longe da Terra.

Entrevistado 05 - tipo, o sapo precisa da mosca pra sobreviver se não ele não teria o alimento dele e daí tipo um tem que ter o outro.

A dinâmica supracitada vai ao encontro com o sustentado por Kobayashi (1991) e Hinds e Sparks (2008), pois, estes afirmam que atividades em ambientes com contato direto com a natureza permitem conexões com o meio natural, facilitando assim atitudes e pensamentos positivos ao ambiente. Nesse contexto, o indivíduo acentua a sua consciência ambiental a medida que estabelece contato com a natureza e a explora de diferentes maneiras por meio de seus sentidos.

Já em relação a efetividade da Mandala Sensorial como recurso pedagógico, concluiu-se positivamente atribuindo a construção do conhecimento à utilização de um espaço não-formal de ensino, o que, de acordo com Chassot (2010), se apresenta como divisor na construção do conhecimento bem como no processo de ensino-aprendizagem.

Destaca-se também o estímulo aos cinco sentidos humanos nos resultados obtidos por meio das entrevistas aos participantes, uma vez que várias falas trouxeram elementos a esse tocante, reforçando a ideia de otimização do aprendizado por meio de estímulos, não apenas o visual. Veja-se:

Entrevistado 02 - eu conheci mais a planta por causa do cheiro e tipo, passando a mão a gente tem que tocar na folha, se a gente ficar só olhando a gente não vai saber como que ela é, se ela é mole, se ela é dura, se ela é fina.

Entrevistado 03- Porque a gente sentia tipo a folha fina, a grossa.

Entrevistado 05 - daquela hora que nós fomos lá tocar nas planta, sentir, porque tipo assim eu na minha opinião tive mais contato e teve umas lá que eu não sabia, eu não conhecia.

Nota-se nas transcrições acima relatos de estímulos aos sentidos do tato, olfato e paladar, principalmente. Em um estudo realizado por Almeida *et al* (2017), a experiência realizada com muito se assemelha a prática descrita nessa pesquisa, isso porque os participantes também foram vendados e utilizaram-se de seus sentidos para conhecer as plantas ao longo de um jardim sensorial. Esses autores interpretaram os resultados de seu estudo por meio da análise de questionários, nos quais foram citados os seguintes temas ao descrever as sensações vivenciadas na atividade: insegurança, tranquilidade/calma, descoberta/surpresa, sentidos, liberdade, pertencimento/conexão.

Destaca-se que as atividades nos moldes realizados no presente trabalho instigam o envolvimento, além de gerar entusiasmo e comprometimento com aquilo que estava sendo explanado a eles. Percebeu-se que ao trabalhar o conteúdo previsto juntamente com a atividade prática otimizou os resultados, visto que, os participantes faziam associações com aquilo que estava sendo explicado a eles com os vegetais ali presentes.

Por exemplo, no momento em que foi explicado o que é uma planta herbácea e suas principais características, os participantes já estavam visualizando-a e associando o conhecimento teórico ao conhecimento visual e tátil, facilitando, portanto, o processo. Eles iam associando características morfológicas das plantas aos vegetais estudados, tais como, presença de tricomas e o formato de folhas. Já sem as vendas, os participantes iam associando o contato com as plantas com as utilizações medicinais que iam sendo explicadas a eles.

Já no que diz respeito às especificidades dos alunos, em relação a serem atendidos pela sala de recursos multifuncionais, em decorrência de deficiências e de necessidades especiais comum a todos, foram relatadas dificuldade de aprendizagem, deficiência intelectual, deficiência física neuro-motora, hiperatividade, entre outros, destacando-se o cunho inclusivo das atividades realizadas.

Todos os alunos estão matriculados no ensino comum e no contra turno participam das atividades da sala de recursos, tendo, portanto, esse aporte pedagógico afim de mitigar suas limitações bem como efetivar a inclusão no ambiente escolar. Em pesquisa realizada por Santos (2015), este investigou a maneira com que uma escola em específico estava trabalhando com a inclusão de alunos com necessidades especiais. Ele verificou, por meio de entrevistas realizadas com os educadores da referida escola, que os professores responsáveis pela sala de recursos multifuncionais são aqueles que possuem maior preparação para o ensino desse público, ressaltando que eles repassam informações pertinentes aos demais profissionais, mas que nem sempre todos os demais estão preparados para efetivar a inclusão de forma plena na escola.

Assim, o estudo realizado por Santos (2015) corrobora os resultados obtidos na presente pesquisa, eis que em vários trechos das entrevistas realizadas com os participantes, foi possível constatar a otimização da construção do conhecimento por meio da utilização da Mandala Sensorial e do estímulo aos sentidos humanos.

Desse modo, a Mandala Sensorial desempenhou papel importante na construção de conhecimento relacionado à Botânica e Educação Ambiental, visto que permitiu a participação de todos e auxiliou no processo de ensino-aprendizagem em decorrência da conjugação dos conhecimentos explanados de forma teórica com a percepção sensorial e realização de atividades práticas.

6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desse modo, pode-se concluir que a Mandala Sensorial utilizada como recurso pedagógico para o ensino de Botânica e Educação Ambiental trouxe bons resultados, pois, percebeu-se a construção do conhecimento por todos os entrevistados, mesmo que cada um tenha se expressado à sua maneira, considerando as limitações de aprendizagem de cada um.

Além disso, a inclusão foi realizada de forma efetiva, isso porque, todos os alunos acometidos de diversas deficiências intelectuais e neuro-motoras, construíram cada um do seu modo o conhecimento acerca dos conteúdos trabalhados.

A utilização da Mandala Sensorial promoveu a interação dos participantes com a natureza, permitindo assim a relação simultânea entre teoria e prática, otimizando a construção e consolidação do conhecimento, além do contato direto com o meio, que proporcionou uma melhora na percepção ambiental dos alunos, sensibilizando-os à preservação do meio ambiente.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. G., et al. Biodiversidade e botânica: educação ambiental por meio de um jardim sensorial. **Conecte-se! Revista Interdisciplinar de Extensão**, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p.60-74, jul. 2017. Disponível em: <<http://periodicos.pucminas.br/index.php/conecte-se>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

BRANCO, A. L. C.; VIANA, I. B.; RIGOLON, R. G. **A utilização do jogo “Perfil Botânico” como estratégia para o ensino de botânica**. In: VIII ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS, VIII, 2011, Campinas. Atas... Campinas: UNICAMP, 2011. Disponível em: <http://www.nutes.ufrj.br/abrapec/viiienpec/resumos/R1295-1.pdf>. Acesso em: 16 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Educação Secretaria de Educação Especial. Governo Federal. **Manual de Orientação: Programa de Implantação de Sala de Recursos Multifuncionais**. Brasília: Governo Federal, 2010. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/index.php?option=com_docman&view=download&alias=9936-manual-orientacao-programa-implantacao-salas-recursos-multifuncionais&category_slug=fevereiro-2012-pdf&Itemid=30192>. Acesso em: 22 maio 2019.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Governo Federal. **Projeto Salas Verdes**. Brasília: Governo Federal, 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/educacao-ambiental/educucomunicacao/salas-verdes>>. Acesso em: 29 abr. 2019.

CARVALHO, I. C. M. **Educação Ambiental: formação do sujeito ecológico**. 6. ed. São Paulo: Cortez, 2012.

CHASSOT, A. **Alfabetização Científica: questões e desafios para a educação**. 5. ed. Revisada. Ijuí: Unijui, 2010.

GIBBS, G. **Análise de dados qualitativos** [recurso eletrônico] Graham Gibbs; tradução Roberto Cataldo Costa; consultoria, supervisão e revisão técnica desta edição Lorí Viali. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2009.

GONÇALVES, M. C. F. **Filosofia da Natureza**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Ed., 2006.

HINDS, J.; SPARKS, P. Engaging with the natural environment: The role of affective connection and identity. **Journal of Environmental Psychology**, v. 28, p. 109-120. 2008.

KATON, G. F.; TOWATA, N.; SAITO, L. C. **A cegueira botânica e o uso de estratégias para o ensino de botânica**. In: III Botânica no Inverno 2013 (org.) LOPEZ A. M. et al. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2013. 183 p.

KOBAYASHI, T. A suggestion about environmental education using the five senses. **Marine Pollution Bulletin**, [s.l.], v. 23, p.623-626, jan. 1991. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0025-326x\(91\)90745-e](http://dx.doi.org/10.1016/0025-326x(91)90745-e).

MINAYO M.C.S. **O Desafio do Conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde**. 11. ed. São Paulo (SP): Hucitec, 2008.

SALATINO, A.; BUCKERIDGE, M. **Mas de que te serve saber botânica?** *Estud. av.*, São Paulo, v. 30, n. 87. Disponível: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142016000200177. Acesso em: 16 abr. 2019.

SANTOS, J. A. E. IMBERNON, R. A. L. (2015). **A concepção sobre “natureza” e “meio ambiente” para distintos atores sociais**. *Terra e Didática*, v. 10, n. 2, 151-159. <https://doi.org/10.20396/td.v10i2.8637372>

SANTOS, E. C. (2015) **Horta Sensorial Como Apoio Aos Professores De Ciências Naturais No Contexto Da Educação Inclusiva**. Dissertação (Mestrado), Ensino de Ciências Naturais, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT.

SILVÉRIO, P. H. E. (2017) **Jardim Sensorial da UFJF, um espaço de terapia e conscientização**. Dissertação (Mestrado), Ecologia, Universidade Federal do Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

TURPIE, J. K. The existing value of biodiversity in South Africa: how interest, experience, knowledge, income and perceived level of threat influence local willingness to pay. **Ecological Economics**, v. 46, p. 199-216. 2003.

WANDERSEE, J. H.; SCHUSSLER, E. E. Toward a theory of plant blindness. **Plant Science Bulletin**, v.47, p.2-9, 2001.

YIN, R. K. **Pesquisa qualitativa do início ao fim** [recurso eletrônico]. Robert K. Yin; tradução: Daniel Bueno; revisão técnica: Dirceu da Silva. – Porto Alegre: Penso, 2016.

ANÁLISE E AVALIAÇÃO DOCUMENTAL DAS ORIENTAÇÕES CURRICULARES PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS NA EDUCAÇÃO INDÍGENA: UM OLHAR PARA A BOTÂNICA

Data de aceite: 23/09/2020

Renan Marques

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Brasil

Queli Ghilardi Cancian

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Brasil

Ricardo da Cruz Monsores

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Brasil

Eliane Terezinha Giacomell

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Brasil

Vilmar Malacarne

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Brasil

RESUMO: A pesquisa se realizou por uma análise e avaliação documental trazendo uma abordagem no ensino de Ciências analisando as orientações curriculares na educação indígena para o conteúdo de botânica. Essa análise foi realizada tendo como base documentos e bibliografias do ensino de Ciências, com o foco no ensino indígena e no conteúdo de Botânica, seguindo as orientações Curriculares nacionais e estaduais vigentes no atual período. Essa análise possibilitou identificar os tópicos trabalhados no conteúdo de Botânica na disciplina citada acima, analisando como o currículo e as diretrizes curriculares abordam

o tema junto ao aluno. O trabalho buscou conhecer as orientações curriculares e didáticas para o Ensino Fundamental II, nas disciplinas específicas do conteúdo de botânica. A pesquisa, de cunho qualitativo, foi realizada com leituras de bibliografias da área para investigar o que tem sido pesquisado sobre as abordagens metodológicas de conceitos da botânica, bem como verificar as pesquisas sobre educação indígena. Com as leituras bibliográficas e análises documentais, pode-se entender o papel fundamental desses documentos oficiais que regem o ensino contribuindo para a interação sócio cultural com o conteúdo trabalhado. Nestes há, também, a metodologia voltada à prática investigativa no ensino de Ciência na educação indígena o que permite que o professor possa trabalhar melhor os conteúdos na especificidade destas culturas.

PALAVRAS - CHAVE: Educação, Ensino Indígena, Botânica.

CURRICULAR GUIDELINES FOR TEACHING SCIENCE IN INDIGENOUS EDUCATION: A LOOK AT A BOTANY

ABSTRACT: The research brings an approach in science education for the evaluation of curricular content in indigenous education for the content of botany. This analysis was carried out based on documents and bibliographies of the teaching of science and biology, with a non-pedagogical and indigenous teaching focus, following the current national and international curricular guidelines. This analysis may be useful for the content of Botany in the disciplines mentioned above, considering the curriculum and the

textbook approaching the subject with the student. The work sought to know the curricular and didactic strategies for Elementary School II and High School, in the specific subjects of the botany content. The qualitative research was carried out with publications of bibliographies of the area to investigate what is considered researched about the methodological perspectives of botany concepts, as well as to research on indigenous education. Bibliographical and analytical literatures can be understood as the fundamental role of these documents that govern teaching for a socio-cultural exchange with the content worked. Nestlé also has a methodology focused on the investigative practice in teaching science in the same discipline that allows the teacher to increase the potential in specifying these cultures.

KEYWORDS: Education, Indigenous Education, Botany.

INTRODUÇÃO

A amplitude da educação formal vem crescendo cada vez mais no país, tanto em infraestrutura como em qualidade de ensino. Com isso e com apoio de novas leis, que garantem o direito de alfabetização e ao mesmo tempo de preservação da cultura, esta tem chegado até lugares que antes não chegava, como escolas rurais e indígenas, dando a possibilidade aos indígenas, por exemplo, de receber uma formação de qualidade, tornando-os cidadãos, qualificados para cursar inclusive o ensino superior.

Atualmente, alguns dos motivos que justificam a busca dos indígenas pela educação em escolas nos seus próprios territórios, estão voltados desde há manter a cultura e a tradição - que é passada de geração em geração - ou então para qualificá-los para buscar uma formação nas universidades. Nas escolas tradicionais, os alunos indígenas marcavam altos índices de evasão e repetência devido principalmente a; práticas educacionais distanciadas da realidade sociocultural dos alunos; Calendário escolar que não respeita as atividades coletivas e rituais importantes na cultura; e Avaliações que não consideram as práticas da educação indígena (Brasil, 2002). Além disso, nestas escolas, geralmente são desconsideradas as histórias de vida, experiências e conhecimentos diferenciados das populações indígenas. Tais escolas, também, tendem a tratá-los como se brancos e índios fossem iguais no enfoque cultural e no modo de viver, sendo assim descontextualizado de suas realidades. Outro detalhe é que os livros didáticos encontrados nos estabelecimentos de ensino indígenas e distribuídos pelo MEC/PNLD são os mesmos utilizados nos grandes centros (George, 2011).

É importante destacar que a escola indígena deve articular os anseios da comunidade e projetos de sustentabilidade territorial e cultural, através do diálogo e participação comunitária. Nesse contexto são necessárias algumas alterações no modelo de gestão, no calendário escolar e nos conteúdos disciplinares, os quais devem permear situações que vivenciem os rituais e meios de produção do grupo

(Pernambuco, 2007).

Considerando esta realidade, o presente estudo visa realizar uma análise documental e bibliográfica do ensino indígena na disciplina de Ciências e Biologia no conteúdo de botânica, seguindo as orientações Curriculares nacionais e estaduais vigentes no atual período.

A pesquisa, de cunho qualitativo foi desenvolvida por meio de uma análise bibliográfica e documental. Primeiramente foi realizada a leitura de bibliografias da área para investigar o que tem sido pesquisado sobre as abordagens metodológicas de conceitos da botânica, bem como verificar as pesquisas sobre educação indígena. Por sua vez a pesquisa documental aconteceu por meio de estudos de documentos oficiais tais como Diretrizes Curriculares Nacionais, estaduais, com o objetivo de conhecer como a cultura local está presente neste documento, bem como conhecer as orientações metodológicas de práticas investigativas do ensino de botânica na disciplina de Ciências na educação indígena. A bibliografia foi analisada com ênfase na abordagem metodológica de conceitos dentro do conteúdo de botânica.

A Pesquisa teve como objetivos analisar as relações dos elementos disciplinares e os elementos socioculturais das aldeias indígenas presentes na BNCC, e no currículo.

METODOLOGIA

A presente pesquisa é de natureza qualitativa, desta forma o pesquisador investiga, compreende e interpreta, o elemento estudado. A mesma se desenvolveu com a análise das diretrizes curriculares nacionais, e das bases curriculares que abordam o ensino de botânica na disciplina de Ciências e Biologia para a educação indígena.

Para realização desse estudo foi adotado a metodologia de pesquisa Qualitativa, proposta por (Esteban, 2010). Nesta perspectiva, a finalidade essencial da pesquisa é estabelecer relações entre conhecimentos socioculturais e científicos que possam contribuir com informações até então desconhecidas para auxiliar de alguma forma o aprendizado dos alunos, mostrando metodologias práticas investigativas e a abordagem do conteúdo de botânica segundo o currículo.

No contexto epistemológico, o conhecimento se constrói por meio da prática e não está fora dos propósitos dos atores e no modo pelo qual nos aproximamos da realidade para refletir sobre ela. Dessa forma se encontram as condições para acessar um novo conhecimento e para melhorar a prática educacional. Sendo assim foi avaliado quais as metodologias descritas na literatura para o ensino de botânica na educação indígena.

Essa metodologia de pesquisa qualitativa envolve a transformação

metodológica e a melhoria de uma realidade educacional a partir da compreensão da realidade. Para um desenvolvimento sólido e concreto, a pesquisa será realizada, seguindo seis etapas do processo construtivista apresentado por Esteban (2010). As seis fases são: **Fase exploratória/de Reflexão**, nesta fase a primeira etapa é identificar o problema, que neste caso é, quais as diretrizes e bases curriculares que regem a grade ministrada para os povos indígenas, e como vem sendo o desenvolvimento pedagógico e metodológico no ensino de Ciências, para o conteúdo de botânica? Na segunda etapa temos as questões de pesquisa, onde é levantado quais as questões plausíveis para nossa pesquisa, e como ela será desenvolvida. Na terceira etapa entramos com uma Revisão Documental, onde realizamos uma pesquisa minuciosa na literatura e nos documentos relacionados com nosso tema, para assim ter um embasamento teórico plausível e concreto para realização da pesquisa. Na última etapa da primeira fase, entra a Perspectiva Teórica onde analisamos a bibliografia coletada com um olhar de outros autores, nos trazendo assim um melhor embasamento teórico do tema.

Na segunda fase, a **Fase de Planejamento**, traz em primeira instância, a seleção do cenário de pesquisa, onde neste caso o cenário são as bibliografias que foram analisadas correspondentes ao conteúdo de botânica, no ensino de Ciências para educação indígena com Base na BNCC - *Base Nacional Comum Curricular*. Com essas informações entra o último ponto da segunda etapa, redefinir o problema e as questões de pesquisa.

Na Terceira Fase, **Fase de entrada no cenário**, é selecionado o papel do pesquisador e a forma de entrada do cenário, podendo ser direta ou indireta. Em nosso caso é a análise dos dados, ou seja, a forma de entrada será indireta, O pesquisador não vai a campo, apenas avalia os documentos, previamente escolhidos na Fase de Planejamento, como a BNCC, Currículo, e Livro didático.

Na Quarta **Fase de coleta e de análise da informação**, são elaboradas estratégias para a coleta de informações, que neste caso será pela elaboração de um planejamento para obtenção dos dados bibliográficos, estabelecendo então uma técnica de análise dessas informações, e rigor para processar os dados.

Nas fases finais a **Fase de retirada do cenário, e a Fase de elaboração do Relatório**, são as fases utilizadas para realizar o fechamento da pesquisa realizando uma análise intensiva das informações obtidas e elaborar um relatório final com base nos dados obtidos no decorrer da pesquisa (Esteban, 2010).

Nesta perspectiva, a pesquisa se desenvolveu a partir dos passos descritos acima onde foi realizada uma análise sucinta das bases e diretrizes curriculares nacionais com um olhar para o conteúdo de botânica dentro da disciplina de Ciências.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A BNCC, juntamente às demais legislações brasileiras, contempla especificidades de populações minoritárias, possibilitando atender diversas demandas educacionais, como o ensino do campo ou das comunidades indígenas, buscando manter, na educação, seus rituais culturais. Um exemplo disso é o Art.7º da LDB 9394/96 que nos traz em seu texto que a organização das escolas indígenas e das atividades consideradas letivas podem assumir variadas formas. Assim, é possível moldar os calendários letivos e os conteúdos à cultura local, trabalhando temas com abordagem cultural específica.

Segundo a LDB - Art. 7, parágrafo 1º em todos os níveis e modalidades da educação escolar Indígena, no ensino de botânica deve ser garantido princípios da igualdade social, do respeito as diferenças, do respeito à especificidade, do bilinguismo e da interculturalidade, contando preferencialmente com professores e gestores membros da respectiva comunidade.

Muitas vezes o ensino de Ciências está descontextualizado, com o distanciamento do contexto cotidiano dos alunos e do contexto de produção do conhecimento científico. Desta forma, o aluno não consegue estabelecer as relações existentes entre os conhecimentos que o professor leva e as situações diárias, para então explicar o mundo ao seu redor (Streher et al, 2008).

O estudo do conteúdo de botânica, por exemplo, pode ser abordado com o tópico educação Ambiental criando assim uma interação com a matéria e a cultura. Este tópico pode ser explorado, conforme afirma Paredes (2008), não o reduzindo ao ensino ou à defesa da ecologia. Para o autor a Educação Ambiental deve, então, ser encarada como um processo voltado para a apreciação das questões ambientais sob sua perspectiva ecológica, econômica, social (Paredes et al, 2008). Nesta perspectiva principalmente cultural, é necessário buscar medidas que preservem o meio ambiente preservando a cultura indígena, e através do estudo formar alunos, cidadãos conscientes através da interação interdisciplinar, entre a disciplina e o estudo sociocultural.

Este ponto de interação pode se tornar um pouco confuso se observarmos a educação escolar indígena que, desde a década de 1970 e após várias reformulações, busca o seu reconhecimento como uma educação específica, diferenciada e de qualidade para essas populações. Na prática, entretanto, há enormes conflitos e contradições a serem superados (Brasil, 2002). Esse cenário é resultado do contexto histórico em que o sistema escolar foi criado, tomando como modelo a sociedade não indígena, privilegiando a padronização de atitudes e comportamentos, conforme a sociedade moderna (Bergamaschi; Schneider Medeiros, 2010)

Entre as dificuldades encontradas nas instituições de ensino indígenas está

o fato de que os professores que lecionam nestas são indígenas e não indígenas, visto que não há formados nas disciplinas específicas, na maioria dos casos (De Paula, 2013).

De acordo com Brasil (2002) essa é uma questão problemática, pois os professores não indígenas não possuem conhecimentos sobre esses povos, podendo, portanto, ocasionar distorções no processo educativo ou impedindo o desenvolvimento da proposta de educação intercultural. Uma das causas disso está na formação de professores que não discutem questões sobre a educação intercultural e a prática pedagógica em currículos e realidades específicas.

De acordo com Hernández & Mirón (2006) para o ensino e aprendizagem em Ciências, torna-se destaque a noção de Ciência intercultural, a qual deve promover mudanças no currículo para satisfazer os contextos interculturais, onde encontramos indivíduos de culturas diferentes. Deve-se então considerar que cada povo possui sua sabedoria para ser comunicada, transmitida e distribuída por seus membros. Um exemplo disso é que na maioria das aldeias há várias pessoas, principalmente os mais velhos que conhecem muitas histórias, explicações e mitos sobre os fenômenos naturais, fazendo parte do que chamamos de cultura (Brasil, 2002). Este conhecimento pode de certa forma interagir com a disciplina, neste caso específico a botânica e trabalhar a interação disciplinar com a cultura local do estudante indígena.

Ao longo do tempo, tornou-se necessário tomar como exemplo o modelo educacional tradicional para estruturar a educação indígena e assim reivindicar seus direitos. Da mesma forma, os indígenas foram se apoderando de outros instrumentos e novas tecnologias, como, por exemplo, o celular. Isso não significa tornar-se branco ou deixou de ser índio e sim utilizar-se destes meios para a sobrevivência, fortalecendo e sendo capaz de garantir a continuidade de suas tradições culturais (Luciano, 2006).

Outro exemplo muito comum segundo George (2011) é a influência das culturas não indígenas que introduzem o uso de medicamentos industrializados pelo atendimento nos postos de saúde e como consequência aos poucos tem ocasionado o esquecimento acerca da medicina tradicional, sendo que com o passar do tempo, o uso de plantas medicinais se torna escassa.

Vemos situações em que no Ensino Fundamental e Médio na escola ocorre o desaparecimento de línguas e de dialetos regionais, praticando-se apenas o uso da língua nacional. Às vezes, quando lembrada, a língua regional é trabalhada apenas na forma escrita. Isso contribui para que

Grande parte dos saberes regionais oriundos diretamente da cultura local, sejam reconhecidos pelos próprios integrantes locais desta cultura, muitas vezes, como saberes inferiores ou de valor limitado (Strieder & Staub, 2010, p. 12).

Essa concepção dos costumes indígenas por meio da escola, para propiciar a afirmação étnica e cultural, foi decorrente da Constituição de 1988 onde a chamada educação escolar indígena ganhou suas peculiaridades de ser diferenciada, intercultural e bilingue ou multilíngue (Brasil, 2002). Na Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional (LDB) os artigos 32, 78 e 79, também abordam a questão da educação escolar indígena, em relação à questão sociocultural, trabalhada de forma análoga a disciplina. Esses pontos já foram apresentados na Constituição Federal, porém enfatizam o uso das línguas maternas e a devida estruturação interna das escolas. Além disso aponta para a formação específica de professores, com a recuperação das tradições e reafirmação cultural (Brasil, 1996).

Com o avanço da Ciência e da Tecnologia ao longo do tempo, o ensino de Ciências na Educação Indígena se tornou algo extremamente necessário. Deste modo, com essa evolução faz-se necessário integrar esses conhecimentos a todo cidadão crítico, uma vez que isso é fundamental para sua formação.

A introdução escolar acontece nos chamados Anos Iniciais, que são os primeiros anos escolares e são responsáveis por ser à base da formação educativa dos indígenas, visto que é neste período que acontecem o primeiro contato com o conhecimento científico e sistematizado. Constata-se então, a relevância da participação do aluno indígena inserido no processo de educação e aprendizado, e desta forma, o professor necessita de um bom posicionamento e de uma boa formação, compreendendo e sabendo orientar diferentes metodologias, objetivando incluir todos os seus alunos, em virtude de todas as diferenças na forma de aprendizagem que é única para cada pessoa.

Um método que pode ser eficaz no processo de entendimento dos conhecimentos científicos de forma mais dinâmica e ágil é a experimentação. Realizar a inserção de experimentos dentro da sala de aula, por exemplo, buscando solucionar problemas, onde os alunos indígenas buscariam compreenderem e explicarem que “as leis, fatos e fenômenos da natureza, bem como as implicações socioambientais desse conhecimento” (Andrade & Massabni, 2011, p. 836). Desta forma buscando uma alfabetização indígena no âmbito científico, que subsidia grandemente o processo de aprendizagem dos alunos, como apontam autores da área como Krasilchik (2012), Reginaldo *et al.* (2012), Carvalho (2013), entre outros.

No entanto, uma problemática que tem se tornado frequente é a falta de interesse dos alunos pelas aulas de Ciências, o que também ocorre com alunos indígenas. Pode-se dizer que isso advém da forma em que as aulas são apresentadas, que são passadas de uma forma mecânica e que não descreve e não relaciona o contexto com a realidade que o aluno vive, e que muitas vezes torna-se a metodologia exclusiva do professor (Krasilchik, 1987; Lima *et al.*, 2013).

Se opondo a essa forma convencional do ensino, as aulas com um caráter

mais prático são uma aposta mais atrativa, que se inseridas corretamente, podem resgatar a atenção dos alunos em relação à matéria de Ciências. Nessa perspectiva é possível dizer que

No ensino expositivo toda a linha de raciocínio está com o professor, o aluno só a segue e procura entendê-la, mas não é o agente do pensamento. Ao fazer uma questão, ao propor um problema, o professor passa a tarefa de raciocinar para o aluno e sua ação não é mais a de expor, mas de orientar e encaminhar as reflexões dos estudantes na construção do novo conhecimento (Carvalho, 2013, p. 2).

Contudo, Krasilchik (2012) diz que se as realizações de aulas práticas com experimentos forem feitas só por fazer, de forma isolada, sem apropriada orientação do professor, pode ser negativo para o entendimento dos alunos do que seria a real proposta do exercício primariamente, e isto resultará em conclusões equivocadas sobre determinado assunto ou fenômeno abordado das Ciências Naturais.

Uma grande parcela dos professores ainda acredita que atividades experimentais apenas servem para corroborar, evidenciar ou reconsiderar um conteúdo uma vez já trabalhado, tratando assim os experimentos como simples “demonstrações de modelos”. Entretanto, as atividades experimentais podem ser empregues anteriormente a teoria propriamente dita, buscando solucionar problemas, com os quais os alunos possam ao fim da atividade especulativa, ascender a uma determinada teoria (Reginaldo *et al.* 2012).

Quando contextualizamos a educação no país e, neste contexto, o ensino de ciências, um dos pontos de destaque nesta análise é a experimentação, abordada no método construtivista que sugere que aluno, através de experimentos análogos a sua realidade, tenham um maior aproveitamento e conseqüentemente um melhor desempenho.

Outro ponto que acompanha a linha construtivista de Piaget foi a interação sociocultural de Vygotsky que sugere que o aluno forma seu conhecimento através de sua vivência e o professor atua apenas auxiliando no processo de aprendizagem. Isto está diretamente ligado a vivência e ao cotidiano do aluno, e mesmo que as teorias sejam divergentes em alguns pontos, nestes casos elas se completam. Na realidade dos alunos indígenas, estes trazem uma bagagem sócio cultural que pode ser trabalhada de forma paralela ao conteúdo de botânica.

Considerando que na cultura indígena as plantas estão muito presentes, essa relação traz a possibilidade de se trabalhar inúmeras práticas em sala de aula e aproximar o conteúdo do aluno com uma maior chance de compreensão. Assim as atividades experimentais que buscando solucionar problemáticas, de acordo com Amaral (1997), Borges & Moraes (1998) e Cachapuz *et al.* (2005), são experimentos que visam o reconhecimento e a cooperação do aluno em todas as

etapas da atividade, desde a elaboração, planejamento de hipóteses e execução até a discussão dos resultados, propiciando um aumento na criatividade, autonomia e na via especulativa nos alunos.

Já nos documentos, como BNCC, e no livro didático o que foi observado é que ambos trabalham de formas interligadas, mas tirando um pequeno trecho da BNCC, nenhum tem um direcionamento específicos aos indígenas O livro didático apresenta o conteúdo exigido no currículo que por sua vez segue o que está na BNCC porém, o mesmo livro distribuído pelo estado e município para as escolas da zona urbana, são os mesmos que chegam nas escolas rurais, do campo e para escolas indígenas. O problema disso, é que o livro normalmente vem adaptado ao cotidiano do aluno da cidade, uma realidade que não condiz com o cotidiano do aluno indígena. Isso por sua vez, dificulta sua interação com o conteúdo trabalhado, tendo em vista que o livro didático não está direcionado com a realidade que ele conhece. Isso exige muito mais do professor, que além de relacionar o conteúdo de botânica trabalhado na disciplina de Ciências muitas vezes com as plantas que ele está acostumado a ver em suas tradições, tem que associar e explicar o que está no livro e o aluno não compreende.

A BNCC por sua vez, traz um trecho pequeno porem bem significativo esclarecendo que o meio sociocultural, as tradições e a cultura indígena devem ser preservadas no âmbito escolar. Na pág. 17 a BNCC diz que o ensino indígena deve assegurar competências específicas com base nos princípios da coletividade, reciprocidade, integralidade, espiritualidade e alteridade indígena, a serem desenvolvidas a partir de suas culturas tradicionais reconhecidas nos currículos dos sistemas de ensino e propostas pedagógicas das instituições escolares Significa também, em uma perspectiva intercultural, considerar seus projetos educativos, suas cosmologias, suas lógicas, seus valores e princípios pedagógicos próprios. O texto também é bem claro quando aponta que as escolas e suas esferas tem autonomia e competência para incorporar aos seus currículos propostas pedagógicas a abordagem de temas relacionados a cultura local. Esses temas aparecem no direito da criança e do adolescente nas leis educação das relações étnico-raciais e ensino de história e cultura afro-brasileira, africana e indígena (Leis nº 10.639/2003 e 11.645/2008, Parecer CNE/CP nº 3/2004 e Resolução CNE/CP nº 1/200422), educação ambiental (Lei nº 9.795/1999, Parecer CNE/CP nº 14/2012 e Resolução CNE/CP nº 2/201218), que apoiam e favorecem não só os indígenas como todos os alunos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização das análises documentais e bibliográficas, possibilitaram

averiguar que o conteúdo selecionado para ser trabalhado na comunidade escolar que é apresentado segundo o currículo pelo livro didático ao cotidiano das minorias, nesse caso os alunos indígenas. Este não apresenta conceitos de botânica aplicados a metodologias utilizadas no processo de ensino e aprendizagem da educação indígena. Isto pode ser constatado pela ausência de associação do conhecimento científico pertinente aos conteúdos de botânica com a realidade sociocultural indígena.

Dos documentos avaliados na presente pesquisa, as Diretrizes Curriculares Nacionais e estaduais, e a Base Nacional Comum Curricular, apresentaram pontos positivos em relação ao ensino indígena, porém ambas tem uma abordagem muito sucinta em relação ao tema. Apesar de trabalharem de forma conjunta nem sempre os documentos conversam entre si. Neste caso ambos aparentaram textos muito semelhantes, que visavam preservar a cultura local e inserir atividades socioculturais no currículo do aluno.

Os resultados de nossa pesquisa mostram como é de extrema importância analisar essas referências, pois com o levantamento bibliográfico e documental é possível identificar a preservação cultural dos conceitos abordados ao longo do tempo e com isso criar uma linha contextual da educação indígena inserida nas Diretrizes Curriculares e na BNCC.

Assim pode-se concluir que o ensino de botânica tal como o ensino de Ciências na educação indígena trabalha de forma interdisciplinar e é bem amparado pelos documentos que incentivam a interação sociocultural dando autonomia às escolas para incorporar estas as atividades do seu currículo, visando assim a interação científica com a preservação da cultura local. Mesmo com os livros didáticos não possuindo uma versão adaptada aos indígenas, como é o caso abordado, a educação para essa classe tem se mostrado produtiva.

REFERÊNCIAS

Andrade, M. L. F. e Massabni, V. G. O desenvolvimento de atividades práticas na escola: um desafio para os professores de ciências. *Ciência & Educação*, (2011), 17, 835-854.

Angotti, J. A. & Pernambuco, M.M. *Ensino de ciências: fundamentos e Métodos*. 2.ed. São Paulo: Cortez.

Amaral, I. Conhecimento formal, experimentação e estudo ambiental. *Revista Ciência e Ensino* (1997), 3, 10-15.

Bergamaschi, M. A. e Schneider Medeiros, J. História, memória e tradição na educação escolar indígena: o caso de uma escola Kaingang. *Revista Brasileira de História*, (2010), 30(60).

- Borges, R. M. R. & Moraes, R. Como desenvolver a educação em Ciências nas series iniciais, *Educação em Ciências nas Séries Iniciais* Porto Alegre: Sagra Luzzatto. (1998), (pp. 13–27).
- Brasil. Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional. Brasília, DF, 20 de dez, (1996). Disponível em: <<http://portal.mec.gov.br/arquivos/pdf/ldb.pdf>>. Acesso em: 10 mai. 2018
- Brasil. Referencial Curricular Nacional para as escolas indígenas (RCNEI). Ministério da Cultura do Desporto, Secretaria de educação fundamental. Brasília: MEC/SEF, (2002).
- Brasil. Diretrizes curriculares nacionais. Ministério da Educação. Secretaria da Educação básica. Secretaria de Educação continuada, Alfabetização, Diversidade e Inclusão. Secretaria de Educação profissional e tecnológica. Conselho nacional da Educação. Câmara nacional de Educação Básica. ((2013),p 405).
- Cachapuz, A., Gil-Perez, D., Carvalho, A. M. P., Praia, J. E., Vilches A. (Eds.). *A necessária Renovação do Ensino de Ciências*. São Paulo: Cortez (2005).
- Carvalho, A. M. P. (Eds.). *Ensino de ciências por investigação: condições para implementação em sala de aula*. São Paulo: Cengage Learning. (2013).
- De Paula, L. R. O ensino superior indígena como política pública: elementos para a construção de um modelo metodológico de avaliação e comparação de experiências locais. *Revista Brasileira de Estudos Pedagógicos*, (2013), 94(238).
- Esteban. M. P. S. *Pesquisa Qualitativa em Educação Fundamentos e tradições*. 2.ed.Porto Alegre, AMGH Editora Ltda, (2010).
- George, I. T. B. Conhecimentos (etno) matemáticos de professores Guarani no Paraná. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Educação em Ciências e em Matemática), *Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Matemática*, (2011).
- Hernández, J. M. C. e Mirón, C. E. (2006). Hacia un concepto de Ciencia Intercultural. *Enseñanza De Las Ciencias*, v. 22, n.1 p. 137-146. Disponível em: <<http://www.raco.cat/index.php/ensenanza/article/viewFile/21966/21800>>. Acesso em: 30 abril. 2018.
- Krasilchik, M. *O professor e o currículo de Ciências*. São Paulo: EPU/Edusp, (1987).
- Krasilchik, M. *Prática de Ensino de Biologia*. São Paulo: USP, (2012).
- Lima, J. H. G., Siqueira, A. P. P. & Costa, S. *A utilização de aulas práticas no ensino de ciências: um desafio para os professores*. In Anais do 2º Simpósio de Integração Científica e Tecnológica do Sul Catarinense, Araranguá, Santa Catarina, Brasil, (2013).
- Luciano, G. dos. S. (2006). O Índio Brasileiro: o que você precisa saber sobre os povos indígenas no Brasil de hoje. Brasília: *Ministério da Educação, Secretaria da Educação Continuada, Alfabetização e Diversidade; LACED/ Museu Nacional*.

Paredes, A. B. P. et al . A Escola Indígena: papel e expectativas. In *anais do II Seminário Internacional: Fronteiras Étnico-Culturais e Fronteiras da Exclusão*. Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, (2008).

Reginaldo, C. C., Sheid, N. J. & Güllich, R. I. C. *O ensino de ciências e a experimentação*. In *Anais do 9º Seminário de Pesquisa em Educação da Região Sul, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul*, (2012).

Strieder, D. M. & Staub, T. Perspectivas culturais e o ensino de ciências: vínculos e redimensionamentos para a prática docente. *Revista Travessias*, v. 4, n. 3, p. 1-21, (2010).

Streher, I. T. et al. Fenômenos da natureza, Concepções Espontâneas e Alfabetização científica – Temas de Reflexão Docente. In: 1º Simpósio de Educação e XX Semana da Pedagogia. Cascavel-PR. *Anais Eletrônicos...* Cascavel, (2008). Disponível: <<http://www.unioeste.br/cursos/cascavel/pedagogia/eventos/2008/1/Artigo%2013.pdf>>. Acesso em: 07 mai. 2018.

SUSTENTABILIDADE AMBIENTAL E BIOCOMBUSTÍVEIS NO CONTEXTO EDUCACIONAL

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 06/07/2020

Tayrine Mainko Hoblos Pozzobon

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Toledo—PR
<http://lattes.cnpq.br/4320546998485119>

Ana Claudia de Oliveira Guizelini Merli

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Toledo—PR
<http://lattes.cnpq.br/0396501605772124>

RESUMO: Os documentos que orientam as políticas públicas educacionais brasileiras recomendam a inclusão da educação ambiental em todas as esferas da educação. A inclusão dos temas transversais na sala de aula também é de suma importância no currículo escolar, onde devemos lembrar que o estudo do meio ambiente não se reduz apenas ao ambiente físico e biológico, mas abrange também as relações sociais, econômicas e culturais. Através dessa visão devemos propiciar momentos de reflexões que induzam os alunos ao enriquecimento cultural, à qualidade de vida e à preocupação com o equilíbrio ambiental. Entre as questões atuais associadas à Ciência e Tecnologia, encontra-se a temática da sustentabilidade e o uso de biocombustíveis, onde pode ser abordada em diferentes enfoques, incluindo aspectos associados à problemática energética e ambiental. A utilização de combustíveis fósseis, mais utilizada atualmente, é responsável por

alterações climáticas mundiais; seu consumo tem aumentado em função do aumento populacional o que fez com que suas reservas reduzissem consideravelmente, tornando ainda mais crucial a busca por alternativas para produção de energia. O objetivo deste artigo é identificar na literatura elementos que buscam sistematizar as discussões à temática ambiental e a produção de energia limpa dentro da área da educação, onde devem ser trabalhados para o processo de socialização dos conhecimentos científicos e uma mudança de perfil socioambiental das gerações futuras. Uma nova proposta, se bem trabalhada, pode ambicionar e construir algo diferente, trazendo novas interpretações no nexo entre educação e sustentabilidade.

PALAVRAS-CHAVE: Sustentabilidade. Bioenergia. Educação, Biologia.

ENVIRONMENTAL SUSTAINABILITY AND BIOFUELS IN THE EDUCATIONAL CONTEXT

ABSTRACT: The documents that guide Brazilian educational public policies recommend the inclusion of environmental education in all spheres of education. The inclusion of transversal themes in the classroom is also of great importance in the school curriculum, where we must remember that the study of the environment is not limited to the physical and biological environment, but also are geared towards social, economic and cultural areas. Through this vision we must provide moments of reflection that induce students to cultural enrichment, quality of life and concern for environmental balance. Among the current

issues associated with Science and Technology is the issue of sustainability and the use of biofuels, where it can be approached in different approaches, including aspects related to energy and environmental issues. The use of fossil fuels, more currently used these days, is responsible for global climate change; its consumption has increased as a result of the population increase, which has caused its reserves to reduce considerably, making the search for alternatives to energy production even more crucial. The objective of this article is to identify in the literature elements that seek to systematize discussions on environmental issues and the production of clean energy within the area of education, where they must be worked on for the process of socialization of scientific knowledge and a change in the social and environmental profile of future generations. A new proposal, if well worked, can go beyond and build something different, bringing new interpretations in the nexus between education and sustainability.

KEYWORDS: Sustainability. Bioenergy. Education. Biology.

1 | INTRODUÇÃO

A discussão e investigações sobre temas contemporâneos no ensino de Ciências são de grande importância no contexto nacional, uma vez que em revisão realizada em alguns dos principais periódicos nacionais são poucos os trabalhos que se dedicam a estes temas.

A importância da abordagem desses temas no currículo escolar é enfatizada pelos Parâmetros Curriculares Nacionais, pois trazem os temas transversais (Brasil, 1998). Entre as questões atuais associadas à Ciência e Tecnologia, encontra-se a temática da sustentabilidade e o uso de biocombustíveis, onde pode ser abordada sob diferentes enfoques, incluindo aspectos associados à problemática energética e ambiental.

Visto que para o desenvolvimento econômico o uso de energia é um dos fatores primordiais, um dos meios desenvolvidos para conservação do meio ambiente é o uso das energias renováveis que diminuam ou não causem impacto direto ao meio ambiente. Antigamente a energia era obtida da lenha das florestas, para atividades domésticas como cozinhar. Porém, com o desenvolvimento e o uso de novas tecnologias o consumo de energia teve um crescimento expressivo e outras fontes de energia foram necessárias.

A utilização de combustíveis fósseis que hoje é a mais utilizada, é responsável por alterações climáticas mundiais. A queima dessa fonte de energia libera na atmosfera substâncias químicas poluentes que se acumulam no ecossistema e afetam de uma maneira ou outra todas as formas de vida (DAS et al, 2001). Além dos problemas ambientais gerados pelos combustíveis fósseis, seu consumo tem aumentado em função do aumento populacional o que fez com que suas reservas reduzissem consideravelmente, o que torna crucial a busca de novas alternativas

para produção de energia (DAS et al, 2008).

Esta procura por fontes alternativas de energia associada à incerteza quanto à disponibilidade do petróleo e a preocupação em assegurar a demanda de energia tomando medidas necessárias para preservação do meio ambiente, tem sido um dos temas mais relevantes da atualidade.

A educação ambiental precisa ser trabalhada juntamente com a perspectiva da sustentabilidade, se tratando do relacionamento entre a natureza e sociedade. Criando uma reflexão e articulação de sentidos sobre as práticas sociais, que vem sendo marcadas pela degradação permanente do meio ambiente. Esta produção do saber deve contemplar as inter-relações do ambiente com o meio social, analisando processos, a organização social, o desenvolvimento de novas tecnologias, criando um novo perfil de desenvolvimento que priorize a sustentabilidade socioambiental.

Neste sentido o objetivo deste artigo é identificar na literatura elementos que buscam sistematizar as discussões à temática ambiental e a produção de energia limpa dentro da área da educação, onde devem ser trabalhados para o processo de socialização dos conhecimentos científicos e uma mudança de perfil socioambiental das gerações futuras. Uma nova proposta, se bem trabalhada, pode ambicionar e construir algo diferente, trazendo novas interpretações no nexu entre educação e sustentabilidade.

2 | REVISÃO

O meio ambiente vem sendo degradado historicamente e a situação vem se agravando devido ao crescimento da população, o que leva a necessidade de criar estratégias que conscientize a população sendo um destes a educação ambiental em todos os níveis de ensino. A educação é um direito fundamental e um instrumento chave para mudar valores e estilos de vida, por um mundo mais sustentável é necessário difundir, entre a população, a consciência do quanto o meio ambiente é importante. Assim uma das principais formas de as pessoas obterem esta consciência necessária á melhoria da sua qualidade de vida é a educação ambiental (EDUCAÇÃO, 2011). Onde na escola pode se motivar os estudantes a disseminar seu conhecimento sobre o assunto através de praticas sustentáveis e educativas relacionadas ao seu cotidiano (RODRIGUES, R.V. et al. 2014).

2.1 Sustentabilidade

O termo sustentabilidade surge de duas origens: Uma dentro da área biológica, a que se refere à capacidade de recuperar ecossistemas agredidos por ações antrópicas, como uso abusivo dos recursos naturais, ou natural como os terremotos, tsunamis entre outros. A segunda surge na economia, visando o

desenvolvimento onde a crescente demanda de produção e consumo, também exige cada vez mais a exploração dos recursos ambientais (NASCIMENTO, 2012). O termo tornou-se expressivo sendo fruto da percepção de uma crise ambiental global. A grande questão é se as gerações futuras terão condições de viver ao menos nas mesmas condições das quais vivemos hoje.

Vários são os problemas e danos causados por modelos de desenvolvimento que ignoram o equilíbrio dos ecossistemas, consumindo recursos em uma velocidade maior que a sua renovação. São inúmeras as implicações ambientais como a perda da biodiversidade, mudanças climáticas mundiais, esgotamento e destruição de recursos naturais, ruptura da camada de ozônio, e ainda problemas sociais onde várias pessoas são excluídas ao acesso de condições dignas de sobrevivência.

2.2 Biocombustíveis

A produção de energia passa a ser eficiente quando reduzimos ao máximo a perda de maneira econômica e ambientalmente segura. Quanto mais usarmos e produzirmos com eficiência a energia sobre o ponto de vista econômico – social-ambiental e tecnológico maior a possibilidade de alcançarmos um desenvolvimento energético sustentável.

Os biocombustíveis são derivados de biomassa renovável que podem substituir, parcial ou por completo os combustíveis derivados do petróleo em motores de combustão ou outro tipo de geração de energia. Onde os dois tipos mais usados no Brasil são o etanol produzido da cana de açúcar e o biodiesel, produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais e a adicionando ao diesel em proporções variáveis, onde no Brasil hoje alcança 18% do uso de combustíveis renováveis (ANP 2017).

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais e o maior exportador de etanol. Atualmente, é considerada a melhor e mais avançada opção para a produção sustentável de biocombustíveis em larga escala no mundo (BRASIL 2011). A produção e desenvolvimento da tecnologia de carros movidos apenas a álcool veio através do Proálcool, programa criado pelo governo em 1975 motivado pelo preço elevado da conta do petróleo pago pelo país, que na época importava mais de 80% do petróleo que consumia (LEITE e LEAL 2007).

A indústria sucroalcooleira se tornou um importante exemplo, pois além de utilizar uma matéria prima renovável ela aproveita todo seu resíduo para produção de subprodutos como combustível, plástico ração animal, fertilizantes, entre outros, se tornando assim cem por cento sustentáveis.

Além do etanol produzido da cana de açúcar, milho e celulose ainda podem ser produzidos outros tipos de biocombustíveis como o Biogás obtido em aterros sanitários, pântanos, intestinos de animais, etc. O biodiesel, combustível renovável

e biodegradável que se obtém a partir de óleos vegetais ou animais substituindo o óleo diesel usado nos automóveis, caminhões, tratores e outros veículos. Ainda existem vários estudos relacionados à utilização de outras fontes de biomassa para produção de biocombustíveis, entre elas estão as microalgas, efluentes industriais, beterraba, dendê, semente de girassol, mamona, pinhão manso, resíduos agrícolas e florestais entre outros. A biodiversidade do Brasil e sua extensão territorial trazem inúmeras possibilidades de matérias primas para serem utilizadas, desenvolvendo métodos sustentáveis para produção de uma energia mais limpa. Onde das vantagens do uso dos biocombustíveis, destacam-se diversos benefícios para o meio ambiente, referente à emissão de gases que causam o efeito estufa (LEITE E LEAL, 2007).

3 | DISCUSSÃO

As iniciativas educacionais para o consumo sustentável podem se realizar não apenas na disciplina de biologia, mas no âmbito de todas as disciplinas dos currículos do Ensino Fundamental e Médio, bem como no nível superior. Como tema transversal do ensino, o meio ambiente engloba a questão do consumo sustentável, que deve ser abordada de forma holística, por se tratar de uma postura de cidadania (FURRIELA 2001).

A contextualização do ensino deve ser usada através das discussões sobre temas ambientais e sociais, como os combustíveis, o lixo, os quais devem ser incorporados aos conteúdos curriculares (PINHEIRO 2007). Os temas escolhidos como transversais devem possibilitar uma visão ampla da realidade brasileira e sua inserção no mundo, além de desenvolver um trabalho educativo que possibilite educação social aos alunos.

Em uma pesquisa realizada no Município de Gurjão, PB utilizando questionário como instrumento de coleta de dados e realizado com 163 alunos das 1a, 2a e 3a séries do ensino médio mostrou que a maioria dos alunos afirma não saber definir o conceito de fonte renovável de energia e menos da metade dos alunos entrevistados entende o conceito de desenvolvimento sustentável e 55% destes alunos conhecem o conceito de biocombustíveis (LUCENA ET AL 2012). Resultado este inesperado, pois muito se debate sobre o termo sustentabilidade que é motivo de encontros mundiais sobre meio ambiente.

4 | CONCLUSÕES

A demanda energética mundial, apesar das inúmeras alternativas que vem surgindo é ainda quase que totalmente dependente dos combustíveis de origem fóssil. O desafio para se conseguir diversificar as fontes de energia e, ainda assim,

garantir a sustentabilidade ambiental e econômica com redução das emissões de gases de efeito estufa, entre outros impactos sobre o ambiente, é um desafio.

Os estudantes, mesmo que já acostumados com os impactos das novas tecnologias precisam refletir sobre suas consequências e o debate sobre os biocombustíveis pode ser uma das estratégias.

Com o aumento da população a necessidade de consumir energia aumenta a cada dia e por isso é tão importante se discutir o uso de fontes renováveis que não agridam ou ao menos minimizem os impactos ambientais. Afinal o uso dos combustíveis fósseis além de causarem poluição podem provocar danos à saúde do homem e de todos os ecossistemas, chuva ácida, efeito estufa.

Para se alcançar resultados o ponto de partida é a conscientização, a sensibilização a respeito do problema da degradação dos recursos ambientais do planeta e suas consequências sobre a saúde e o modo de vida humanos, e também ter conhecimento das novas tecnologias e possibilidades que visam um desenvolvendo sustentável. Essa sensibilização depende de iniciativas na área da educação.

Pode-se concluir com base em artigos já publicados que as temáticas ambientais não estão inseridas de forma efetiva nas matérias da grade curricular não promovendo a abordagem de temas transversais já o nível de conhecimento sobre sustentabilidade e biocombustíveis ainda são poucos compreendidos pelos alunos.

A abordagem do tema “biocombustíveis” é bem interessante, uma vez que abrange um tema atual, que está constantemente aparecendo na mídia e que pode se relacionar com diversos outros assuntos.

REFERÊNCIAS

ANP – **Agencia Nacional do Petróleo, Gás Natural e Combustível**. Acesso em: 16/10/18.
Disponível em : <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/>

BRASIL Ministério da Educação. Secretaria de Educação Fundamental. **Parâmetros Curriculares Nacionais: Ciências Naturais**. Brasília: MEC. (1998).

BRASIL **País Revoluciona o Uso e a Produção De Biocombustível**. 2011 Acesso:16/10/18
Disponível em: <https://www.brasil.gov.br/noticias/infraestrutura/2011/12/pais-revoluciona-o-uso-e-a-producao-de-biocombustivel>

DAS, DEBABRATA e VEZIROGLU, T.N. “**Hydrogen production by biological process: a survey of literature.**” (International Journal of Hydrogen Energy) 2001.

DAS, DEBABRATA. “**Advances in biohydrogen production processes:An approach towards commercialization.**” International Journal of Hydrogen Energy, 2008: 1-9.

EDUCAÇÃO Ambiental no Brasil. Disponível em: <http://www.unesco.org/new/pt/brasil/education/education-for-sustainable-development/> Acesso em: 09/09/2018.

FURRIELA, B. R. **Educação Para O Consumo Sustentável** Ciclo de Palestras sobre Meio Ambiente - Programa Conheça a Educação do Cibec/Inep- MEC/SEF/COE 2001. Disponível em : http://184.182.233.153/rid=1255702566159_609656948_13781/Educa%C3%A7%C3%A3o%20para%20o%20consumo%20sustent%C3%A1vel.pdf Acesso em:09/09/2018.

LEITE, R. C. C. e LEA, M.R.L.V. **O biocombustível no Brasil.novos estudos – CEBRAP n°78 SP Julho 2007.** Disponível: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-33002007000200003

LUCENA, E. F. et al. **BIOCOMBUSTÍVEIS E O ENSINO DE QUÍMICA NO MUNICÍPIO DE GURJÃO, PB** ENECT - Encontro Nacional de Educação Ciência e Tecnologia – UEPB 2012. Disponível em : <http://editorarealize.com.br/revistas/enect/resumo.php?idtrabalho=102>

NASCIMENTO. **Trajatória da sustentabilidade: do ambiental ao social, do social ao econômico.** Estudos avançados, 2012. Universidade de Brasília Acesso em: 04/09/2018 Disponível em : <http://www.scielo.br/pdf/ea/v26n74/a05v26n74.pdf>

PINHEIRO, N. A. M., SILVEIRA, R. M. C. F., BAZZO,W. **A relevância do enfoque CTS para o contexto do ensino médio.** Ciência & Educação, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 71-84, 2007.

RODRIGUES, R.V. *et al.* **Conhecimentos e dificuldades na produção de textos de divulgação científica por alunos do curso de ciências biológicas da universidade federal do Ceará.** 2014 Disponível em: <http://www.sbenbio.org.br/wordpress/wp-content/uploads/2014/11/R0873-1.pdf> Acesso em 01/10/18

SANTOS, B. D. ; LIMA, L. L. **Bioenergia Além Da Teoria: Uma Experiência Educativa Com Estudantes De Escola Pública.** Revista Brasileira de Educação Ambiental 2017. Disponível em: <http://www.sbecotur.org.br/revbea/index.php/revbea/article/view/5098/3252> Acesso em: 09/09/2018.

SOBRE O ORGANIZADOR

CLÉCIO DANILO DIAS DA SILVA - Doutorando em Sistemática e Evolução pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. Mestre em Ensino de Ciências Naturais e Matemática pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN (2018). Especialista em Ensino de Ciências Naturais e Matemática pelo Instituto Federal do Rio Grande do Norte – IFRN (2017). Especialista em Educação Ambiental e Geografia do Semiárido pelo Instituto Federal do Rio Grande do Norte – IFRN (2019). Especialista em Tecnologias e Educação a Distância pela Faculdade São Luís – FSL (2020). Graduado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Facex - UNIFACEX (2015). É revisor dos periódicos Hólos; Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar; Carpe Diem e Retratos da Escola. Tem vasta experiência em Zoologia de Invertebrados, Ecologia aplicada; Educação em Ciências e Educação Ambiental. Áreas de interesse: Fauna Edáfica; Taxonomia e Ecologia de Collembola; Ensino de Biodiversidade e Educação para Sustentabilidade.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Ácido ursólico 182, 183, 184, 185, 186
Agrotóxico 122, 129, 246
Antioxidante 127, 131
Antitirozinase 130, 131
Ascariíase 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32
Atenção primária 22
Atributos do solo 197, 198, 202

B

Basihyal 160, 161, 163, 166
Biocombustíveis 266, 267, 269, 270, 271, 272
Biodegradação 144, 147, 149, 151
Biomarcadores 68, 92, 101
BNCC 231, 233, 234, 235, 256, 257, 258, 262, 263
Botânica 238, 240, 241, 242, 243, 245, 247, 248, 251, 252, 253, 254, 256, 257, 258, 259, 261, 262, 263

C

Câncer de pele 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227
Carcinoma de células escamosas 70, 71, 72, 73, 74, 76
Cartilagem de Meckel 160, 164
Células meristemáticas 188, 190, 191
Cronobiologia 109, 110, 119

D

Dermatofitose 37, 43, 44
DNA Mitocondrial 168, 180
Doenças renais 92

E

Educação ambiental 230, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 249, 251, 252, 258, 262, 266, 268, 272, 273
Efluentes lácteos 144
EJA 216, 217, 218, 219, 220, 221, 223, 226

Ensino 219, 223, 228, 229, 230, 231, 232, 235, 236, 237, 238, 240, 241, 243, 244, 247, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 270, 272

Ensino indigna 254

F

Fisiologia do esporte 103

Futebol feminino 102, 103, 104, 108

G

Geociências 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237

I

Imuno-histoquímica 49, 55, 60, 61, 62, 63, 64

Infecção neonatal 9, 17, 20

Insuficiência cardíaca 92, 94, 95, 101

M

Mandala sensorial 238, 240, 243, 245, 247, 250, 251, 252

Matéria orgânica do solo 200, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 211

Meio ambiente 2, 37, 112, 115, 116, 117, 118, 123, 126, 128, 153, 154, 195, 196, 197, 232, 235, 238, 240, 244, 245, 246, 248, 249, 252, 253, 258, 266, 267, 268, 270, 272

Metabolismo 122, 203

N

Neoplasias da língua 70

Nêspera 182, 183, 184, 185

O

Óleo de eucalipto 157

P

Palatoquadrado 160, 162, 163, 164, 165, 166

Papilomavírus humano 48, 49, 50, 54, 55, 58, 65, 66, 67, 69

Poli-ε-caprolactona 78, 80, 81, 82, 83, 85, 86

Potencial antimicrobiano 182, 183

Prenilflavanona 131

Q

Qualidade de vida 86, 98, 109, 111, 112, 113, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 266, 268

Qualidade do solo 195, 197, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 214, 215

R

Radioterapia 70, 72, 74, 75

Recurso pedagógico 238, 240, 243, 247, 250, 252

Ritmo circadiano 109

S

Saúde 3, 6, 22, 23, 27, 29, 30, 31, 33, 39, 68, 69, 77, 79, 86, 92, 93, 95, 98, 101, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 115, 118, 119, 120, 121, 122, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 154, 195, 197, 200, 201, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 226, 227, 253, 259, 271

Sistema hidrológico 168, 177

Sustentabilidade 128, 195, 197, 198, 199, 200, 201, 203, 255, 266, 267, 268, 270, 271, 272, 273

T

Taxa de filtração glomerular 92, 93, 101

Temperatura da pele 102, 103, 104, 106, 107, 108

Tomateiro 153, 154, 155, 158

Toxicidade 78, 79, 80, 81, 123, 124, 126, 187, 188, 189, 190, 193

V

Variabilidade genética 168, 170, 179

AS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E A INTERFACE COM VÁRIOS SABERES 2

www.arenaeditora.com.br 

contato@arenaeditora.com.br 

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

www.facebook.com/arenaeditora.com.br 

AS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E A INTERFACE COM VÁRIOS SABERES 2

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

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

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 