



PRODUÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS 2

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2022



PRODUÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS 2

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2022

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremona

Daphynny Pamplona

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-Não-Derivativos 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Biológicas e da Saúde**

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

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



Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto
Prof^o Dr^a Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Prof^o Dr^a 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
Prof^o Dr^a Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Prof^o Dr^a Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Prof^o Dr^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof^o Dr^a Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^o Dr^a Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Prof^o Dr^a 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
Prof^o Dr^a 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 Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^o Dr^a Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Prof^o Dr^a Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Prof^o Dr^a Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^o Dr^a Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins
Prof^o Dr^a Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Prof^o Dr^a 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
Prof^o Dr^a Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Prof^o Dr^a Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^o Dr^a Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará
Prof^o Dr^a Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense
Prof^o Dr^a Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Prof^o Dr^a Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^o Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^o Dr^a Welma Emídio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco



Produção científica em ciências biológicas 2

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Mariane Aparecida Freitas
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P964 Produção científica em ciências biológicas 2 / Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-0372-2

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.722222206>

1. Biologia. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim de (Organizadora). II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br



DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



APRESENTAÇÃO

Caro leitor,

As Ciências Biológicas é uma grande área de estudo que diz respeito a todos os seres vivos e suas especificidades; mas também faz intersecção com outras áreas, como a Educação, a área da Saúde e a Biotecnologia. Nesta obra, “Produção científica em Ciências Biológicas 2”, nossa intenção é mostrar ao longo de 18 capítulos o que vem sendo produzido neste campo, com trabalhos originais ou de revisão que englobam saúde, bioconservação, meio ambiente, pesquisa experimental, Microbiologia, aplicações na indústria farmacêutica e Educação.

Trabalho com anticorpos monoclonais para diagnóstico, com antígenos plaquetários, ou avaliação de aspectos clínicos e epidemiológicos de doenças como anemia falciforme; produção de cosméticos, aplicação de biotecnológica de micro-organismos na indústria, conservação ambiental e registro de novas espécies animais; ou avaliação do tema saúde e currículo escolar. Estes são alguns dos temas encontrados neste livro e mostram a importância da multidisciplinaridade e da interdisciplinaridade dentro das Ciências Biológicas. É com certeza uma literatura necessária para estudantes e profissionais.

Sempre prezando pela qualidade, a Atena Editora possui um corpo editorial formado por mestres e doutores formados nas melhores universidades do Brasil, com o objetivo de revisar suas obras. Isto garante que um trabalho de alta qualidade chegue até você. Esperamos que você tenha uma ótima leitura!

Daniela Reis Joaquim de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ANTICORPO MONOCLONAL A GP43 E ANÁLISE DE REATIVIDADE COM ANTÍGENOS DE *Paracoccidioides brasiliensis* E DE *P. lutzii* NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE HUMANA

Franciele Ayumi Semêncio Chiyoda-Rodini

Tawane Dancini Arduan

Cassia Reika Takabayashi Yamashita

João Paulo Assolini

Adriane Lenhard-Vidal

Bianca Dorana de Oliveira Souza

Flávio Hiroshi Itano

Maria Catarina Cavalcanti Fracazzo

Mario Augusto Ono

Eiko Nakagawa Itano

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222222061>

CAPÍTULO 2..... 6

ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTÍGENOS PLAQUETÁRIOS HUMANOS, HPA-2, -3, E A DOENÇA PERIODONTAL

Aléia Harumi Uchibaba Yamanaka

Josiane Bazzo de Alencar

Cristiane Maria Colli

Cléverson O. Silva

Ana Maria Sell

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222222062>

CAPÍTULO 3..... 17

AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA ANEMIA E DO TRAÇOFALCIFORME EM COMUNIDADES QUILOMBOLAS DO BRASIL

Liakésia Muniz Santana

Julliana Ribeiro Alves dos Santos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222222063>

CAPÍTULO 4..... 29

VITILIGO

Danielle Freire Goncalves

Iasmim Ianne Sousa Tavares

Sarah da Silva Barros

Janaína Almeida Galvão Miranda

Pâmela Daiana Cancian

Thiago Mourão Almeida Araújo

Julia Fernanda Gouveia Costa

João Guilherme Teles de Carvalho

Mercia Rodrigues Lacerda

Vinicius Araújo Pereira

José Danilo Amorim Ghidetti
Ruyilson dos Santos Oliveira
Palloma dos Santos Oliveira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222222064>

CAPÍTULO 5..... 34

ANÁLISE SENSORIAL: SUA RELEVÂNCIA NO DESENVOLVIMENTO DE UM COSMÉTICO

Isabel Silva Alves Cerqueira
Verena Honegger
Antonio Hortêncio Munhoz Júnior
Leonardo Gondim de Andrade e Silva
Isabella Tereza Ferro Barbosa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222222065>

CAPÍTULO 6..... 46

BOAS CONDUTAS PARA MINIMIZAR INTERCORRÊNCIAS EM PROCEDIMENTOS ESTÉTICOS FACIAIS COM BIOESTIMULADORES DE COLÁGENO: ÁCIDO POLI-L-LÁCTICO, HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO E POLICAPROLACTONA

Robertha Barata Dias
Ana Carolina Souza da Silva
Lustarllone Bento de Oliveira
Grasiely Santos Veloso
Krain Santos de Melo
Giovanna Masson Conde Lemos Caramaschi
Anna Sarah Silva Brito
Anne Caroline Dias Oliveira
Gisele Cirino Cabral
Ikaro Alves de Andrade
Axell Donelli Leopoldino Lima
Breno Piovezana Rinco
Pedro Henrique Veloso Chaves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222222066>

CAPÍTULO 7..... 61

***Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertn.) HYDROLAT: USE IN RAT SKIN WOUND HEALING AND BLOOD ANALYSIS**

Erna Elisabeth Bach
Andreia Aparecida Oliveira Silva
Edgar Matias Bach Hi
Rommel Alexandre Sauerbronn da Cunha
Nilsa Sumie Yamashita Wadt

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222222067>

CAPÍTULO 8..... 72

AS VANTAGENS DA BIOFORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Dayane de Melo Barros

Danielle Feijó de Moura
Vanessa Maria dos Santos
José Hélio Luna da Silva
Letícia da Silva Pachêco
Zenaide Severina do Monte
Marcelino Alberto Diniz
Amanda Nayane da Silva Ribeiro
Marllyn Marques da Silva
Jefferson Thadeu Arruda Silva
Andreza Roberta de França Leite
Fábio Henrique Portella Corrêa de Oliveira
Talismania da Silva Lira Barbosa
Tamiris Alves Rocha
Cleiton Cavalcanti dos Santos
Clêidiane Clemente de Melo
Hélen Maria Lima da Silva
Silvio Assis de Oliveira Ferreira
André Severino da Silva
Roberta de Albuquerque Bento da Fonte

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.722222068>

CAPÍTULO 9..... 79

A BIODIVERSIDADE MARINHA DOS COSTÕES ROCHOSOS COMO FONTE DE BIOATIVOS COM ATIVIDADE ANTICÂNCER

Giselle Pinto de Faria Lopes
Bianca Fernandes de Mirra
Cassiana Maurer de Carli
Danielle da Silva Fraga
Giovanna da Silva Pressanto
Isabel Virgínia Gomes e Silva
Israel de Oliveira Araújo
Ricardo Coutinho

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.722222069>

CAPÍTULO 10..... 92

AVALIAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTE DA INDÚSTRIA TÊXTIL ATRAVÉS DE *Pleurotus ostreatus* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVOS LÍQUIDOS E NA PRESENÇA DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Renan Nakamura
Mayara Thabela Pessoa Paiva
Suely Mayumi Obara Doi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222220610>

CAPÍTULO 11..... 101

PROPRIEDADES ANTIBACTERIANAS DE SOFOROLIPÍDIOS CONTRA OS PATÓGENOS DA INDÚSTRIA AVÍCOLA

Victória Akemi Itakura Silveira

Christiane Aparecida Urzedo de Queiroz
Tania Regina Kaiser
Briane Gisele Bigotto
Cristiani Baldo
Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222220611>

CAPÍTULO 12..... 111

FUNGOS PATOGÊNICOS EM ANIMAIS VERTEBRADOS

Camila Silva de Lavor
Pedro Henrique Sobreira Bacelar
Igor Ribeiro da Silva
Luana Beatriz da Silva Rocha
Rebecca Oliveira de Carvalho
Isabela Ferreira Leão
Maria Tamires Silva de Sá
Nayra Thaislene Pereira Gomes
Daniela Tábita de Lavor
Iara Alves de Lavor

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222220612>

CAPÍTULO 13..... 122

INFLUENCE OF THE STATE OF OPERATION ON ALCOHOLIC FERMENTATION OF INVERTED SUGARCANE BLACKSTRAP MOLASSES ON HIGH CONCENTRATION OF TOTAL REDUCED SUGARS

Fernando Henrique da Silva
Ramiro Picoli Nippes
Ângela Maria Picolloto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222220613>

CAPÍTULO 14..... 127

CRAFT BEER WITH ROASTED MALT

Ana Claudia Chesca
Flávio Araújo Pousa Paiva
José Roberto Delalibera Finzer

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222220614>

CAPÍTULO 15..... 134

ESTRATÉGIAS NO ESTABELECIMENTO DE ESPÉCIES FLORESTAIS

Lindamir Hernandez Pastorini
Nara Alves Mendes Barella
Caroline Barbeiro
Tatiane Martins da Silva
Taysi Pereira Firmino

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7222220615>

CAPÍTULO 16	146
A NEW SPECIES OF TAPACULO (RHINOCRYPTIDAE: SCYTALOPUS) FROM THE SOUTHERN END OF THE WORLD. NAVARINO ISLAND, CHILE	
Alejandro Correa Rueda	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.72222220616	
CAPÍTULO 17	158
A NEW SPECIES OF SPINUS (AVES: PASSERIFORMES). THE ORIGIN OF NEW SPECIES IN CAPTIVITY	
Alejandro Correa Rueda	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.72222220617	
CAPÍTULO 18	171
CURRÍCULO DO ESTADO DE SÃO PAULO: RELAÇÃO DO TEMA SAÚDE COM O PERFIL DE MORBIMORTALIDADE DE ESCOLARES	
Isadora Neiro Oliveira Luiz Rogério Romero	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.72222220618	
SOBRE A ORGANIZADORA	183
ÍNDICE REMISSIVO	184

CAPÍTULO 1

ANTICORPO MONOCLONAL A GP43 E ANÁLISE DE REATIVIDADE COM ANTÍGENOS DE *Paracoccidioides brasiliensis* E DE *P. lutzii* NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE HUMANA

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 10/05/2022

Franciele Ayumi Semêncio Chiyoda-Rodini

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/7794305507140732>

Tawane Dancini Arduan

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2374286387972536>

Cassia Reika Takabayashi Yamashita

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2697502551053565>

João Paulo Assolini

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3015309224830336>

Adriane Lenhard-Vidal

Centro Universitário Campo Real
Guarapuava - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3529713931981829>

Bianca Dorana de Oliveira Souza

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2433694369223422>

Flávio Hiroshi Itano

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3813318833602894>

Maria Catarina Cavalcanti Fracazzo

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5675442700469429>

Mario Augusto Ono

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2409390685316192>

Eiko Nakagawa Itano

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciências Patológicas
Londrina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0678087604864219>

RESUMO: A paracoccidioidomicose (PCM) é uma doença sistêmica causada pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis* e pela nova espécie, *P. lutzii*, ainda pouco investigado. Objetivou-se obter IgG monoclonal anti-gp43 de *P. brasiliensis* e analisar sua reatividade com os antígenos de *P. brasiliensis* e de *P. lutzii*. Inicialmente foi obtida IgG anti-gp43 (mAbgp43) por expansão de hibridoma produtor de anticorpos monoclonais a gp43 e cromatografia de afinidade (proteína G). A reatividade de mAbgp43 foi analisada por *dot blotting* utilizando antígenos totais de *P. brasiliensis* (B339) e de *P. lutzii* (LDR2), como

também uma amostra de escarro de paciente com PCM. Foi determinado nível de gp43 em amostras de urinas de pacientes com PCM por ensaio imunoenzimático de inibição (inhELISA) utilizando mAbgp43. O *dotblotting* demonstrou reatividade intensa de mAbgp43 com antígenos de *P. brasiliensis*, mas não com os de *P. lutzii*. A amostra de escarro mostrou-se positiva. O inhELISA demonstrou um nível elevado de gp43 em urinas de pacientes com PCM em relação ao controle saudável ($p < 0.05$). Conclui-se que mAbgp43 interage fortemente com os antígenos de *P. brasiliensis* e não com os de *P. lutzii* e que existe potencial de se utilizar mAbgp43 para detecção/quantificação de gp43 em amostras de biológicas (tais como escarros e urinas). Todavia existe a necessidade de estudos adicionais para infecções causadas pelo fungo *P. lutzii*.

PALAVRAS-CHAVE: Antígenos, Imunodiagnóstico, ELISA de inibição, Micose.

MONOCLONAL ANTIBODY TO GP43 AND ANALYSIS OF REACTIVITY WITH ANTIGENS FROM *Paracoccidioides brasiliensis* AND *P. lutzii* IN HUMAN PARACOCIDIOIDOMYCOSIS

ABSTRACT: Paracoccidioidomycosis (PCM) is a systemic disease caused by the fungus *Paracoccidioides brasiliensis* and by the new species, *P. lutzii*, still little investigated. The objective was to obtain anti-gp43 monoclonal IgG from *P. brasiliensis* and analyze its reactivity with *P. brasiliensis* and *P. lutzii* antigens. Initially, IgG anti-gp43 (mAbgp43) was obtained by expanding a hybridoma producing monoclonal antibodies to gp43 and by affinity chromatography (protein G). The reactivity of mAbgp43 was analyzed by dot blotting using total *P. brasiliensis* (B339) and *P. lutzii* (LDR2) antigens, as well as a sputum sample from a patient with PCM. The gp43 level was determined in urine samples from PCM patients by inhibition enzyme-linked immunosorbent assay (inhELISA) by using mAbgp43. Dot blotting showed intense reactivity of mAbgp43 with *P. brasiliensis* antigens, but not with *P. lutzii* antigens. The sputum sample was positive. inhELISA demonstrated an elevated level of gp43 in urines of PCM patients compared to healthy control ($p < 0.05$). It is concluded that mAbgp43 strongly interacts with *P. brasiliensis* antigens and not with those of *P. lutzii* and that there is potential to use mAbgp43 for detection/quantitation of gp43 in biological samples (such as sputum and urine). However, there is a need for additional studies for infections caused by the fungus *P. lutzii*.

KEYWORDS: Antigens, Ammunodiagnosis, Inhibition ELISA, Mycosis.

1 | INTRODUÇÃO

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica causada por microrganismos do gênero *Paracoccidioides*, que atualmente inclui o *P. brasiliensis* e a nova espécie *P. lutzii* (TEIXEIRA et al., 2009). A PCM é classificada em PCM infecção e PCM doença, estapode se apresentarna forma aguda ou subaguda (ou forma juvenil), forma crônica (tipo adulto) ou forma residual (sequelas). A forma crônica pode ser subdividida em PCM unifocal ou multifocal conforme o número de locais das lesões (FRANCO et al., 1987).

A PCM acomete principalmente os pulmões, mas pode afetar diversos órgãos, como os linfonodos, as mucosas, a pele, as glândulas adrenais, o sistema nervoso central, etc

(MENDES, 1994). Devido a essa ampla gama de manifestações clínicas, a confirmação laboratorial é de grande importância no estabelecimento do diagnóstico e acompanhamento. Para isso, tem-se utilizado métodos sorológicos de determinação de níveis de anticorpos à glicoproteína de 43kDa (gp43) de *P. brasiliensis* (CAMARGO, 2008). Na forma aguda ou na forma crônica da doença há também aumento no nível de gp43, sendo este antígeno utilizado como marcador da gravidade da doença (MENDES-GIANNINI et al., 1989).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Para obtenção de anticorpos monoclonais, os hibridomas foram cultivados em RPMI completo a 37°C em estufa de CO₂. Para a obtenção de IgG, a amostra de sobrenadante foi passada em coluna de Sepharose-Proteína G e a IgG obtida considerada mAbgp43.

Foram utilizadas amostras de urinas provenientes do banco do Laboratório de Imunologia Aplicada, CCB, UEL, oriundas de pacientes com PCM atendidos no HU/HC da Universidade Estadual de Londrina e de doadores saudáveis, ambos os grupos participantes do projeto de extensão (PROEX/UEL 01785).

Os antígenos foram obtidos dos fungos *P. brasiliensis* B339 (S1) e *P. lutzii* = isolado LDR2. Os antígenos totais foram obtidos de cada espécie fúngica utilizando a técnica descrita por Camargo et al (1991). O extrato total (macerado) foi obtido por maceração de massa fúngica de cada espécie (suspensa em PBS) utilizando gral e nitrogênio líquido (3x).

Para a realização do *dotblotting*, uma alíquota de 3 µl de antígeno (macerado e escarro) foi pipetado em membrana de nitrocelulose e incubada com mAbgp43 (100µg/ml) por 2 h a 37°C. Em seguida, a membrana foi tratada com IgG anti-mouse conjugado com peroxidase. Após lavagens, a reação foi revelada com uma solução TMB.

ELISA de inibição foi realizada como descrito por Marques da Silva et al (2003).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os anticorpos monoclonais anti-gp43 (mAbgp43) produzidos foram avaliados por *dotblotting*, sendo positivo para mAbgp43 com CFA de *P. brasiliensis* B339 (S1). No entanto *P. lutzii* (LDR2) não demonstrou reatividade ou com reatividade extremamente baixa (Figura 1). Este resultado possivelmente se deve a maior especificidade de mAbgp43 para *P. brasiliensis* S1 e também pode ser devido à ausência de gp43 ou mesmo menor produção pelo fungo *P. lutzii*, isolado LDR2.

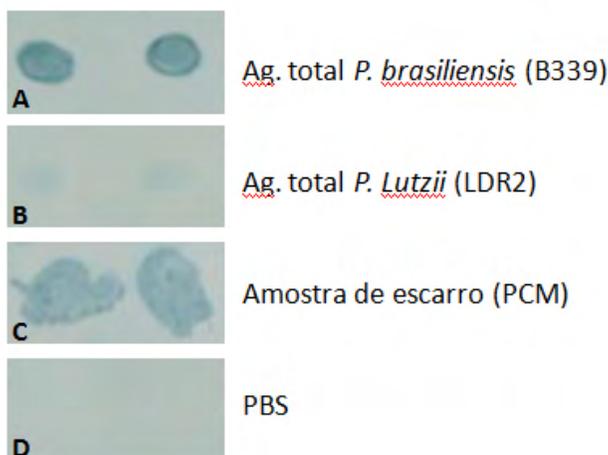


Figura 1. Resultado de *dot blotting* de amostras de antígenos totais provenientes dos fungos *P. brasiliensis* S1 (B339), *P. lutzii* (LDR2) e de amostra de escarro de paciente com PCM, utilizando mAbgp43. Controle negativo (PBS), em duplicata.

Os métodos de determinação quantitativa de antígenos de *P. brasiliensis* têm sido introduzidos para fins de diagnóstico e tratamento da PCM (GOMEZ et al., 1997; SALINA et al., 1998; MARQUES DA SILVA et al., 2004).

Foi realizada análise quantitativa de gp43 em urinas de pacientes com PCM por ELISA de inibição. Fez-se a curva padrão plotada da leitura da densidade óptica (optical density – O.D.) a 492nm versus a concentração de antígenos gp43, obtendo-se $R^2=0,9989$ (Figura 2A). As amostras de urina de pacientes com PCM demonstraram um nível significativamente maior que os de doadores saudáveis (Figura 2B).

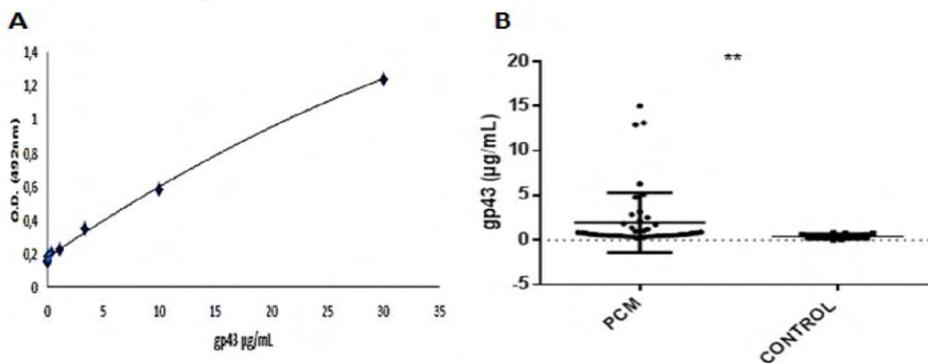


Figura 2. ELISA de inibição para a detecção de gp43 de *P. brasiliensis* na urina. 1A. A curva padrão plotada da O.D. vs. concentração de antígenos gp43 ($R^2=0,9989$) usada para determinar a concentração de gp43 em amostras de urina do paciente. 2B. PCM = pacientes com suspeita e com PCM vs. CONTROL = controle negativo ($p<0,05$).

É importante a quantificação de antígenos, sendo que a determinação somente de anticorpos pode resultar em falso negativo em casos de pacientes com imunossupressão, mas por outro lado um contato prévio com o fungo por um hospedeiro saudável também pode resultar em reação positiva.

4 | CONCLUSÃO

Conclui-se que mAbgp43 tem interação forte com os antígenos de *P. brasiliensis*, mas não com antígenos de *P. lutzii*, e que se pode utilizar mAbgp43 para a detecção de gp43 em amostras de escarros ou de quantificação de gp43 em amostras de urinas de pacientes com PCM. Todavia, os resultados sugerem estudos adicionais para infecções causadas pelo fungo *P. lutzii*.

REFERÊNCIAS

CAMARGO, Z.P. et al. The use of cell-free antigens of *Paracoccidioides brasiliensis* in serological tests. **Journal Medical Veterinary Mycology**, v. 29, n. 1, p. 31-8, 1991.

CAMARGO Z. P. Serology of Paracoccidioidomycosis. **MycopathologiaJournal**,v. 165, p. 289–302, 2008.

FRANCO, M. et al. Paracoccidioidomycosis: a recently proposed classification of its clinical forms. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**,v. 20, n. 2, p. 129–132,1987.

GÓMEZ, B. L. et al. Use of monoclonal antibodies in diagnosis of paracoccidioidomycosis: new strategies for detection of circulating antigens. **Journal of Clinical Microbiology**,v. 35, n. 12, p. 3278-3283, 1997.

MARQUES DA SILVA, S. H. et al. Detection of circulating gp43 antigen in serum, cerebrospinal fluid, and bronchoalveolar lavage fluid of patients with paracoccidioidomycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 3675 – 3680, 2003.

MARQUES DA SILVA, S. H. et al. Monitoring gp43 Antigenemia in Paracoccidioidomycosis Patients during Therapy. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 2419–2424, 2004.

MENDES, R. P. The gamut of clinical manifestations. In: FRANCO, M.; SILVA - LACAZ, C.; RESTREPO-MORENO, A. **Paracoccidioidomycosis**. CRC Press, p.233-258, 1994.

MENDES-GIANINNI, M. S. J. et al. Detection of the 43,000-molecular-weight glycoprotein in sera of patients with paracoccidioidomycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.27, n.12, p.2842-2845. 1989.

SALINA, M. A. et al. Detection of circulating *Paracoccidioides brasiliensis* antigen in urine of paracoccidioidomycosis patients before and during treatment. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 1723-1728, 1998.

TEIXEIRA, M. M. et al. Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the Paracoccidioides genus. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 52, n. 2, p 273-283,2009.

ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTÍGENOS PLAQUETÁRIOS HUMANOS, HPA-2, -3, E A DOENÇA PERIODONTAL

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 10/05/2022

Aléia Harumi Uchibaba Yamanaka

Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-graduação em Biociências e Fisiopatologia, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina
Maringá - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6466977301903184>

Josiane Bazzo de Alencar

Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-graduação em Biociências e Fisiopatologia, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina
Maringá - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3666400771798433>

Cristiane Maria Colli

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Básicas e da Saúde
Maringá - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3420923047181628>

Cléverson O. Silva

Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-graduação em Odontologia Integrada, Departamento de Odontologia
Maringá - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5560943662421894>

Ana Maria Sell

Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-graduação em Biociências e Fisiopatologia, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina
Maringá - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/4645023765493660>

RESUMO: A doença periodontal (DP) é uma doença crônica, inflamatória, que pode resultar na destruição do tecido conjuntivo gengival, do ligamento periodontal e do tecido ósseo. Os Antígenos Plaquetários Humanos (HPAs) se localizam nas glicoproteínas de membrana de plaquetas e alterações em sua estrutura molecular e em suas funções podem estar relacionadas com o desenvolvimento de doenças; porém, é incerto o seu papel na patogênese da DP. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência dos polimorfismos de HPA-2 (rs6065) e HPA-3 (rs5911) na patogênese da DP. Para isso, foi conduzido um estudo caso-controle com 100 pacientes com DP e 100 controles saudáveis. As genotipagens de HPA-2 e -3 foram realizadas por PCR-SSP. A análise da distribuição das frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas foi realizada pelo programa SNPStats e a possível associação por regressão logística ou pelo teste do qui-quadrado. O *Odds Ratio* (OR) foi analisado com intervalo de confiança de 95% (IC = 95%). Valores de $P \leq 0,05$ foram considerados significados. Os indivíduos deste estudo estavam pareados para sexo e idade ($P > 0,05$), com média de idade para os pacientes e controles de $48,13 \pm 8,84$ e $46,66 \pm 10,21$ anos, respectivamente. As distribuições das frequências dos genótipos investigados estavam de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P > 0,05$). O haplótipo HPA-2b/HPA-3a foi maior nos pacientes do que nos controles e foi associado à suscetibilidade ao desenvolvimento da DP (OR = 4,06, IC 95%: 1,34–12,72, $P = 0,015$). As distribuições das frequências alélicas e genotípicas para os SNPs de HPA-2 e -3 não diferiram entre casos e

controles e não mostraram qualquer associação com o desenvolvimento da DP ($P > 0,05$). Portanto, o haplótipo formado pelos polimorfismos de HPA-2 e HPA-3 foi associado ao risco para o desenvolvimento da DP.

PALAVRAS-CHAVE: Antígenos de Plaquetas Humanas; Periodontite; Estudos de Associação Genética.

ASSOCIATION OF HUMAN PLATELET ANTIGENS, HPA-2, -3, AND PERIODONTITIS

ABSTRACT: Periodontal disease (PD) is a chronic and inflammatory disease that results in the destruction of connective tissue of gingiva, periodontal ligament and bone tissue. Human Platelet Antigens (HPAs) are platelet membrane glycoproteins and changes in their molecular structure and functions may be related to the development of diseases; however, their role in the pathogenesis of PD is unclear. Thus, the aim of this study was to evaluate the influence of HPA-2 (rs6065) and HPA-3 (rs5911) polymorphisms in the pathogenesis of PD. For this, a case-control study was performed with 100 patients with PD and 100 healthy controls. HPA-2, -3 genotyping was performed using the PCR-SSP methodology. The allele, genotype and haplotype frequencies were performed using the SNPStats software and the possible association was analyzed using logistic regression or the chi-square test. The Odds Ratio (OR) was analyzed with confidence interval of 95% (CI = 95%). P values ≤ 0.05 were considered significant. Patients and controls were matched by gender and age ($P > 0.05$). The age of patients and controls were 48.13 ± 8.84 and 46.66 ± 10.21 years old, respectively. The genotype frequency distributions were in accordance with the Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). The HPA-2b/HPA-3a haplotype was higher in patients than controls and was associated with susceptibility to PD development (OR = 4.06, 95% CI: 1.34–12.72, $P = 0.015$). The HPA-2 and -3 allele and genotype frequency distributions did not differ between cases and controls and were not associated with the development of PD ($P > 0.05$). Therefore, the HPA-2 and HPA-3 haplotype was associated with the risk for the development of PD.

KEYWORDS: Antigens, Human Platelet; Periodontitis; Genetic Association Studies.

1 | INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma doença polimicrobiana causada por estímulos imunopatogênicos de bactérias gram-negativas que se acumulam no sulco gengival, principalmente *Porphyromonas gingivalis* (SOCRANSKY, S, S.; HAFFAJEE, 2005). O dano aos tecidos é decorrente do intenso processo inflamatório frente à infecção, resultando na formação de bolsas periodontais que se estendem ao tecido ósseo de suporte, causando a destruição do tecido conjuntivo gengival, do ligamento periodontal e do tecido ósseo alveolar (KINANE; HART, 2003). Falhas em resolver a inflamação local leva à persistência da doença e agravamento das lesões (PAGE; KORNMAN, 1997). Na tentativa de limitar a inflamação, os neutrófilos são uma das primeiras células recrutadas, porém, a liberação de substâncias contidas em seu conteúdo citoplasmático pode levar a efeito contrário, com quadros de hiperatividade (SELL et al., 2017).

As plaquetas são fragmentos celulares, anucleadas, oriundas da cisão citoplasmática dos megacariócitos. Elas são importantes nos processos de coagulação sanguínea (GEAR; CAMERINI, 2003), na regeneração tecidual (KUMAR et al., 2014; WONG et al., 2013) e na inflamação (GARRAUD; COGNASSE, 2015). As plaquetas possuem em seus grânulos mediadores pré-formados ou sintetizados recentemente. Dentre estes, as defensinas e tromboctidinas matam diretamente as bactérias presentes na corrente sanguínea. A interleucina 1 e as quimiocinas quimiotáticas a leucócitos, principalmente neutrófilos e monócitos, contribuem para as funções antimicrobianas e a indução e manutenção do estado inflamatório. Na membrana de plaquetas há moléculas de reconhecimento de padrões, como os Receptores do Tipo Toll, (TLR)-2, -4, -9 (MANTOVANI; GARLANDA, 2013): o TLR-4 reconhece o lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias gram-negativas e, assim, tem papel importante no processo inflamatório e no metabolismo ósseo na DP (ZACARIAS et al., 2019).

As plaquetas interagem com várias células do sistema imune inato e adaptativo (GROZOVSKY; HOFFMEISTER; FALET, 2010; LI et al., 2012; MANTOVANI; GARLANDA, 2013; WEN; CHEN, 2018), promovendo a ativação de neutrófilos, macrófagos e monócitos (HOTTZ et al., 2014; MANTOVANI; GARLANDA, 2013; WONG et al., 2013), linfócitos T e B (BÜCHNER et al., 2003; COGNASSE; GARRAUD, 2005; ELZEY et al., 2005) e células dendríticas (HILF et al., 2002; NOMURA et al., 2012). Estudos anteriores mostraram um aumento da contagem de plaquetas em pacientes com DP quando comparada com o grupo sem a doença (LOURBAKOS et al., 2001).

Dentre as glicoproteínas expressas na superfície das plaquetas estão os antígenos plaquetários humanos (HPAs). Os HPAs compõem uma família com 35 antígenos de membrana (WEN; CHEN, 2018) que são codificados por seis cromossomos e são distribuídos em seis complexos glicoproteicos. Apesar da grande diversidade, apenas os HPA-1, -2, -3, -4, -5, e -15 parecem possuir importância clínica ou reatividade sorológica confirmada (CURTIS; MCFARLAND, 2014; METCALFE et al., 2003). O HPA-2 se encontra no complexo GPIb-IX-V, exclusivo de plaquetas, conhecido como receptor de von Willebrand, relacionado com a agregação plaquetária e com a formação de trombos (BRYCKAERT et al., 2015). O HPA-3 se encontra no complexo GPIIb/GPIIIa, também conhecido como receptor de fibrinogênio. Este é abundante na superfície das células, logo o mais imunogênico, além de estar envolvido no contato célula-célula e célula-alvo durante a hemostasia e agregação plaquetária. O papel de HPA-2 e -3 na patogênese da DP ainda não foi explorado.

Os polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) são alterações nas sequências de DNA em único par de base. As mudanças que ocorrem em regiões não codificantes de gene alteram a quantidade da proteína codificada e as que ocorrem em regiões codificantes podem modificar a conformação da estrutura terciária e a funcionalidade da proteína (CHORLEY et al., 2008). Os SNPs de HPA-2 e -3 ocorrem em regiões codificantes. O SNP

de HPA-2, codificado no cromossomo 17 do gene *GP1BA*, é caracterizado pela troca de uma citosina (C) por guanina (G) na posição 482 do gene, resultando na troca de treonina (Thr) por arginina (Arg) na cadeia GPI α do complexo (482 C>G, Thr161Arg, rs6065) (BIANCHI et al., 2012). HPA-3 é codificado pelo gene *ITGA2B*, localizado no cromossomo 17, e o seu polimorfismo se caracteriza pela substituição de uma timina (T) por uma guanina (G) na posição 2621 do gene que resulta na troca da isoleucina (Ile) para serina (Ser) na cadeia pesada de GPIIb (2621 T>G, Ile843Ser, rs5911) (BIANCHI et al., 2012; WEN; CHEN, 2018).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência dos polimorfismos de HPA-2 (rs6065) e HPA-3 (rs5911) na patogênese da doença periodontal em indivíduos residentes no norte e noroeste do Paraná.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo caso-controle foram avaliados 200 indivíduos (caso/controle: 100/100) residentes no norte e noroeste do estado do Paraná. Os pacientes e os controles foram avaliados e selecionados por um profissional qualificado nas Clínicas Odontológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e do Centro Universitário Ingá, entre 2012 e 2018. Todos os participantes da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (UEM - COPEP N°. 719/2011, 12/02/2011 e CAAE/2016 N° 61544916.4.000.0104).

Os participantes foram avaliados quanto à profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (BOP) e perda de inserção clínica (CAL) nos quatro sítios de cada dente (mesial, vestibular, distal e lingual) e, posteriormente, classificados de acordo com *The International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions* de 1999 (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1999). Todos os indivíduos selecionados tinham mais de 30 anos e pelos menos 20 dentes na cavidade oral. Pacientes com DP deveriam apresentar pelo menos cinco sítios em dentes diferentes com PS \geq 5 mm, CAL \geq 3 mm e mais de 25% BOP. Os pacientes incluídos se enquadravam nos estágios II e III (com base na gravidade, complexidade, extensão e distribuição) e grau B (taxa de progressão moderada), seguindo a mais recente classificação das condições e doenças periodontais de 2017 (TONETTI; GREENWELL; KORNMAN, 2018). O grupo controle foi composto apenas por indivíduos periodontalmente saudáveis, com PS < 4 mm e BOP menor que 25%.

Indivíduos com diabetes mellitus, infecções agudas, doenças de comprometimento ósseo, uso de antibióticos ou anti-inflamatórios, gengivite generalizada ou periodontite estágios I e IV e grau C e que realizaram tratamento periodontal nos últimos 6 meses não foram incluídos nestes estudos.

A extração de DNA foi realizada pela técnica de *salting-out* modificada (JOHN et

al., 1991) a partir de 10 mL de sangue periférico coletado em tubo com EDTA após a concentração de leucócitos em etapa de centrifugação. A concentração e a qualidade do DNA foram avaliadas por densidade ótica no equipamento Nanodrop 2000® (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, USA). As genotipagens foram realizadas pela técnica de PCR-SSP (*Polymerase Chain Reaction - Sequence-Specific Primers*) em termociclador (System 9700 Applied Biosystems®, Foster City, CA, USA). Como controle interno de reação, utilizou-se o gene do hormônio do crescimento (HGH), que amplifica uma região de aproximadamente 434 pares de bases (pb). As sequências do *primer forward* de HPA-2 foram: 5'-CCCCAGGGCTCCTGAC / T - 3' e *reverse*: - 5' GCAGCCAGCGACGAAAATA -3', que amplificam um fragmento de aproximadamente 244 pb. O volume total de reação 12,5 μ L, contendo 50 ng de DNA, tampão 1X, 1,2 mM de $MgCl_2$, 0,2 mM de cada dNTPs, 1,2 ng/ μ L de *primer forward* e *reverse* e 0,08 de mM de HGH, 0,65 U de *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen Life Technologies, Grand Island, NY, USA). As condições de ciclagem foram 95°C - 5 min, 32 ciclos à 95°C - 40s, 63°C - 50s, 72°C - 40s e a extensão final de 72°C - 10 minutos. Para HPA-3, a sequência *forward*: 5'-GGCCCTGGGACTGTGAATG -3' e *reverse*: 5'-GGGGGAGGGGCTGGGGA / C - 3', que amplificam um fragmento de aproximadamente 293 pb. As concentrações dos reagentes e as condições de ciclagem foram iguais as usadas na reação de HPA-2, exceto 1,6 ng/ μ L de *primer forward* e *reverse* e 0,064 mM de HGH; a temperatura de anelamento foi de 62 °C. A visualização de bandas ocorreu após a eletroforese em gel de agarose contendo intercalante de DNA SYBR™ Safe (Invitrogen Life Technologies, Grand Island, NY). O padrão de bandas gerado foi comparado ao marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen Life Technologies, Grand Island, NY).

O pareamento para sexo e idade foi realizado pelo programa OpenEpi version 3.01 (https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm) usando o teste t de Student. O *software* SNPStats (<https://www.snptest.net/start.htm>) (SOLEÉ et al., 2006) foi utilizado para análise descritiva, para determinar o equilíbrio de Hardy-Weinberg e para os testes de associação entre os SNPs com regressão logística multivariada. O teste qui-quadrado com correção de Yates ou o teste exato de Fisher foi realizado pelo *software* OpenEpi version 3.01. Os testes de associação foram realizados nos modelos de herança codominante, dominante, recessivo, superdominante e log-aditivo. O *Odds Ratio* (OR) foi analisado apenas quando o valor de *P* foi significando, com intervalo de confiança de 95% (IC = 95%), sendo OR > 1, indicativo da suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças. Para todos os testes, considerou-se o valor de $P \leq 0,05$ com significância estatística.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até onde vai nosso conhecimento esse é o primeiro trabalho que avaliou a influência dos antígenos plaquetários humanos, HPA-2 e -3, com a DP.

A distribuição das frequências genotípicas para os polimorfismos de HPA-2 e -3

se encontrava dentro do esperado para o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P > 0,05$). O sexo feminino correspondeu a 65% e 58% em controles e pacientes, respectivamente. A média de idade foi $48,13 \pm 8,73$ anos no grupo de pacientes e $46,66 \pm 9,79$ anos em controles. Pacientes e controles foram pareados para sexo e idade, $P = 0,38$ e $P = 0,26$, respectivamente. Cinquenta e dois pacientes foram classificados de acordo com a extensão (50% generalizada e localizada) e severidade (34,6% leve; 32,7% moderada, 32,7% severa) da DP. As características da população estão reunidas na tabela 1.

	Controles N = 100 (%)	Pacientes N = 100 (%)	P-valor
Sexo			
Feminino	65	58	0,38
Masculino	35	42	
Idade (anos)			
Média \pm DP	$46,66 \pm 9,79$	$48,13 \pm 8,73$	0,26
Extensão		n (%)	
Generalizada		26 (50)	
Localizada		26 (50)	
Severidade		n (%)	
Leve		18 (34,6)	
Moderado		17 (32,7)	
Severo		18 (32,7)	

Tabela 1: Características das populações de controles e pacientes com doença periodontal.

N= Número total; DP = Desvio Padrão; n = número de indivíduos.

Diferente de outros polimorfismos, no qual a nomenclatura dos alelos é representada pelas bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina e timina) de acordo com a posição específica no genoma, a nomenclatura para HPAs é representada pelas letras “a” e “b” e foi elaborada pelas sociedades *International Society of Blood Transfusion* e *International Society of Thrombosis and Haemostasis*. Em linhas gerais, o alelo de maior frequência (selvagem) é representado pela letra “a”, enquanto o alelo de menor frequência é representado por “b”. Para os HPAs que ainda não foram observados aloanticorpos, ou seja, que não são capazes de ativar o sistema imune, há a designação “w” após o nome do antígeno e, normalmente, esses antígenos são encontrados em baixa frequência (METCALFE et al., 2003).

Em relação à distribuição das frequências alélicas de HPA-2 e -3 não houve diferenças significativas quando pacientes e controles foram comparados. De acordo com o esperado, o alelo HPA-2a foi o mais frequente em pacientes e controles, 84% e 88%, respectivamente, assim como o alelo HPA-3a, sendo 66% em pacientes e 60% em controles. Os dados estão

apresentados na tabela 2. As distribuições das frequências alélicas de HPA-2 e -3 foram semelhantes àsquelas observadas por Silvestre e colaboradores (2017) em uma população brasileira considerada de origem predominantemente caucasiana (SILVESTRE et al., 2017). As frequências globais (pacientes mais controles) dos alelos de nosso estudo vs Silvestre foram, respectivamente, iguais a 86% vs 84,4% para HPA-2a e 14% vs 15,6% para HPA-2b; 63% vs 65,9% para HPA-3a e 37% vs 34,1% para HPA-3b. Esses dados associados ao equilíbrio de Hardy-Weinberg corroboram com a qualidade dos resultados e da técnica empregada (VIMALESWARAN, 2020).

Em relação à distribuição das frequências genóticas de HPA-2 e -3, não houve diferenças estatísticas para os diferentes modelos de herança analisados. O genótipo HPA-2aa foi o mais frequente em pacientes e controles, 70% e 78%, respectivamente. A variante heterozigota, HPA-3ab, foi mais frequente em pacientes e controles, 45% e 48%, respectivamente. A estratificação entre sexo foi realizada e não houve diferenças significativas. Os dados estão reunidos na tabela 2.

Gene / Polimorfismo	Alelos / Genótipos	Controles	Pacientes	P-valor
		N = 100 (%)	N = 100 (%)	
GP1BA / HPA-2 C>G Thr161Arg	a	88	84	0,54
	b	12	16	
	aa	78	70	0,32
	ab	21	29	
	bb	1	1	
ITGA2B / HPA-3 A>C Ile843Ser	a	60	66	0,46
	b	40	34	
	aa	36	44	0,44
	ab	48	45	
	bb	16	11	

Tabela 2: Distribuição das frequências alélicas e genóticas de HPA-2 (rs6065) e HPA-3 (rs5011) em pacientes com doença periodontal e controles.

N = Número total; Thr = treonina. Arg = arginina; Ile = isoleucina; Ser = serina.

Ao analisar a distribuição dos haplótipos, nossos resultados sugerem um aumento de três vezes na possibilidade de desenvolvimento da DP em indivíduos portadores de HPA-2b/HPA-3a (OR = 4,06; IC 95%= 1,34–12,72; $P = 0,015$).

As funções das integrinas que formam o complexo GPIIb/GPIIIa, relacionado com HPA-3, incluem a agregação plaquetária durante focos hemorrágicos e, desta forma, facilitam a adesão das bactérias (BENNETT; BERGER; BILLINGS, 2009), uma vez que há presença de receptores para fibrinogênio e fibronectina na membrana de bactérias, sendo

este um passo crítico para o estabelecimento das infecções (JOSEFSSON et al., 1998). Estudos anteriores mostraram que a *P. gingivalis*, a principal causadora da DP, é capaz de induzir a ativação e agregação plaquetária por aumentar os íons de cálcio intracelular e estimular a agregação com eficácia semelhante a trombina (LOURBAKOS et al., 2001). *P. gingivalis* também secretam proteases da família das *gingipains* que são essenciais à sua virulência, pela degradação de macrófagos e dos componentes do sistema complemento, e pela atividade pro-inflamatória relacionada ao aumento da permeabilidade vascular e pela ativação do sistema de coagulação sanguínea (TAKAHISA, 2003).

Wong e colaboradores (WONG et al., 2013) demonstraram que a detecção e captura de bactérias, como *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* por células de Kupffer é desencadeada pela adesão das plaquetas ao fator de von Willebrand presente na membrana destes macrófagos. O processo de fagocitose desempenhado pelas células de Kupffer é mediada pela GPIIb e a deficiência dessa glicoproteína ou o bloqueio do fator de von Willebrand impede a funcionalidade das plaquetas na contenção de bactérias.

Polimorfismos em HPAs foram associados ao desenvolvimento de doenças cardíacas (HERAK et al., 2016) e de doenças infecciosas (LIU et al., 2009; ZHOU et al., 2017). A febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR) foi relacionada à ligação do hantavírus ao receptor de fibrinogênio (GPIIb) (LIU et al., 2009; WEN; CHEN, 2018) a frequência de HPA-3b foi menor no grupo dos controles que em pacientes com FHSR para as formas mais brandas e graves da doença (LIU et al., 2009). Em indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C (HCV), ZHOU e colaboradores (ZHOU et al., 2017) observaram risco aumentado da infecção para portadores de HPA-2ab/bb e HPA-2b. De forma inversa, o HPA-1b pode estar associado a menores cargas virais para HCV, sendo, portanto, vantajoso para o hospedeiro (GROTTO et al., 2016).

Este estudo tem suas limitações, uma vez que não foram explorados fatores externos associados ao desenvolvimento da DP, como o tabagismo. Porém, destacamos os pontos positivos como o eficiente método de seleção clínica dos participantes, critérios de inclusão e não inclusão das amostras, os ajustes para as covariantes sexo e idade bem como pareamento adequado.

4 | CONCLUSÃO

O haplótipo HPA-2b/HPA-3a, formado pelos polimorfismos de HPA-2 (482 C>G, Thr161Arg, rs6065) e HPA-3 (2621 T>G, Ile843Ser, rs5911) foi associado ao risco para o desenvolvimento da doença periodontal em pacientes da região norte e noroeste do Paraná.

REFERÊNCIAS

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. **The Pathogenesis of Periodontal Diseases.**

Journal of Periodontology, United States, v. 70, p. 457–470, 1999.

BENNETT, J. S.; BERGER, B. W.; BILLINGS, P. C. **The structure and function of platelet integrins.** Journal of Thrombosis and Haemostasis, United Kingdom, v. 7, n. SUPPL. 1, p. 200–205, 2009.

BIANCHI, J.V.S.; DE AZEVEDO, M.R.A.; JENS, E.; NUKUI, Y.; CHAMONE, D.A.F. **Frequência dos antígenos plaquetários humanos (HPA) em pacientes trombocitopênicos e predisposição à incompatibilidade transfusional.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Rio de Janeiro, v. 34, n. 3, p. 202–205, 2012.

BRYCKAERT, M.; ROSA, J.P.; DENIS, C.V.; LENTING, P.J. **Of von Willebrand factor and platelets.** Cellular and Molecular Life Sciences, Switzerland, v. 72, n. 2, p. 307–326, 2015.

BÜCHNER, K.; HENN, V.; GRÄFE, M.; DE BOER, O.J.; BECKER, A.E.; KROCZEK, R.A. **CD40 ligand is selectively expressed on CD4+ T cells and platelets: implications for CD40-CD40L signalling in atherosclerosis.** Journal of Pathology, United Kingdom, v. 201, n. 2, p. 288–295, 2003.

CHORLEY, B.N.; WANG, X.; CAMPBELL, M.R.; PITTAMN, G.S.; NOUREDDINE, M.A.; BELL, D.A. **Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: Current and developing technologies.** Mutation Research, Netherlands, v. 659, n. 1–2, p. 147–157, 2008.

COGNASSE, F.; GARRAUD, O. **Human platelets exhibit infectious-pathogen-binding ligands and participate to inflammation (and more?).** Experimental Hematology, United States, v. 33, n. 10, p. 1081–1082, 2005.

CURTIS, B. R.; MCFARLAND, J. G. **Human platelet antigens - 2013.** Vox Sanguinis, United Kingdom, v. 106, n. 2, p. 93–102, 2014.

ELZEY, B.D.; GRANT, J.F.; SINN, H.W.; BERNHARD, N.; WALDSCHMIDT, T.J.; RATLIFF, T.L. **Cooperation between platelet-derived CD154 and CD4+ T cells for enhanced germinal center formation.** Journal of Leukocyte Biology, United States, v. 78, n. 1, p. 80–84, 2005.

GARRAUD, O.; COGNASSE, F. **Are platelets cells? And if yes, are they immune cells?** Frontiers in Immunology, Switzerland, v. 6, n. 70, p. 1–8, 2015.

GEAR, A.R.L.; CAMERINI, D. **Platelet Chemokines and Chemokine receptors: Linking Hemostasis, Inflammation, and Host Defense.** Microcirculation, United States, v. 10, n. 3–4, p. 335–350, 2003.

GROTTO, R.M.T.; CANTÃO, N.M.; PADOVANI, J.L.; DE SOUZA, L.R.; SILVA, G.F.; FERRASI, A.C.; PARDINI, M.I.M.C. **Human platelets antigens influence the viral load of platelets after the interaction of the platelets with HCV and HIV in vitro.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, v. 49, n. 4, p. 491–493, 2016.

GROZOVSKY, R.; HOFFMEISTER, K.M.; FALET, H. **Novel clearance mechanisms of platelets.** Current Opinion in Hematology, United States, v. 17, n. 6, p. 585–589, 2010.

HERAK, D.C.; KRLEZA, L.J.; ANTOLIC, R.M.; HORVAT, I.; DJURANOVIC, V.; TOPIC, Z.R.; ZADRO, R. **Association of Polymorphisms in Coagulation Factor Genes and Enzymes of Homocysteine**

Metabolism with Arterial Ischemic Stroke in Children. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, United States, v. 23, n. 8, p. 1042–1051, 2016.

HILF, N.; SINGH-JASUJA, H.; SCHWARZMAIER, P.; GOUTTEFANGEAS, C.; RAMMENSEE, H.G.; SCHILD, H. **Human platelets express heat shock protein receptors and regulate dendritic cell maturation.** Blood, United States, v. 99, n. 10, p. 3676–3682, 2002.

HOTTZ, E.D. et al. **Platelet Activation and Apoptosis Modulate Monocyte Inflammatory Responses in Dengue.** The Journal of Immunology, United States, v. 193, n. 4, p. 1864–1872, 2014.

JOHN, S.W.M.; WEITZNER, G.; ROZEN, R.; SCRIVER, C.R. **A rapid Procedure for Extracting Genomic DNA from Leukocytes.** Nucleic Acids Research, United Kingdom, v. 19, n. 2, p. 408, 1991.

JOSEFSSON, E.; MCCREA, K.W.; EIDHIN, D.N.; O'CONNELL, D.; COX, J.; HÖÖK, M.; FOSTER, T.J. **Three new members of the serine-aspartate repeat protein multigene family of Staphylococcus aureus.** Microbiology, United Kingdom, v. 144, n. 12, p. 3387–3395, 1998.

KINANE, D.F.; HART, T.C. **Genes and Gene Polymorphisms Associated with Periodontal Disease.** Critical Reviews in Oral Biology and Medicine, United States, v. 14, n. 6, p. 430–449, 2003.

KUMAR, B.P.; KHAITAN, T.; RAMASWAMY, P.; SREENIVASULU, P.; UDAY, G.; VELUGUBANTLA, R.G. **Association of chronic periodontitis with white blood cell and platelet count - A Case Control Study.** Journal of Clinical and Experimental Dentistry, Spain, v. 6, n. 3, p. 214–217, 2014.

LI, C.; LI, J. LI, Y.; LANG, S.; YOUNGBARE, I.; ZHU, G.; CHEN, P.; NI, H. **Crosstalk between Platelets and the Immune System: Old systems with New Discoveries.** Advances in Hematology, Egypt, v. 212, p. 1–14, 2012.

LIU, Z.; GAO, M.; HAN, Q.; LOU, S.; FANG, J. **Platelet glycoprotein IIb/IIIa (HPA-1 and HPA-3) polymorphisms in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome.** Human Immunology, United States, v. 70, n. 6, p. 452–456, 2009.

LOURBAKOS, A.; YUAN, Y.P.; JENKINS, A.L.; TRAVIS, J.; ANDRADE-GORDON, P.; SANTULLI, R.; POTEPA, J.; PIKE, R.N. **Activation of protease-activated receptors by gingipains from Porphyromonas gingivalis leads to platelet aggregation: A new trait in microbial pathogenicity.** Blood, United States, v. 97, n. 12, p. 3790–3797, 2001.

MANTOVANI, A.; GARLANDA, C. **Platelet-macrophage partnership in innate immunity and inflammation.** Nature Immunology, United Kingdom, v. 14, n. 8, p. 768–770, 2013.

METCALFE, P. et al. **Nomenclature of human platelet antigens.** Vox Sanguinis, United Kingdom, v. 85, n. 3, p. 240–245, 2003.

NOMURA, S.; FUJITA, S.; NAKANISHI, T.; YOKOI, T.; SHIMAMOTO, K.; MIYAMOTO, R.; ITO, T. **Platelet-derived microparticles cause CD154-dependent activation of dendritic cells.** Platelets, United Kingdom, v. 23, n. 1, p. 81–82, 2012.

PAGE, R.C.; KORNMAN, K.S. **The pathogenesis of human periodontitis: an introduction.** Periodontology 2000, Denmark, v. 14, p. 9–11, 1997.

SELL, A.M.; DE ALENCAR, J.B.; VISENTAINER, J.E.L.; E SILVA, C.O. **Immunopathogenesis of Chronic Periodontitis**. In: ARJUNAN, Pachiappan (org.). *Periodontitis - A Useful Reference*. London: Intech Open, 2017. p. 143–167.

SILVESTRE, A.P.A.; ZACARIAS, J.M.V.; GUELSIN, G.A.S.; VISENTAINER, J.E.L.; SELL, A.M. **Genetic polymorphisms of human platelet antigens in Euro-African and Japanese descendants from Parana, Southern Brazil**. *Platelets*, United Kingdom, v. 28, n. 6, p. 607–610, 2017.

SOCRANSKY, S, S.; HAFFAJEE, A. D. **Microbiologia da Doença Periodontal**. In: LINDHE, J. (org.). *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Geral*. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 2005. p. 105–138.

SOLÉ, X.; GUINÓ, E.; VALLS, J.; INIESTA, R.; MORENO, V. **SNPStats: A web tool for the analysis of association studies**. *Bioinformatics*, United Kingdom, v. 22, n. 15, p. 1928–1929, 2006.

TAKAHISA, I. **The Role of Gingipains in the Pathogenesis of Periodontal Disease**. *Journal of Periodontology*, United States, v. 74, n. 1, p. 111-118, 2003

TONETTI, M.S.; GREENWELL, H.; KORNMAN, K.S. **Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition**. *Journal of Clinical Periodontology*, Denmark, v. 45, n. Suppl 20, p. S149–S161, 2018.

VIMALESWARAN, K.S. **Comment: “Evaluation of the Association of Omentin 1 rs2274907 A>T and rs2274908 G>A Gene Polymorphisms with Coronary Artery Disease in Indian Population: A Case Control Study”**. *Journal of Personalized Medicine*, Switzerland, v. 10, n. 4, p. 1–2, 2020.

WEN, Y.; CHEN, D. **Human Platelet Antigens in Disease**. *Clinica Chimica Acta*, Netherlands, v. 484, p. 87–90, 2018.

WONG, C.H.Y.; JENNE, C.N.; PETRI, B.; CHROBOK, N.L.; KUBES, P. **Nucleation of platelets with bloodborne pathogens on Kupffer cell precedes other innate immunity and contributes to bacterial clearance**. *Nature Immunology*, United Kingdom, v. 14, n. 8, p. 785–792, 2013.

ZACARIAS, J.M.V.; DE ALENCAR, J.B.; TSUNETO, P.Y.; DE SOUZA, V.H.; SILVA, C.O.; VISENTAINER, J.E.L.; SELL, A.M. **The influence of TLR4, CD14, OPG, and RANKL polymorphisms in periodontitis: A case-control study**. *Mediators of Inflammation*, United States, v. 2019, 2019.

ZHOU, S.H.; LIANG, X.H.; SHAO, L.N.; YU, W.J.; ZHAO, C.; LIU, M. **Association of human platelet antigens polymorphisms with susceptibility to hepatitis C virus infection in Chinese population**. *International Journal of Immunogenetics*, United Kingdom, v. 44, n. 6, p. 337–342, 2017.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA ANEMIA E DO TRAÇO FALCIFORME EM COMUNIDADES QUILOMBOLAS DO BRASIL

Data de aceite: 01/06/2022

Liakésia Muniz Santana

Discente da Universidade Ceuma

Juliana Ribeiro Alves dos Santos

Docente da Universidade Ceuma

Artigo científico apresentado à Universidade Ceuma, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

RESUMO: A anemia falciforme é uma doença genética autossômica recessiva devido à uma única mutação na cadeia beta de hemoglobina, acontecendo uma substituição de dois aminoácidos, dando origem à hemoglobina S. Os pacientes em homozigose apresentam seu genótipo (Hb SS), enquanto os pacientes em heterozigose portam apenas o traço falcêmico (Hb AS). O objetivo da pesquisa é realizar uma revisão de literatura acerca da Anemia e do Traço Falciforme em comunidades quilombolas do Brasil, uma vez que a doença tem significativa importância epidemiológica em virtude da sua morbimortalidade. A coleta de dados foi realizada por meio de consultas nas plataformas Scielo (Scientific Eletronic Library Online), Google Acadêmico, BVS (Biblioteca Virtual em Saúde), sites e manuais da área de Saúde com uma leitura seletiva de todo o material encontrado. Foi observado que a prevalência de heterozigotos HbS é maior nas regiões do Norte e Nordeste do país, como no estado do Tocantins. No

estado do Piauí foi observada a prevalência de hemoglobinas variantes em 15 comunidades quilombolas de municípios diferentes, onde 67 indivíduos apresentaram Hemoglobina AS. No Brasil, os quilombolas costumam viver em comunidades isoladas e por isso, é necessário que possuam um saneamento básico adequado, assim como a disseminação de informações sobre os cuidados com a saúde e das principais doenças nas comunidades quilombolas, priorizando políticas públicas específicas para melhores medidas de autocuidado e prevenção.

PALAVRAS-CHAVE: Doença Falciforme. Hemoglobina S. Quilombolas.

ABSTRACT: Sickle cell anemia is an autosomal recessive genetic disease due to a single mutation in the beta chain of hemoglobin, with a two amino acid substitution occurring, giving rise to hemoglobin S. Patients in homozygotes have their genotype (Hb SS), whereas patients in heterozygosis carry only the sickle cell trait (Hb AS). The objective of the research is to carry out a review of the literature on Anemia and Sickle Trace in quilombola communities in Brazil, since the disease has significant epidemiological importance due to its morbidity and mortality. Data collection was performed through the Scientific Electronic Library Online, Scientist, VHL (Virtual Health Library), Health Web sites and manuals with a selective reading of all the material found. It was observed that the prevalence of HbS heterozygotes is higher in the North and Northeast regions of the country, as in the state of Tocantins. In the state of Piauí, the

prevalence of variant hemoglobins was observed in 15 quilombo communities in different municipalities, where 67 individuals presented hemoglobin AS. In Brazil, quilombolas usually live in isolated communities and therefore have to have adequate basic sanitation, as well as the dissemination of information on health care and the main diseases in quilombola communities, prioritizing specific public policies for better measures self-care and prevention.

KEYWORDS: Sickle Cell Disease. Hemoglobin S. Quilombolas.

INTRODUÇÃO

A anemia falciforme é uma doença genética autossômica recessiva devido à uma única mutação na cadeia beta de hemoglobina, acontecendo uma substituição de dois aminoácidos, o ácido glutâmico pela valina dando origem à hemoglobina S. Os pacientes em homozigose apresentam seu genótipo (Hb SS) e em heterozigose portam apenas o traço falcêmico (Hb AS), portanto se diferencia da hemoglobina A, pois quando sofre polimerização em situações de hipóxia e perda de solubilidade tem como consequência rigidez e distorção das hemácias, tornando seu formato em forma de uma foice. Devido a esta variação, ocorre destruição prematura dos eritrócitos, sendo a anemia a principal característica da doença (MOREIRA; SILVA, 2014).

No Brasil, a hemoglobina S e a doença falciforme surgiram a partir do século 16 e 19 quando as regiões brasileiras receberam um grande numero de escravos negros vindos do continente africano onde atualmente se encontra a maior incidência de indivíduos com traço ou doença falciforme. Dessa forma, a doença foi distribuída mundialmente no período da escravidão com tendência a atingir uma parcela cada vez mais significativa da população, devido ao alto grau de miscigenação em nosso país (FREITAS, 2011).

O Programa Nacional de Triagem Neonatal informa que no Brasil aproximadamente 3.500 crianças nascem portadoras da doença falciforme e 200 mil apenas com o traço falcêmico, dessa forma, a anemia falciforme é caracterizada por apresentar uma elevada morbidade e mortalidade decorrentes de complicações mais graves como anemia hemolítica, microinfartos e vaso-oclusão (ROCHA; SANTOS, 2015).

Indivíduos com o traço falcêmico clinicamente são assintomáticos, portanto esses levam uma vida normal, mas a ausência de sintomas clínicos para o heterozigoto oferece desvantagem ao portador, seu diagnóstico muitas vezes ocorre devido ao nascimento de filhos com a doença, pelo fato da doença ser hereditária o que pode acontecer a partir da união de duas pessoas apresentando o traço falciforme (FREITAS, 2011).

Ao contrário de quem carrega o gene homozigoto, cujo conteúdo predominante é a hemoglobina S em seus eritrócitos, são indivíduos que possuem a anemia falciforme, e apresentam manifestações clínicas desde sintomas brandos aos mais graves desencadeando hemólise e suas conseqüências, obstrução do fluxo sanguíneo capilar, o

que estabelece a maioria dos sinais e sintomas presentes nas manifestações clínicas dos pacientes. A hemoglobina S pode também se associar com outras hemoglobinas variantes com alterações morfológicas como a Hb C ou talassemias, tendo seus sintomas clínicos parecidos com o da anemia falciforme (SOUZA et al., 2013).

Diante desse contexto, a anemia falciforme é uma doença que causa impactos de diferentes proporções na vida do portador. Além de ser crônica hereditária e frequente na população negra, tem uma facilidade maior de se expandir em localidades que enfrentam o isolamento, a falta de assistência médica adequada, problemas sociais e demais agravos que podem ser encontrados nas populações remanescentes de quilombos.

Considerando a gravidade da doença, o objetivo da pesquisa é realizar uma revisão de literatura acerca da Anemia e do Traço Falciforme em comunidades quilombolas do Brasil, uma vez que a doença tem significativa importância epidemiológica em virtude da morbimortalidade que apresenta e, por isso, tem sido apontada como uma questão de saúde pública. Esta revisão reforça a importância dos estudos para uma melhor compreensão dos efeitos ocasionados por essa enfermidade, especialmente neste grupo da população do país.

METODOLOGIA

Tipo de pesquisa

O presente trabalho foi elaborado por meio de uma revisão bibliográfica ou literária, sendo um ponto de partida de toda pesquisa. Silveira (2004) denomina esse tipo de pesquisa como exploração técnica, sistemática e exata onde o pesquisador baseia-se em estudos já realizados por outros autores.

Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada por meio de consultas nas plataformas Scielo (Scientific Electronic Library Online), Google Acadêmico, BVS (Biblioteca Virtual em Saúde), sites e manuais da área de Saúde, usando os descritores: Anemia falciforme, quilombos, comunidades quilombolas, Hemoglobina S, em um período de dois meses , apresentando registros de 2007 a 2018.

Análise dos dados

A busca na literatura para fundamentação e elaboração dos dados para a pesquisa apresentou artigos, trabalhos de conclusão de curso, dissertação de mestrado, tese de doutorado e demais pesquisas, onde foi realizada uma leitura seletiva de todo o material encontrado.

BIBLIOGRAFIA	QUANTIDADE
ARTIGOS	37
TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO	4
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO	3
TESE DE DOUTORADO	1
TRABALHO DE PESQUISA	1
TOTAL	46

Tabela 1. Quantitativo de bibliografias encontradas.

Fonte: Autor (2019).

Posteriormente foi feita uma seleção dos artigos que atendiam aos critérios inicialmente selecionados para alcançar os objetivos deste trabalho, contemplando oito bibliografias somente com estudos com comunidades quilombolas referentes aos anos de 2011 a 2017.

Critérios de inclusão e exclusão

Foram usados como critério de inclusão, todas as bibliografias que abordassem a temática da Anemia Falciforme e, de preferência as que se tratavam de estudos com quilombos dos estados do Brasil. Como critérios de exclusão, foram utilizadas todas as literaturas que abordavam outros tipos de anemia, conforme mostra a (Figura 1).

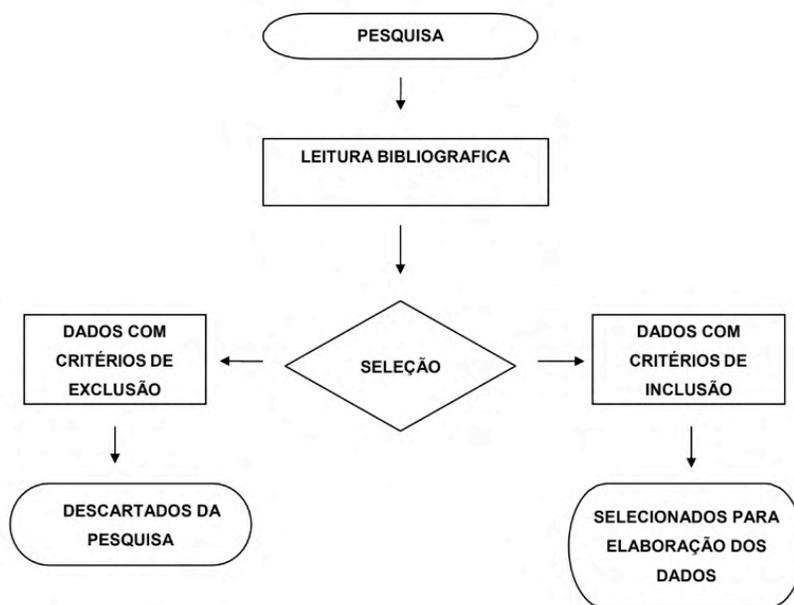


Figura 1. Fluxograma do processo para a elaboração dos dados.

Fonte: Autor (2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Anemia Falciforme no Brasil

A incidência da doença falciforme no Brasil se deve ao fato da imigração forçada no período colonial destacando o estado da Bahia o porto de grande parte da distribuição dos escravos, e nos dias de hoje é o estado com maior população negra do país (LOPES, 2013).

A distribuição da população foi relacionada com a constituição de populações locais, com maiores casos em regiões constituídas por grandes contingentes de afro-brasileiros. Cançado e Jesus (2007) compilaram os dados epidemiológicos fornecidos pelo Ministério da Saúde referentes à doença falciforme, e observaram um número maior de indivíduos heterozigotos nas regiões onde o tráfico de escravos no país foi mais intenso.

Desta forma de acordo com os dados de Felix, Souza e Ribeiro (2010) a prevalência de heterozigotos HbS é maior nas regiões do Norte e Nordeste, com resultados entre 6% e 10%, e consideravelmente menor nas regiões Sul e Sudeste, com uma prevalência entre 2% e 3%, respectivamente.

Castelo (2013) ressalta que a anemia falciforme não é uma “doença só de negros”, ou uma doença africana, mas é considerada étnico-racial devido à sua origem e etiologia genética e pela sua prevalência na população negra. Caracteriza-se como doença eminentemente geográfica, que afeta populações da África, do Mediterrâneo e da Ásia, sendo possivelmente produto de uma sucedida estratégia evolucionária humana para lidar com a malária causada pelo *Plasmodium falciparum*, causando uma resistência à infecção, conforme a mutação adaptativa do eritrócito.

Diante do exposto, nos dias atuais, os históricos da anemia falciforme e do traço da doença em brancos e demais populações, vem através da miscigenação dos povos, reforçando que a doença falciforme não pode ser considerada apenas um marcador genético característico da população afrodescendente.

De acordo com os dados disponíveis no Ministério da Saúde (2017) estima-se a existência de dois milhões de portadores do gene da Hb S (Tabela 2), com 200.000 entre os recém-nascidos vivos por ano, e que 25 a 50 mil pessoas tenham a forma homozigótica (Hb SS), denominada de Doença Falciforme com 3.000 novos casos por ano.

Assim, verifica-se que os indivíduos com traço falciforme são encontrados em todas as regiões brasileiras, por isso, a anemia falciforme é considerada uma das doenças genéticas mais importantes no cenário epidemiológico do Brasil, já que os portadores do traço falciforme podem gerar descendentes com a anemia falciforme (SILVA; SEIBERT, 2012).

Estados	Proporção/Nascidos vivos
Bahia	1:650
Rio de Janeiro	1:1.200
Pernambuco, Maranhão, Minas Gerais e Goiás	1:1.400
Espírito Santo	1:1.800
São Paulo	1:4.000
Mato Grosso do Sul	1:5.850
Rio Grande do Sul	1:11.000
Santa Catarina e Paraná	1:13.500

Tabela 2. Proporção de nascidos vivos diagnosticados com doença falciforme de acordo com o programa de triagem neonatal.

Fonte: Castelo (2013).

Anemia Falciforme em populações quilombolas do Brasil

Na busca por trabalhos que apresentaram informações do Traço e Anemia falciforme em quilombos do Brasil, foram encontradas pesquisas com populações dos estados do Tocantins, Piauí, Sergipe e Espírito Santo, no qual os dados estão apresentados nesta revisão. Vale ressaltar que ainda há escassez de pesquisas desta doença com comunidades quilombolas de outros estados do Norte e Nordeste no qual se concentra os maiores índices da doença no país, dentre eles está o Maranhão que não se obteve nenhum achado acerca da anemia falciforme em comunidades quilombolas.

Na pesquisa de dados, o estado de Tocantins abordou a maior quantidade de estudos com populações quilombolas. Silva e Seibert (2012) realizaram um estudo com duas comunidades que buscou a incidência da anemia falciforme presente em Morro de São João e a comunidade quilombola de Redenção. Foram coletadas 126 amostras de sangue, 81 obtidas na comunidade Morro de São João e 45 em Redenção. Na comunidade Morro de São João doze indivíduos (15%) apresentaram traço falciforme e na comunidade Redenção, um indivíduo (2%) foi diagnosticado como traço para hemoglobina C e três (7%) com hemoglobina fetal aumentada. Os dados socioeconômicos foram coletados de 44 famílias sendo a maioria da renda gerada nas comunidades proveniente de aposentadorias, lavoura e programas do governo Bolsa Família e Bolsa Escola, assim como foram registradas dificuldades de transportes para se deslocarem para os centros urbanos.

No ano seguinte os mesmos autores, Silva e Seibert (2013) pesquisaram a incidência em outras duas comunidades, dessa vez, a comunidade de Chapada de Natividade e de São José, ambas da cidade de Chapada de Natividade. Incluíram nesse estudo 63 amostras da comunidade de Chapada e 25 em São José, sendo que em Chapada já havia quatro crianças portadoras da doença falciforme. Os autores encontraram 6,5%

para o traço falciforme e 5% traço para hemoglobina C. Em São José, 8% dos indivíduos apresentavam traço falciforme, 28% traço para hemoglobinas C e 4% hemoglobina A2 aumentada. Os dados socioeconômicos mostraram que em Chapada de Natividade as principais atividades econômicas estão relacionadas com a aposentadoria, serviço público e lavoura e para São José foram lavradores e aposentados as maiores fontes de rendas. O programa do Governo Federal, o Bolsa Família, também foi tido como fonte de renda nas comunidades, observada ainda a falta de saneamento básico.

No ano de 2013 houve uma pesquisa com triagem de hemoglobinas variantes e a influência das condições sociais em quatro comunidades quilombolas do Tocantins (Tabela 3), realizado por Souza et al (2013). Neste estudo, foram triadas 167 amostras de sangue, sendo 48 da comunidade Malhadinha, 55 da comunidade Córrego Fundo, 27 da comunidade Curralinho do Pontal e 38 da comunidade Manoel João. Do total analisado, 11 indivíduos (6,6%) apresentaram hemoglobinas variantes, dentre eles oito (4,8%) foram diagnosticados como traço falciforme e três (1,8%) como hemoglobina C. As condições sociais das famílias apresentaram renda através de aposentadorias, agricultura e trabalhos informais, além do benefício do Bolsa Família.

A falta de recursos limita o acesso à informação assim como a inexistência de saneamento básico e tratamento de água, os moradores procuram atendimento médico em cidades vizinhas, e relatam a dificuldade de transportes (SOUZA et al., 2013).

Paralelo a estes dados, um estudo feito por Fernandes et al (2010) com pessoas com Doença Falciforme no estado de Minas Gerais, demonstrou que a condição social pode influenciar no agravamento da enfermidade, aumentando a morbidade e mortalidade da doença, confirmando que as dificuldades da doença não são apenas de ordem técnica, mas também uma questão política e social.

A pesquisa de Andrade et al (2015) contemplou três comunidades, dentre elas, a de Barra do Aroeira, Mata Grande e Distrito do Morro de São João, sendo a última já estudada por Silva e Seibert (2012). No estudo foi possível obter 219 amostras de sangue coletada, 30% da população total das três comunidades, sendo que 17 indivíduos foram Hb AS, grupo constituído por 5 crianças, 2 adolescentes, 2 jovens, 7 adultos e 1 idoso. A comunidade Barra do Aroeira obteve o menor percentual de Hb AS (1,2%), representando 1 indivíduo com o traço falciforme. Em Mata Grande, 7,0% dos indivíduos amostrados foram diagnosticados como Hb AS (ao todo 4 pessoas). Nesta comunidade havia crianças com a doença falciforme, mas que não fizeram parte da amostragem por parte dos seus responsáveis por não terem apresentado interesse.

Na comunidade também foi relatado óbito de três pessoas com a doença, todas pertencentes à mesma família. A comunidade do Morro de São João obteve o maior percentual de Hb AS (14,6%) um total de 12 indivíduos. A alta incidência de Hb AS em Moro de São João, no que diz respeito às demais comunidades, pode estar relacionada com a sua localização geográfica, pois esta se encontra mais afastada das cidades circunvizinhas,

o que favorece casamentos consanguíneos, e por consequência, o aumento de indivíduos com o traço falciforme, podendo contribuir futuramente com a possibilidade de nascimento de indivíduos com a doença na comunidade. Os dados são semelhantes ao encontrados por Silva e Seibert (2012).

Dentre as comunidades, foi observado de acordo com os dados socioeconômicos, que o Bolsa Família atende a maior parte das famílias, para algumas, esta é a única renda mensal fixa, a aposentadoria e a lavoura também predominam como renda da população, além de trabalhos artesanais. Muitas das famílias desconhecem a doença falciforme e seus agravos clínicos, o que muitas vezes, reflete no diagnóstico tardio das hemoglobinas, o que é um facilitador para a disseminação da Hb S. As queixas mais frequentes estão com a falta de atendimentos médicos, e saneamento básico e a falta de recursos para custear exames para diagnósticos (ANDRADE et al., 2015).

Ano da Publicação	Comunidade	Amostra	Traço Falciforme (%)	Doença Falciforme (%)	Quantidades de indivíduos com hemoglobinas
2012	Morro de São João	81	15%	-	12
	Redenção	45	0%	-	0
2013	Chapadade	63	6,5%	-	5
	Natividade				
	São José	25	8,0%	-	2
2013	Malhadinha	48	12,5%	-	6
	Córrego Fundo	55	2,0%	-	1
	Curralinhodo Pontal	27	4,0%	-	1
	ManoelJoão	38	0%	-	0
2015	Barra doAroeira	80	1,2%	-	1
	Mata Grande	57	7,0%	-	4
	Morro de São João	82	14,6%	-	12

(-): ausência de informação.

Tabela 3. Resultados dos respectivos anos das comunidades quilombolas do Tocantins.

Fonte: Autor (2019).

Nos estudos em comunidades quilombolas do estado do Tocantins em uma delas, na comunidade de Morro de São João, foi observado um alto potencial de hemoglobinas AS tanto em 2012 quanto em 2015, mostrando que a incidência do alelo S pode variar dentro da mesma região e que apesar das comunidades quilombolas serem constituídas por afrodescendentes elas podem se diferenciar nas suas histórias de origem. Devido a

essa problemática a necessidade de diagnósticos precoces contribui para amenizar os possíveis agravos da doença. Lopes (2013) afirma que a falta de informação sobre a doença falciforme, pode ser uma das causas de complicações para os pacientes, como a insuficiência de medidas de autocuidado e medidas preventivas.

No estado do Piauí, Soares et al (2017) observaram a prevalência de hemoglobinas variantes em 15 comunidades quilombolas de municípios diferentes. Foram analisadas 1.239 amostras, nas quais, 5,4% apresentaram o traço falciforme AS, um total de 67 indivíduos sendo 44 do sexo feminino e 23 do sexo masculino. As hemoglobinas SS e SC apareceram em 0,8%, representando a anemia falciforme (0,5%) 6 indivíduos, 4 mulheres e 2 homens, e para hemoglobina SC (0,3%) 4 indivíduos. Ainda foram evidenciadas hemoglobinas variantes AC (0,2%), AD (0,6%) e DD (0,1%). Nas comunidades estudadas ocorreu a presença de 13 casamentos consanguíneos dentre as 84 alterações das hemoglobinas.

Nas comunidades analisadas, a atividade agrícola ainda é a fonte de sustento da maioria das famílias, a renda complementar econômica das famílias vem de projetos do governo Federal, como a Bolsa Família. O desconhecimento sobre o traço e a doença falciforme apresentou um elevado índice, 81,0% esses dados mostram-se semelhante com os estudos em comunidades do Tocantins descritos anteriormente (SOARES et al., 2017).

Um estudo de Brauer (2017), em cinco comunidades quilombolas do Espírito Santo realizou uma avaliação socioeconômica, demográfica, parasitológica e hematológica da população. Para a avaliação de hemoglobinas, foram avaliadas 192 amostras de sangue que apresentaram 9,37% representando um total de 18 indivíduos com hemoglobinas variantes confirmadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), observando-se a presença de heterozigose para Hb AS em 13 indivíduos (6,77%) e para Hb AC em 5 indivíduos (2,60%). Foram entrevistados 76 chefes de família, 92,10% (n=70) informaram que não sabem se são portadores da anemia falciforme ou do traço falcêmico e 94,73% (n=72) desconhecem como são adquiridos.

Analisando os dados hematológicos do estudo, observa-se a prevalência de hemoglobinas na região e o desconhecimento do assunto é notável, de tal forma que as condições socioeconômicas acabam contribuindo e demonstrando, assim como nas comunidades já descritas neste trabalho, um alto índice de desconhecimento da doença, que se pode encontrar não só em pacientes e familiares, mas também entre os profissionais da área da saúde, fazendo lembrar da importância da informação de saúde para populações vulneráveis como as quilombolas.

Em Sergipe, Rocha e Santos (2015) desenvolveram uma pesquisa sobre a assistência básica a pacientes em comunidade quilombola no município de Santa Luzia do Itanhhy. Apresentaram quatro pacientes, dois homens e duas mulheres, com faixa etária de 20 a 40 anos, onde os mesmos possuíam renda própria de até um salário mínimo e auxílio obtido a partir do Programa Bolsa família. Os sintomas que apresentavam nos quatro eram as dores no corpo e dificuldades para realizar atividades físicas. As dificuldades

de respirar, problemas no baço, cálculo biliar e icterícia estavam presentes em três dos pacientes. Os mesmos realizavam esquema vacinal nas Unidades de Saúde da família e o encaminhamento para centros de referências ocorre de acordo com a necessidade dos pacientes.

Neste estudo é evidenciado que a maioria da população portadora de anemia falciforme ainda é jovem, em idade produtiva contemplando tanto homens como mulheres, com renda de até um salário mínimo, condições de habitação humilde, com diversos problemas de saúde e psicossociais. Dados como este foram encontrados no Estado do Pará em uma pesquisa realizada por Silva e Silva (2013) com 40 pacientes com Doença Falciforme no Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOPA), apontando que a situação de instabilidade social ocorria em 40% das famílias, que viviam com até um salário mínimo por mês.

CONCLUSÃO

Foi observado que poucos estudos avaliam a prevalência de hemoglobinopatias em comunidades quilombolas. Com base nessa revisão a Hemoglobina S (HbS) no Brasil é altamente heterogênea, apresentando diferenças significativas mesmo entre comunidades formadas por afrodescendentes.

Os quilombolas costumam viver em comunidades isoladas da sociedade, onde as chances de ocorrerem casamentos entre indivíduos com traço falciforme, tornam-se maiores que na população em geral, aumentando assim a probabilidade de nascerem indivíduos acometidos pela doença. Propõe-se promover aconselhamento genético para essas famílias e priorizar políticas públicas específicas sobre a doença.

Desse modo, é visível a necessidade de serviços que possam melhorar a qualidade de vida dessas pessoas, os quais foram evidenciados de mais urgência a implantação de saneamento básico, desenvolvimento de projetos para melhorar as formas de geração de renda, atendimento médico com mais frequência e a disseminação de informações sobre os cuidados com a saúde e das principais doenças que estes estão sujeitos a ter, para melhores medidas de autocuidado e prevenção.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Simone Pôssas et al. A distribuição da hemoglobina S em três comunidades quilombolas do estado do Tocantins-Brasil. **Revista Scientia Amazônia**, v. 4, n. 1, p. 10-20, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Triagem Neonatal. Doenças Falciformes e outras Hemoglobinopatias**. Brasília, 2017. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-da-triagem-neonatal/doencas-falciformes-df-e-outras-hemoglobinopatias>> Acesso em: 24. Abril. 2019.

BRAUER, Alline Mikaele Nunes Wildemberg. **Avaliação socioeconômica, demográfica, parasitológica e hematológica de comunidades quilombolas do norte do Espírito Santo, Brasil.** 2017. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2017.

CANÇADO, Rodolfo. D.; JESUS, Joice. A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.29, n.3, p.203-206, 2007.

CASTELO, Natália de Moraes. **Identificação de haplótipos do gene da globina- β s em pessoas com anemia falciforme do estado do Amapá.** 2013. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Macapá, 2013.

FELIX, Andreza A.; SOUZA, Helio M.; RIBEIRO, Sonia Beatriz F. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 3, p. 203-8, 2010.

FERNANDES, Ana Paula Pinheiro Chagas et al. Mortalidade de crianças com doença falciforme: um estudo de base populacional. **Jornal de Pediatria**, v. 86, n. 4, 2010.

FREITAS, Daniel Antunes et al. Saúde e comunidades quilombolas: uma revisão da literatura. **Revista CEFAC**, v. 13, n. 5, 2011.

LOPES, Winnie Samanú Lima. **Impacto social da doença falciforme em comunidades quilombolas de Paracatu, Minas Gerais, Brasil.** 2013. 96 f. Dissertação (Mestrado em Antropologia Médica) - Faculdade De Ciências e Tecnologia. Minas Gerais, 2013.

MOREIRA, Alcinete S.; SILVA, Robson Amaro A. Anemia ferropriva em portadores de anemia falciforme: a importância de se avaliar o estado nutricional de ferro. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 2, p. 236-241, 2014.

ROCHA, Priscilla Batista; SANTOS, Sara Albuquerque dos. **Anemia Falciforme: Assistência Básica a pacientes em comunidades no município de Santa Luzia do Itanhy.** 2015. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Enfermagem) - Universidade Tiradentes – UNIT. Aracaju, 2015.

SILVA, Ariana Kelly S. Silva; SILVA, Hilton P. Anemia falciforme como experiência: relações entre vulnerabilidade social e corpo doente enquanto fenômeno biocultural no Estado do Pará. **Revista Amazônica de Antropologia**, v. 5, n. 1, p. 10-36, 2013.

SILVA, Luciana Costa; SEIBERT, Carla Simone. **Incidência da anemia falciforme nas comunidades quilombolas de Chapada e São José, no estado do Tocantins.** In: 9º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFT, v. 5. Palmas, 2013. p. 1-5.

SILVA, Luciana da Costa; SEIBERT, Carla Simone. **Incidência da anemia falciforme nas comunidades quilombolas de Morro de São João e Redenção, estado do Tocantins.** In: 8º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFT. Palmas, 2012. p 1-5.

SILVEIRA, Amélia et al. **Roteiro básico para apresentação e editoração de teses, dissertações e monografias.** 2. ed. Blumenau: Edifurb, 2004. p. 103 – 106.

SOARES, Leonardo Ferreira et al. Prevalência de hemoglobinas variantes em comunidades quilombolas no estado do Piauí, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3773-3780, 2017.

SOUZA, Lidiane Oliveira de et al. Triagem das hemoglobinas S e C e a influência das condições sociais na sua distribuição: um estudo em quatro comunidades quilombolas do Estado do Tocantins. **Saúde e Sociedade**, v. 22, p. 1236-1246, 2013.

Data de aceite: 01/06/2022

Danielle Freire Goncalves

<https://orcid.org/0000-0002-2469-1876>

Iasmim Ianne Sousa Tavares

<https://orcid.org/0000-0003-2350-874X>

Sarah da Silva Barros

<https://orcid.org/0000-0002-4413-4364>

Janaína Almeida Galvão Miranda

<https://orcid.org/0000-0002-5608-662X>

Pâmela Daiana Cancian

<https://orcid.org/0000-0002-4905-7767>

Thiago Mourão Almeida Araújo

<https://orcid.org/0000-0002-3829-2139>

Julia Fernanda Gouveia Costa

<https://orcid.org/0000-0002-3547-798X>

João Guilherme Teles de Carvalho

<https://orcid.org/0000-0001-5542-1062>

Mercia Rodrigues Lacerda

<https://orcid.org/0000-0002-7854-1718>

Vinicius Araújo Pereira

<https://orcid.org/0000-0002-5577-755X>

José Danilo Amorim Ghidetti

<https://orcid.org/0000-0002-5254-0936>

Ruyilson dos Santos Oliveira

<https://orcid.org/0000-0002-3554-8186>

Palloma dos Santos Oliveira

<https://orcid.org/0000-0002-3699-4989>

RESUMO: O vitiligo é uma doença de caráter principalmente genético, sem causa conhecida, identificado pela perda de pigmentação em algumas regiões da pele, tendo como característica histológica a ausência de melanócitos. A doença é considerada a hipomelanose mais frequente de conhecimento geral, com prevalência de 1% na população mundial e com um efeito psicológico bastante devastador, não leva à incapacidade funcional, mas causa grande impacto psicossociocultural, sofrendo principalmente com a discriminação e preconceito da sociedade. Pode afetar a pele e as mucosas, adultos e crianças de ambos os sexos são igualmente acometidos, sem diferença entre as raças, metade dos pacientes iniciam a doença antes dos 20 anos. O risco de desenvolvê-la é independente de fototipo, raça e sexo.

PALAVRAS-CHAVE: Vitiligo, Fisiopatologia, Fatores de risco, Genética, Enfermagem, Medicina.

ABSTRACT: Vitiligo is a disease of mainly genetic character, with no known cause, identified by the loss of pigmentation in some regions of the skin, having as histological characteristic the absence of melanocytes. The disease is considered the most common hypomelanosis of general knowledge, with a prevalence of 1% in the world population and with a very devastating psychological effect, it does not lead to functional disability, but causes a great psychosociocultural impact, suffering mainly from the discrimination and prejudice of society. It can affect the skin and mucous membranes, adults and children of both sexes are equally affected, with no difference

between races, half of the patients start the disease before the age of 20. The risk of developing it is independent of phototype, race and sex.

KEYWORDS: Vitiligo, Pathophysiology, Risk factors, Genetics, Nursing, Medicine.

INTRODUÇÃO

A pele, conhecida como o maior órgão do corpo humano, tanto em área superficial quanto em peso, apresenta fundamental importância para a manutenção da vida. Ela apresenta inúmeras funções, tais como barreira física protetora, defesa imunológica, evitação da desidratação e regulação da temperatura corporal.

Histologicamente, a pele pode ser dividida em três partes: hipoderme, derme e epiderme. A hipoderme, camada mais interna, rente à musculatura, é rica em tecido adiposo, o que permite a sua atuação como isolante térmica e fonte energética. A derme, correspondente a porção média da pele, apresenta uma vasta rede de vascularização e inervação que permite a nutrição do órgão em questão. Nela são encontradas os fibroblastos e as fibras colágenas e elásticas, conferindo melhor proteção e cicatrização do local.

A epiderme corresponde a camada mais externa, não vascularizada e que possui 4 tipos principais de células: os queratinócitos, responsáveis por criar uma casa de queratina, uma proteína que ajuda a proteger a pele e o tecido subjacente; os melanócitos, os quais produzem pigmentos da família da melanina que são armazenados nos melanossomos; Langerhans, que atuam na resposta imunológica e inflamatória e as células de Merkel, que participam da sensação tátil.

O vitiligo é uma doença de caráter principalmente genético, sem causa conhecida, identificado pela perda de pigmentação em algumas regiões da pele, tendo como característica histológica a ausência de melanócitos. Em um primeiro momento, surgem manchas hipocrômicas, de limites nítidos, com bordas hiperpigmentadas, aparência e proporções variáveis não pruriginosas.

As manchas costumam apresentar rápido espalhamento (meses) no primeiro estágio da doença e, logo após, aparente estabilização e espalhamento mais lento (anos). Possui a tendência de distribuição simétrica pela pele, com preferência por punhos, face, pernas, dorso das mãos, dedos, axilas, pescoço e genitália. Se ocorrer no couro cabeludo, desenvolverá a poliose, que é a perda da melanina ciliar. Casos em que o vitiligo aparece nas palmas das mãos e plantas dos pés são considerados raros. Diante disso, esta revisão de literatura irá discorrer a respeito da fisiopatologia e fatores de risco que permeiam a doença.

METODOLOGIA

O presente estudo compreende uma revisão sistemática de literatura de caráter descritivo, com abordagem qualitativa e explicativa a respeito do tema abordado, com o

objetivo de observar, analisar e registrar os fatos sem, fazer qualquer tipo de manipulação dos dados. Foi realizado levantamento bibliográfico das bases de dados online Medscape, Scielo, PubMed, Lilacs e BVS, nos idiomas português e espanhol, no período de 2015 a 2021. Os critérios de inclusão foram aqueles pertinentes ao foco da pesquisa, já os critérios de exclusão foram documentos fora do tema desenvolvido, a presença de outros idiomas que não os escolhidos e as datas anteriores ao recorte histórico escolhido deixaram apenas 6 artigos, que foram usados para a criação da revisão de literatura aqui apresentada.

Fisiopatologia

O vitiligo é uma doença retratada pela perda de pigmentação da derme, sendo uma doença cutânea autoimune, adquirida e espontânea. A enfermidade é caracterizada pela ausência de melanócitos epidérmicos, causada pela produção de uma reação do organismo que provoca a destruição dos mesmos, ocasionando assim, o extermínio da coloração e o aparecimento de manchas nitidamente despigmentadas, em qualquer região da pele, contudo, ainda é desconhecido o fator primordial para esta destruição.

A perda dos tons de pele é mais visível na população negra, mas pode ocorrer também na população branca. As manchas costumam apresentar rápido espalhamento (meses) no primeiro estágio da doença e, logo após, aparente estabilização e espalhamento mais lento (anos). Possui a tendência de distribuição simétrica pela pele, com preferência por punhos, face, pernas, dorso das mãos, dedos, axilas, pescoço e genitália.

A doença é considerada a hipomelanose mais frequente de conhecimento geral, com prevalência de 1% na população mundial e com um efeito psicológico bastante devastador, não leva à incapacidade funcional, mas causa grande impacto psicossociocultural, sofrendo principalmente com a discriminação e preconceito da sociedade. Pode afetar a pele e as mucosas, adultos e crianças de ambos os sexos são igualmente acometidos, sem diferença entre as raças, metade dos pacientes iniciam a doença antes dos 20 anos. O risco de desenvolvê-la é independente de fototipo, raça e sexo.

Trata-se de uma doença multifatorial e as causas ainda não estão visivelmente definidas, porém, os fatores mais atribuídos são os mecanismos imunológicos, mutações genéticas, fatores neurológicos, ação dos radicais livres, resposta autoimune, elementos tóxicos do ambiente externo, entre outros.

Classificação clínica

O vitiligo, por ser uma mazela que suscita muitas discussões e pesquisas ao longo do tempo, apresenta diferentes sistemas de classificação clínica da doença propostos, dado que muitos casos apresentam diferentes comportamentos, características e evoluções. As classificações dependem da distribuição e do tamanho da superfície atingida, sendo divididas em vitiligo não segmentar e segmentar, em relação à patologia dermatológica, e localizada, generalizada e universal, quanto à forma.

Quanto à patologia dermatológica:

VITILIGO NÃO SEGMENTAR (VNS): é a forma mais comum e não possui idade específica para início, com o surgimento de novas lesões ao longo dos anos de vida do paciente. Sua principal característica são as máculas sem pigmentação, de tamanho variado, distribuição simétrica e aparecimento em ambos os lados do corpo. Nessa forma da doença, os pelos não são lesados, mantendo sua pigmentação natural. Com a evolução da enfermidade, pode-se observar algumas margens lesadas extremamente pigmentadas após a exposição aos raios UV, especialmente em indivíduos de pele mais escura. Neste grupo inclui-se **o vitiligo acrofacial, mucoso, generalizado, universal, misto e algumas variantes mais raras.**

VITILIGO SEGMENTAR (VS): costuma acometer jovens e apresenta lesão muito semelhante à do VNS. Apresenta máculas despigmentadas, com distribuição uni, bi ou multissegmentar. A **forma unissegmentar é a mais comum**, com máculas presentes em apenas um dos lados do corpo, geralmente respeitando a linha média do corpo acompanhando dermatômeros, com envolvimento dos pelos (leucotriquia) e no rápido início do quadro. A leucotriquia refere-se a maior resistência às terapêuticas instituídas. A forma bissegmentada é a menos frequentemente seguida da multissegmentar. A perda de pigmentação expressa evolução em um período de 6-24 meses e depois permanece estável. Entretanto, em raras situações, pode retornar a progredir após estágio de estabilidade, com lesões generalizadas.

Quanto à localização:

FOCAL: é descrita pela presença de uma ou mais manchas brancas em uma região estipulada, com a distribuição do tipo não dermatômero, sem divisão especial. Os locais mais comuns são o segmento do nervo trigêmeo, pescoço e tronco. Podem progredir para VS e VNS, mas não antes de um período de 1 ou 2 anos.

MUCOSO: somente a membrana da mucosa é atacada, preferencialmente em locais de traumas leves por fricção, como as mucosas oral e genital. Mas também pode-se desenvolver também em ferimentos mais graves como cortes. Quando afeta apenas uma mucosa classifica-se como indeterminado, podem progredir para VNS, mas não antes de um período de 2 anos, no mínimo.

ACROFACIAL: caracterizado por conter lesões típicas na parte distal das extremidades, a exemplo da face e região perioral, cabeça, em torno dos olhos, nariz, ouvidos, boca, mãos, pés e dedos, podendo se estender ao ânus.

VULGAR: também conhecido como generalizado, dependendo da literatura escolhida, é o tipo mais comum, as manchas apresentadas são despigmentadas, amplas e simetricamente distribuídas. São máculas acrômicas com distribuição variável, caracteriza-se por máculas despigmentadas, amplas, simétricas, de distribuição variada, quando houver compatibilidade de dois ou mais tipos, que podem afetar qualquer parte do tegumento, principalmente mãos, dedos, face e áreas corporais expostas a trauma

UNIVERSAL: nota-se a despigmentação em 80% a 90% do tegumento com possibilidade de pequenas áreas pigmentadas perifoliculares e nas áreas expostas ao sol. É a forma mais grave de VNS, e está associado geralmente à fase adulta e às síndromes endócrinas.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, O. S. VITILIGO: FISIOPATOLOGIA, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Centro Universitário Luterano de Palmas - ULBRA. Palmas, p. 50, 2016. Disponível em: <https://ulbra-to.br/bibliotecadigital/uploads/document599af14edecb0>. Acesso em: 29 abr. 2022.

FUTIA, J. Z. VITILIGO: PATOGENIA, COMPLICAÇÕES E TERAPÊUTICAS DISPONÍVEIS. Monografia (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA. Ariquemes, p. 35, 2018. Disponível em: <https://repositorio.faema.edu.br/bitstream/123456789/2420/1/TCC%20VITILIGO%20JUCINEIA.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2022.

LÓPEZ, D. E. K.; SALAZAR, N. A. Z.; SANTANDER, M. S.; CANDIANI, J. O. Vitiligo: Implicaciones inmunológicas y genéticas. *Piel Latinoamericana*, v.21, n.4, p.312. Disponível em: piel-l.org/blog/48743. Acesso em: 12 marc. 2022

NETO, A. T. M; SOUZA e SILVA, V.; RODRIGUES, M. D; PINTO, F. O. VITILIGO: O PROBLEMA QUE NÃO ESTÁ APENAS NA PELE. *Revista Interdisciplinar do Pensamento Científico*, v. 1, n. 2, p. 250-67, jul./dez. 2015. Disponível em: reinpeconline.com.br/index.php/reinpec/article/view/93/56. Acesso em: 25 abr. 2022

SANTOS, C. F. Vitiligo- uma afecção dermatológica despigmentante. Relatórios de Estágio e Monografia (Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Coimbra, p. 72, 2020. Disponível em: eg.uc.pt/10316/92942/1/Carolina%20Santos%20documento%20uv%20unico.pdf. Acesso em: 12 marc. 2022.

SALES, V. F. P. et al. O VITILIGO E AS PRINCIPAIS ORIENTAÇÕES FARMACÊUTICAS. *Única Cadernos Acadêmicos*, v. 3, n. 1, p.1-10. Disponível em: co.unicaen.com.br:89/periodicos/index.php/UNICA/article/view/189/164. Acesso em: 27 abr. 2022

ANÁLISE SENSORIAL: SUA RELEVÂNCIA NO DESENVOLVIMENTO DE UM COSMÉTICO

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 07/04/2022

Isabel Silva Alves Cerqueira

Centro Universitário Senac - Santo Amaro
São Paulo – S.P
<http://lattes.cnpq.br/8134789522300585>

Verena Honegger

Centro Universitário Senac - Santo Amaro
São Paulo – S.P
<http://lattes.cnpq.br/4930369789609058>

Antonio Hortêncio Munhoz Júnior

Universidade Presbiteriana Mackenzie
São Paulo – S.P
<http://lattes.cnpq.br/8233884614933594>

Leonardo Gondim de Andrade e Silva

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
(IPEN/CNEN)
São Paulo – S.P
<http://lattes.cnpq.br/7388174990363675>

Isabella Tereza Ferro Barbosa

Centro Universitário Senac - Santo Amaro
São Paulo – S.P
<http://lattes.cnpq.br/8053445848637533>

RESUMO: A indústria cosmética, com seu crescimento acelerado e inovações tecnológicas, desenvolve cosméticos que se diferenciam dos demais por meio da nanotecnologia, otimizando a permeação dos princípios ativos. No entanto, além da eficácia do cosmético, seu aspecto sensorial é muito relevante. A análise sensorial

é amplamente utilizada como instrumento de medida científica na avaliação de cosméticos, pois ela é uma fonte única de informação avaliando a aceitação e preferência dos produtos por parte do consumidor. Tendo em vista que existem diversos tipos de análises e testes sensoriais, é imprescindível definir qual o mais adequado para cada tipo de pesquisa. Este trabalho tem como objetivo demonstrar a importância da análise sensorial para a produção e comercialização de um cosmético. Deste modo, foi realizada uma pesquisa exploratória, experimental, qualitativa e quantitativa não probabilística. Inicialmente, realizou-se uma revisão de literatura e na parte experimental foram produzidos cosméticos antienvhecimento de hidrogel à base de PVP contendo nanoemulsões de ácido mandélico e óleo essencial de lavanda, gerânio, palmarosa e lemongrass. Posteriormente, estes cosméticos foram analisados por meio de testes sensoriais de preferência pareados, utilizando a escala Likert. Por meio destas análises, pôde-se identificar as características específicas desses produtos e definir qual o mais adequado para o mercado consumidor, demonstrando a relevância da análise sensorial no desenvolvimento de um cosmético.

PALAVRAS-CHAVE: Análise sensorial, cosmético, nanotecnologia, mercado consumidor, indústria cosmética.

SENSORY TESTS: ITS RELEVANCE ON A COSMETIC DEVELOPMENT

ABSTRACT: The cosmetic industry, with its accelerated growth and technological innovations,

develops cosmetics that differentiate themselves from others through nanotechnology, which optimizes the permeation of active ingredients. However, in addition to the effectiveness of the cosmetic, its sensory aspect is very relevant. Sensory analysis is widely used as a scientific measurement tool in cosmetic evaluation, as it is a unique source of information that evaluates product acceptance and preference from the consumer aspect. Considering that there are several types of analysis and sensory tests, it is essential to define which is the most suitable for each type of research. This work aims to demonstrate the importance of sensory analysis for the production and marketing of a cosmetic. Thus, exploratory, experimental, qualitative and quantitative non-probabilistic research was carried out. Initially, a literature review was done and in the experimental part, PVP-based anti-aging hydrogel cosmetics containing nanoemulsions of mandelic acid and essential oil of lavender, geranium, Palmarosa and lemongrass were produced. Subsequently, these cosmetics were analyzed through sensory tests, preference paired, using the Likert scale. Through these analysis, the specific characteristics of these products were identified and defined which sample was the most suitable for the consumer market, demonstrating the relevance of the sensory analysis in the development of a cosmetic.

KEYWORDS: Sensory analysis, cosmetic, nanotechnology, consumer market, cosmetic industry.

1 | INTRODUÇÃO

O mercado mundial de cosméticos é poderoso e dinâmico, impulsionado pelo forte potencial de crescimento do consumo. Esse consumo é sustentado, principalmente, pela expansão das redes sociais, interesse dos consumidores por novos produtos, aceleração da urbanização, aumento das classes média e alta, bem como, pelo crescente número de idosos à procura de produtos para atenuar os efeitos do envelhecimento, proporcionando-lhes um aspeto mais jovem (MARTINS, 2020).

Segundo o provedor de pesquisa de mercado Euromonitor International *apud* Mendonça (2020), o Brasil em 2019 ocupou a quarta posição no *ranking* mundial de consumo de produtos de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC), liderado pelos Estados Unidos, China e Japão. A única alteração no top 10 global, em comparação com 2018, foi a Índia, que superou a França e assumiu a sétima posição.

De acordo com a ABIHPEC (Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos) *apud* SILVA (2021), mesmo durante a crise de 2020 provocada pelo Covid-19 houve crescimento de 6% nas vendas de produtos de cuidado pessoal, cosméticos e perfumaria, entre janeiro e outubro de 2020 em comparação à 2019. Durante a crise, houve uma adaptação do “efeito batom” caracterizado pela elevação do consumo de cosméticos pelo público feminino em crises econômicas, evidenciando a resiliência de tal mercado. As pessoas se viram reclusas em suas casas, contemplando sua própria imagem com maior frequência em inúmeras reuniões virtuais e dispendo de mais tempo para o cuidado com a pele, ocasionando um crescimento de vendas de 102,6 % de máscaras de

tratamento para o rosto.

Nota-se, portanto, que o mercado cosmético cresce constantemente, até mesmo em épocas de crise, mostrando-se muito promissor. Desta forma, impulsiona as empresas a pesquisarem novos produtos e lançá-los, a fim de atender a demanda desse mercado. Conforme Martins (2020), a inovação é uma das fontes mais importantes de vantagem competitiva e pode conduzir as empresas ao desenvolvimento, a melhoria contínua de produtos, serviços e processos. Para a indústria cosmética o quesito inovação é fundamental, haja vista as inúmeras necessidades e exigências dos consumidores e a grande concorrência.

Segundo a Associação Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI), o mercado global vem passando por mudanças tecnológicas e a nanotecnologia representa um novo patamar de conhecimento, levando países como EUA, Japão e até mesmo países em desenvolvimento como o Brasil, a desenharem iniciativas de investimento na área, com intuito de aumentar a competitividade de suas empresas (ABDI, 2010 *apud* FLORÊNCIO; CAMPOS, 2019).

A nanotecnologia é uma das inovações tecnológicas mais representativas deste século. De acordo com Melo e Pimenta (2004); ela consiste em: desenvolver, caracterizar, produzir e aplicar estruturas, dispositivos e sistemas controlando a forma e tamanho desses materiais em nanoescala.

Os cosméticos e dermocosméticos utilizam a nanotecnologia e se diferenciam dos demais pelo fato de seus princípios ativos serem apresentados na forma de partículas em escala nanométrica (1-100 nm) tornando-os mais eficazes. Por este motivo, a indústria aposta cada vez mais alto nessa tecnologia. Entretanto, o mais importante não é o princípio ativo e sim os “carreadores”, por serem responsáveis por entregar a substância no local desejado (CARVALHO, 2019). Os produtos cosméticos antienvhecimento podem agir de diversas maneiras, como por exemplo, no estímulo da renovação celular da pele, na melhoria da hidratação da epiderme, na fotoproteção, na atenuação de rugas, pois estimulam a síntese de colágeno, e podem atuar em sinergia, a fim de proporcionar uma aparência mais jovial ao consumidor (MACHADO; DEVEGILI; MAGNABOSCO, 2016).

Os óleos essenciais e suas diversas características, oferecem inúmeros benefícios aos cosméticos, com suas propriedades antifúngicas, antibacterianas, antioxidantes e a possibilidade de serem utilizados como princípios bioativos na formulação cosmética (RAUT; KARUPPAYIL, 2014 *apud* FERREIRA, 2019). Além da eficácia do produto, existem outros fatores importantes para serem considerados no desenvolvimento de um cosmético como menciona Moussour (2017 *apud* FERNANDES, 2019), a formulação de produtos cosméticos aceitáveis pelo consumidor envolvendo uma série de demandas como: a estética adequada (percepção visual) do produto e as outras características sensoriais precisam ser atingidas para uma boa experiência em uso.

A análise sensorial é definida pela ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

(1993) *apud* Teixeira (2009) como uma “disciplina da Ciência usada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações às características dos alimentos e materiais tal como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, paladar, tato e audição”. Esses atributos sensoriais, tendem a ser percebidos pela aparência, aroma, consistência e sabor (como por exemplo, no caso de brilhos labiais com sabor). Nesse processo, todos os sentidos são envolvidos, determinando a qualidade da sensação que o produto provoca. Essa qualidade sensorial é o resultado da interação entre o indivíduo (suas condições psicológicas, sociológicas e fisiológicas) e as características do produto (BANKUTI; GOMES, 2021). Estes aspectos influenciam diretamente a compra e fidelização do consumidor, assim como apontado na pesquisa de Batista (2020): 90% dos consumidores levam em consideração a textura do produto na hora da compra.

A análise sensorial tem sido utilizada como instrumento de medida científica na avaliação da qualidade de cosméticos. Ela é uma fonte única de informação, porque avalia a aceitação e preferência dos produtos, quanto aos atributos como a aparência, viscosidade, fragrância, espalhabilidade, resíduo graxo e secagem rápida. A aquisição e a continuidade do uso do produto estão relacionadas à sensação provocada no consumidor e pode ser avaliada pela análise sensorial (ISAAC *et al.*, 2012).

Este trabalho tem como objetivo demonstrar a importância da análise sensorial para a produção e comercialização de um cosmético. Sendo os objetivos específicos: investigar os diversos tipos de análises sensoriais e eleger uma delas como mais apropriada, esclarecer como ela é aplicada, produzir e testar um cosmético à base de hidrogel de PVP (polivinilpirrolidona) e PEG (polietileno glicol) contendo nanoemulsão com ativos antienvhecimento através da análise selecionada. Face às considerações anteriores, a pesquisa sobre a análise sensorial justifica-se pois ela é uma ferramenta útil que deve ser utilizada previamente ao lançamento de um produto ao mercado consumidor, de modo a garantir a melhor aceitação do mesmo.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

No preparo das nanoemulsões (Figura 1) foi utilizada a pseudoboemita obtida pelo processo sol-gel, o princípio ativo, o tensoativo e a fase oleosa, de acordo com as seguintes etapas: incorporação do princípio ativo à pseudoboemita (fase aquosa), solubilização do tensoativo com os óleos essenciais (fase oleosa) e, posterior mistura das fases anteriores sob agitação constante.



Figura 1 – Preparo das nanoemulsões.

Fonte: BARBOSA, 2019.

A partir da emulsão anteriormente preparada foi obtida a nanoemulsão por meio da centrifugação das amostras por 15 minutos nas velocidades de 1000 rpm, 2500 rpm e 3500 rpm (MARCHEZI, 2019).

As nanoemulsões foram obtidas nas concentrações de pseudoboemita (3m%) de óleos essenciais (7m%) de acordo com os melhores resultados da literatura (BARBOSA, 2019), e o ativo: ácido mandélico (AM). A concentração dos ativos nas emulsões (2,1 m%) e do polissorbato 20 (Tween 20) está de acordo com a literatura (SHARAD, 2013) e podem ser observados na tabela 1.

Amostras	Composição (% em massa)						
	Ativos	Pseudoboemita (PSB)	Lavanda (OL)	Gerânio (OG)	Palmarosa (OP)	Lemongrass (OLE)	Tween 20
AM1	2,1	3	7				8,8
AM2	2,1	3		7			8,8
AM3	2,1	3			7		8,8
AM4	2,1	3				7	8,8

Tabela 1 – Composição das nanoemulsões.

Fonte: autores, 2022.

Após o preparo, acrescentou-se 3 ml das nanoemulsões apresentadas na Tabela 3 aos hidrogéis contendo 7 m% de PVP, 3 m% de PEG e 1 m% de ágar e as amostras foram colocadas nas placas de petri para testagem no dia subsequente, de modo a evitar contaminação.

Uma vez produzido o cosmético, no dia seguinte, realizou-se um questionário de análise sensorial, utilizando a escala Likert. Estes questionários foram aplicados em funcionários, alunos e professores do Senac Campus Santo Amaro, totalizando 95 respondentes e os dados condensados para análise dos resultados e avaliação da análise sensorial, sua eficácia e aplicabilidade. Esta pesquisa está registrada na Plataforma Brasil no CAAE 31929619.4.0000.0089. Os participantes preencheram um termo de consentimento.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

A escala Likert tem a vantagem de ser facilmente aplicada e dados desejados podem ser obtidos e tabulados de forma descomplicada, pois o entrevistado consegue facilmente expressar seu grau de concordância em relação à afirmação colocada. A aplicação da pesquisa vai de encontro com as afirmações do autor Costa (2011), demonstrando consistência e colaborando para a indústria cosmética.

A absorção de um produto é definida pelo tempo que o mesmo leva para ser absorvido na pele ou não estar mais aparente na pele ((PARENTE; ARES; MANZONI, 2010 apud ANSELMO; VERGÍLIO; LEONARDI, 2020). Em relação a absorção, algumas formulações tiveram uma absorção mais rápida na pele em relação a outras, sensação mencionada pelos participantes da pesquisa. O gráfico 1 apresenta o grau de satisfação quanto à absorção do produto.

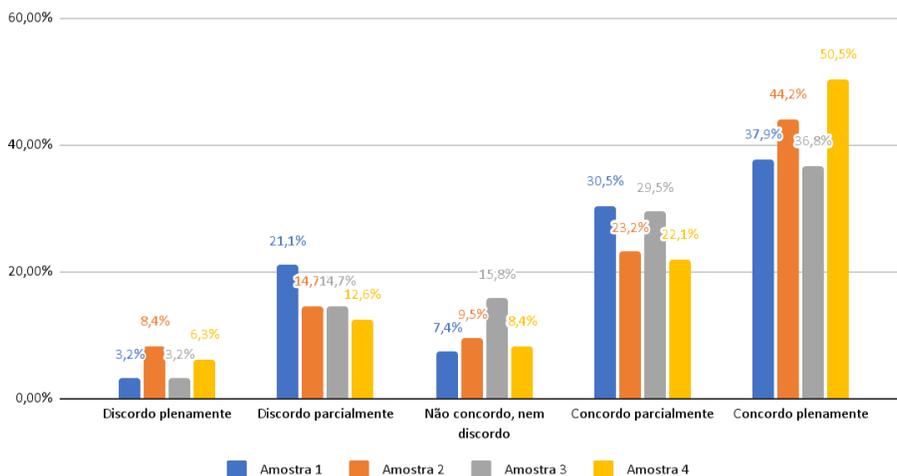


Gráfico 1 - Grau de satisfação quanto à absorção do produto.

O grau de satisfação refere-se à soma da porcentagem de: concordo parcialmente com concordo plenamente.

A amostra 4 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lemongrass) obteve 72,6% de satisfação, posicionando-se em primeiro lugar. A amostra que apresentou grau de satisfação menor foi a amostra 3 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de palmarosa) com a porcentagem de 66,3%.

A espalhabilidade é definida como a expansão sobre uma superfície após um período de tempo (BORGHETTI, 2006). É imprescindível que a espalhabilidade, ou deslizamento, seja adequada para que forneça bem-estar ao consumidor e para a continuidade do tratamento cosmético (SHIRATA, 2016). O grau de satisfação quanto ao deslizamento pode ser observado no gráfico 2.

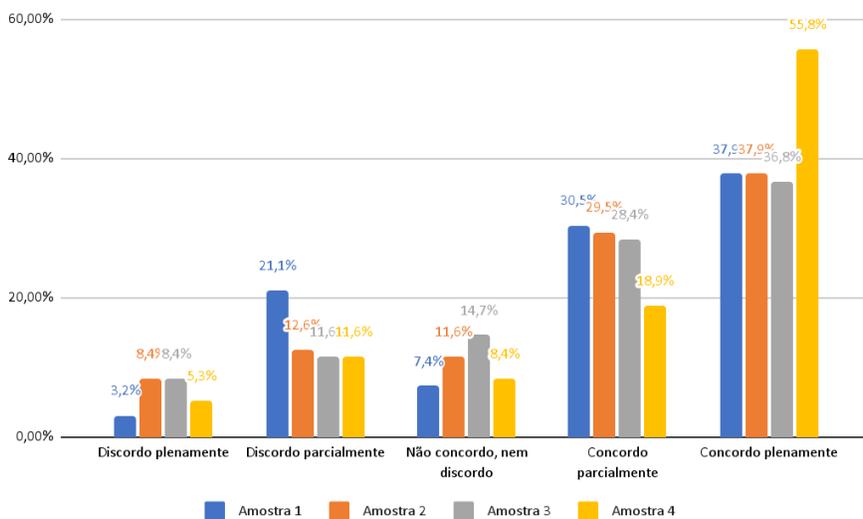


Gráfico 2 - Grau de satisfação quanto o deslizamento do produto.

A amostra 4 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lemongrass) obteve um melhor deslizamento com 74,7% de satisfação. A amostra 3 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de palmarosa) apresentou o menor grau de satisfação quanto ao deslizamento (65,2%).

O aspecto visual em um cosmético é de grande relevância, no momento da escolha do produto, pois o mesmo deve “abraçar” o consumidor desde o primeiro momento, estimulando o máximo dos cinco sentidos: embalagem, cor, consistência e aspecto (KUREBAYASHI, 2019). O gráfico 3 apresenta o grau de satisfação quanto ao aspecto do produto.

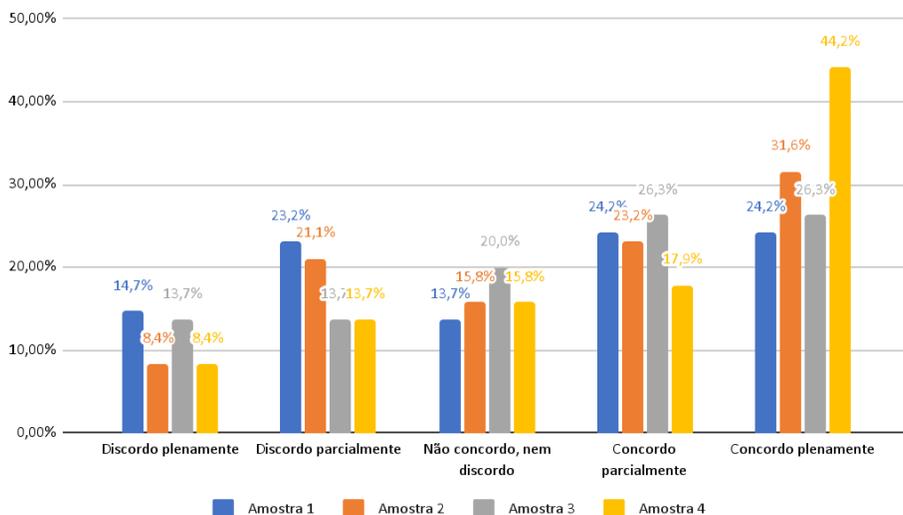


Gráfico 3 - Grau de satisfação quanto ao aspecto do produto.

A amostra 4 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lemongrass) obteve aceitação de 62,1%, enquanto a amostra 1 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lavanda) obteve 48,4%.

O odor é definido pela ABNT (1993) como a propriedade sensorial perceptível pelo órgão olfativo quando certas substâncias voláteis são aspiradas. Ele pode apresentar características como intensidade, persistência e a saturação. A avaliação olfativa é importante não só para produtos fragranciáveis (colônias, perfumes, etc.) mas também para produtos cosméticos de tratamento de beleza - odor pode conferir à formulação um benefício, por exemplo em loções ou cremes de limpeza, em que o perfume caracteriza o frescor (REBELLO, 2016). O gráfico 4 demonstra a avaliação da satisfação das amostras relativas ao odor.

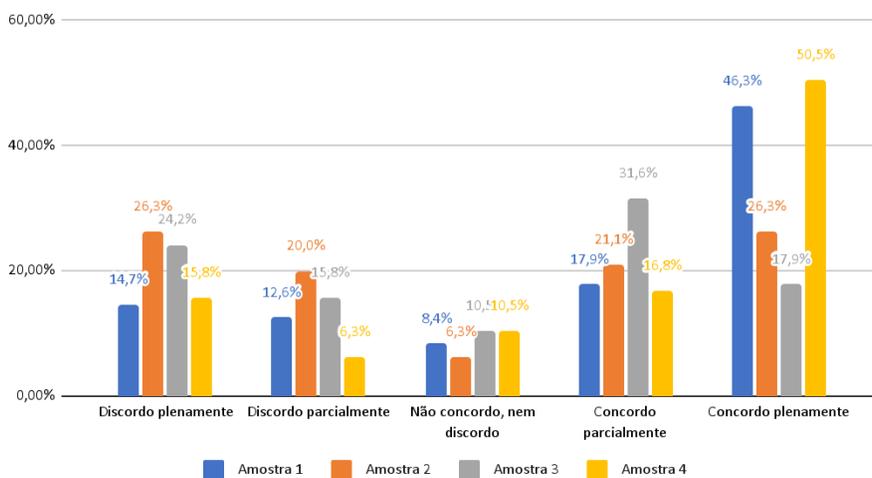


Gráfico 4 - Grau de satisfação quanto ao odor do produto.

A amostra 4 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lemongrass) obteve maior grau de satisfação, com o resultado de 67,3%. A amostra 1 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lavanda) também se destacou no grau de satisfação relativa ao odor, totalizando 64,2% e a amostra 2 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de gerânio) alcançou 47,4% de satisfação.

A sensação que o produto proporciona de suavidade ou maciez refere-se ao conforto que ele traz após a sua aplicação na pele (WORTEL; WIECHERS, 2000 apud ANSELMO; VERGÍLIO; LEONARDI, 2020). O gráfico a seguir demonstra a avaliação quanto a sensação de conforto do produto após a sua aplicação. O gráfico 5 apresenta o grau de satisfação quanto à sensação de conforto do produto.

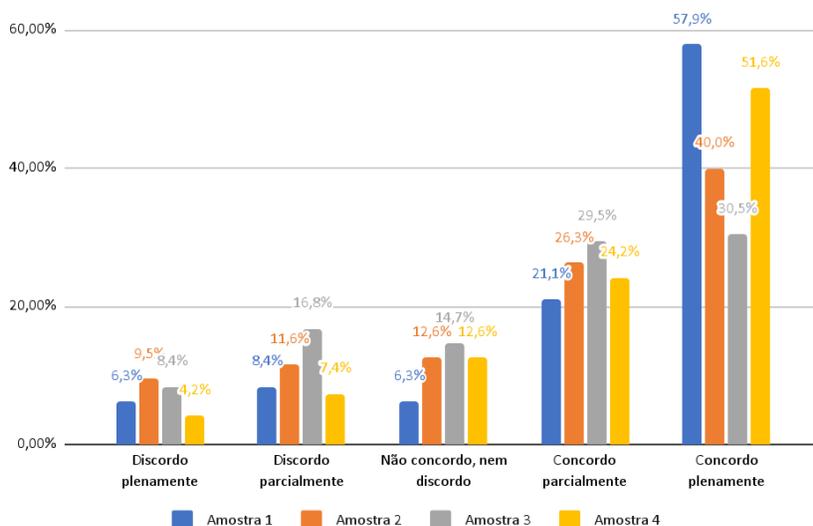


Gráfico 5 - Grau de satisfação quanto à sensação de conforto do produto.

A amostra 1 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lavanda) foi a amostra que obteve maior grau de satisfação quanto ao conforto na pele, com 79%. O gráfico 6 totaliza as informações coletadas para eleger a amostra com maior grau de satisfação em relação aos cinco atributos avaliados.

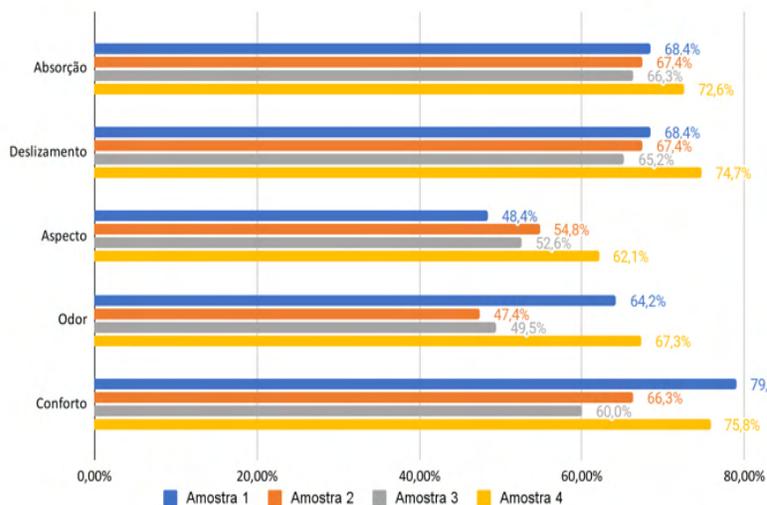


Gráfico 6 - Grau de satisfação geral dos produtos.

A amostra 4 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lemongrass) obteve maior grau de satisfação em todos os quesitos: absorção, deslizamento, aspecto e odor, exceto a sensação de conforto após a aplicação, na qual a amostra 1 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lavanda) teve um resultado melhor. Portanto, com esses dados, pode-se eleger a amostra 4 como a amostra de melhor desempenho.

4 | CONCLUSÃO

A aplicação da análise sensorial proporcionou resultados consistentes, pois foi realizada em uma amostragem considerável, utilizando a escala Likert - a qual se mostrou de simples aplicação, indicando a amostra 4 (hidrogel com ácido mandélico e óleo essencial de lemongrass) como a mais aceitável.

A finalização da pesquisa, possibilitou eleger a formulação cosmética com maior grau de satisfação e enaltecer a importância deste tipo de teste no desenvolvimento de um produto cosmético. Portanto, conclui-se que a análise sensorial é indispensável no processo de desenvolvimento cosmético, influenciando diretamente na escolha do produto.

REFERÊNCIAS

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Métodos de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas** – NBR 12994. Rio de Janeiro: ABNT;1993.

ANSELMO, T. M.; VERGÍLIO, M. M.; LEONARDI, G. R. Análise sensorial de cosméticos. In: XXVII Congresso virtual de Iniciação Científica da Unicamp, **anais eletrônicos**, 2020.

BANKUTI, R. M.; GOMES, J. P. C. A importância da análise sensorial no desenvolvimento de um cosmético. Artigo de iniciação científica, Senac - São Paulo - S.P, 2021.

BARBOSA, I.T. F. **Liberção controlada de bioativos suportados por nanopartículas de pseudoboemita obtidas pelo processo sol-gel**. 2019. 209 f. Tese (doutorado em Engenharia de Materiais e Nanotecnologia) - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2019.

BATISTA, L. G. Valor percebido e a percepção sensorial no consumo de cosméticos: Uma pesquisa descritiva. **IV Encontro Internacional de Gestão, Desenvolvimento e Inovação (edição online)**, Rio de Janeiro - RJ - 2020, 15 f.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n.4, ou/dez., 2006.

CARVALHO, T. Cosméticos à base de Nanotecnologia. **Nanoeach, São Paulo, 28.maio.2019**.

COSTA, F. J. **Mensuração e desenvolvimento de escalas: aplicações em administração**. Rio de Janeiro: Ciência Moderna, 2011.

FERNANDES, E. **Análise sensorial de formulações cosméticas e dermatológicas: desenvolvimento e validação de metodologia.** 118 f. Dissertação de mestrado em Ciências - Clínica da Faculdade médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, S.P., 2019.

FERREIRA, J. F. S. **Nanoencapsulação de óleos essenciais para aplicação cosmética.** 76 f. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra. 2019.

FLORÊNCIO, J. A.; CAMPOS, R. R. de. Estratégias competitivas na indústria de cosméticos. **Revista Interface Tecnológica, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 653-666, 2019.**

ISAAC, V.; CHIARI, B. G.; MAGNANI, C.; CORRÊA, M. A. Análise sensorial como ferramenta útil no desenvolvimento de cosméticos. **Rev.Ciênc.Farm Básica Apl.** São Paulo, n. 33-4, p. 479-488, 2012.

KUREBAYASHI, A.K. Sensorial em cosméticos: novo recurso para proporcionar indulgência e funcionalidade. **Cosmetic Innovation**, agosto de 2019.

MACHADO, M.; DEVEGILI, B.; MAGNABOSCO, V. *Ilex paraguariensis* **Como um potencial ativo cosmético na prevenção do envelhecimento cutâneo facial.** 2016. 22 f. Trabalho de Iniciação Científica, requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Estética. Balneário Cambúriu: UNIVALE.

MARCHEZI, T.T.B. **Preparação e caracterização de um candidato à material de referência de elementos traço em petróleo.** 2019.163 p. Tese (Doutorado em Química Analítica) Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

MARTINS, A. C. D. **Caracterização da inovação na indústria cosmética: estudo de caso L'Oréal.** 99 f. Tese de mestrado em gestão do Instituto Universitário de Lisboa, Portugal, 2020.

MELO, C.P.; PIMENTA, M. Nanociências e nanotecnologia. **Parcerias estratégicas.** v.9, n.18, p.09-22, 2010.

MENDONÇA, E. **Cosmetic Innovation.** Os 10 maiores consumidores de HPPC – 2020 – US\$ Bilhões.

REBELLO, T. **Guia de produtos cosméticos.** 11.ed.rev.ampl. - São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2016.

SHARAD, J. Glycolic acid peel therapy—a current review. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology**, v. 6, p. 281-288, 2013.

SHIRATA, M.M.F.; CAMPOS, P.M.B.G.M. Importância do perfil de textura e sensorial no desenvolvimento de formulações cosméticas. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, vol. 8, núm. 3, 2016, pp. 223-230 Sociedade Brasileira de Dermatologia.

SILVA, R. Como grandes players do segmento cosméticos se reinventaram na pandemia. **Forbes Money, 01 de maio de 2021.**

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”,** nº366, 64:12-21, 2009.

CAPÍTULO 6

BOAS CONDUTAS PARA MINIMIZAR INTERCORRÊNCIAS EM PROCEDIMENTOS ESTÉTICOS FACIAIS COM BIOESTIMULADORES DE COLÁGENO: ÁCIDO POLI-L-LÁCTICO, HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO E POLICAPROLACTONA

Data de aceite: 01/06/2022

Robertha Barata Dias

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade
Taguatinga
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/9684793696420465>

Ana Carolina Souza da Silva

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade
Taguatinga
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/0762518692489025>

Lustarllone Bento de Oliveira

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade
Taguatinga
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/8523196791970508>

Grasiely Santos Veloso

Faculdade Anhanguera – Unidade Asa Norte
Brasília, DF
<http://lattes.cnpq.br/1327517840383992>

Krain Santos de Melo

Universidade do Distrito Federal – UDF
Asa Norte, DF
<http://lattes.cnpq.br/6309826248449032>

Giovanna Masson Conde Lemos Caramaschi

Faculdade Anhanguera de Brasília
Unidade Taguatinga
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/0564379318397946>

Anna Sarah Silva Brito

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade
Taguatinga
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/049385347125700>

Anne Caroline Dias Oliveira

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade
Taguatinga
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/5907117314879891>

Gisele Cirino Cabral

Universidade Estácio de Sá – Unidade São
Luiz
São Luiz, MA
<http://lattes.cnpq.br/2825160229052381>

Ikaro Alves de Andrade

Universidade de Brasília – Darcy Ribeiro
Brasília, DF
<http://lattes.cnpq.br/9506665216259271>

Axell Donelli Leopoldino Lima

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade
Taguatinga
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/8223765221726379>

Breno Piovezana Rinco

Instituto Casa Rara
Curitiba, Paraná, PR
<http://lattes.cnpq.br/0708187926609588>

Pedro Henrique Veloso Chaves

Faculdade LS
Taguatinga, DF
<http://lattes.cnpq.br/7111417304584305>

RESUMO: Com a necessidade de criar procedimentos que minimizem, atenuem ou retardem as expressões fenotípicas naturais do processo de envelhecimento e as imperfeições estéticas, ganha destaque, a forma em como decrescer as complicações previsíveis ou não, destes procedimentos. Este discorre sobre a construção de um rol de boas condutas para minimizar intercorrências com bioestimuladores de colágeno na região da face. Utilizou-se de pesquisa qualitativa e análise de dados, por meio de revisão literária de artigos científicos, bibliografia e pesquisa documental da área de saúde e estética. A literatura revisada é categórica ao dizer que o bioestímulo de colágeno é um procedimento que exige perícia e por tal motivo, deve ser realizado por profissional habilitado. E que estes devem evitar e ou corrigir os efeitos adversos com ética, de forma ágil e quando possível preventivamente. Este trabalho aponta que a situação problema é tangível, pois as intercorrências tendem a decrescer ou serem evitadas quando, o profissional tem conhecimento sólido em anatomia e do sítio anatômico tratado e também na manipulação dos BEC's e de seus insumos, para realização do procedimento estético.

PALAVRAS-CHAVE: Saúde estética. Intercorrência. Bioestimuladores de colágeno. Boas práticas.

GOOD CONDUCTS TO MINIMIZE INTERCURRENCES IN FACIAL AESTHETIC PROCEDURES WITH COLLAGEN BIOESTIMULATORS: POLY-L-LACTIC ACID, CALCIUM DIOXYAPATITE AND POLYCAPROLACTONE

ABSTRACT: With the need to create procedures that minimize, attenuate or delay the natural phenotypic expressions of the aging process and aesthetic imperfections, the way in which to decrease the predictable or not predictable complications of these procedures is highlighted. This discusses the construction of a list of good conducts to minimize complications with collagen bioestimulators in the face region. Qualitative research and data analysis were used, through literary review of scientific articles, bibliography and documental research in the area of health and aesthetics. The literature reviewed is categorical in saying that filling is a procedure that requires expertise and, for this reason, must be performed by a qualified professional. And that they should avoid and or correct adverse effects ethically, quickly and when possible preventively. This work points out that the problem situation is tangible, as complications tend to decrease or be avoided when the professional has solid knowledge in anatomy and the anatomical site treated and also in the handling of fillings and their supplies, to perform the aesthetic procedure.

KEYWORDS: Aesthetic health. Intercurrence. Facial fill. Good practices.

1 | INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios do século XXI é a luta contra o envelhecimento, definida como um conjunto de mecanismos fisiológicos que alteram a capacidade física do corpo, assim como sua aparência. Associado ao aumento da longevidade da população de uma forma geral, esse processo ganha maior visibilidade, principalmente na área de saúde estética.

Evidenciando que a face é parte física do indivíduo, que expressa com grande

notoriedade a ação do envelhecimento natural ou mesmo uma imperfeição estética, os procedimentos vêm ganhando grande destaque intrinsecamente relacionado com o aumento da longevidade e a demanda por esse procedimento, por ser um procedimento minimamente invasivo, é executado por diversos profissionais da área da saúde com essa devida especialização.

Executando esse procedimento com os principais bioestimuladores de colágeno (BE) disponíveis no mercado como: Ácido poli-L-láctico, Hidroxiapatita de Cálcio, Policaprolactona, Polimetilmetacrilato.

Descrivendo seus respectivos manejos e intercorrências possíveis ao decorrer do procedimento estético, o processo empregou diretrizes de boas práticas nos procedimentos. Permitindo assim, agregar cada vez mais, segurança, perícia e alto padrão aos procedimentos estéticos.

Este trabalho norteia-se, na análise de dados e discussão, por meio de revisão literária de artigos científicos, bibliografias de notórios da área de saúde estética e pesquisa documental de intercorrências nos procedimentos com uso de biostimuladores de colágeno intracutâneos. E busca agregar aos profissionais da área e ao cliente valores como satisfação, segurança, confiabilidade e ganho na qualidade de vida, pois imagem pessoal é sim, fundamento de bem-estar, saúde e qualidade de vida. Sendo fator determinante em várias áreas da vida humana.

2 | IMPACTO DO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO TEGUMENTAR

A pele é a barreira anatômica e fisiológica entre o meio ambiente e o organismo, promovendo proteção indispensável contra injúrias químicas, físicas e microbiológicas. Sensível a alterações termoquímicas e ações mecânicas. É constituída por três camadas, epiderme, derme e hipoderme (BENY, 2013).

Com o avanço da tecnologia e da biologia médica em saúde nas últimas décadas, a expectativa de vida humana está aumentando de forma exponencial em todo o mundo, principalmente em países mais desenvolvidos, com expectativas de vida chegando em até 100 anos até 2025, tendo resultado um aumento intrinsecamente relacionado com o acréscimo da população idosa, dessa forma o processo de distúrbios cutâneos associados ao envelhecimento aumenta, em paralelo com a disfunções epidérmicas, incluindo a homeostase de permeabilidade comprometida e reduções nos níveis de hidratação do estrato córneo, bem como elevação no pH da superfície da pele (BARBOSA, 2011).

Este se trata de um processo fisiológico multifatorial que atinge as diferentes camadas da pele e tecidos de sustentação. Na epiderme a proliferação de queratinócitos é retardada, as junções derme epidérmicas estão enfraquecidas. A derme passa por um processo de atrofia e afrouxamento das papilas dérmicas devido à diminuição da celularidade e vascularidade assim como tecido adiposo subcutâneo, que leva diretamente

ao afinamento geral da pele e um enfraquecimento de seu suporte adiposo muscular (SREEDHAR et al; 2020).

Como órgão de barreira exposto a fatores ambientais, a pele sofre o chamado envelhecimento “extrínseco” que está ligado a múltiplos fatores ambientais, um desses fatores ambientais diz respeito à radiação eletromagnética, e especialmente aos raios ultravioletas (UV). Estes podem induzir mutações de DNA e alterar a expressão genética, mas também estimulam a expressão de metaloproteinases (PMPs), enzimas que degradam a matriz extracelular (MEC) e a degradação do colágeno (SILVA; CARDOSO, 2013).

3 I BIOESTIMULADORES DE COLÁGENO (BEC)

O número de alternativas de bioestimuladores de colágeno (BEC) disponíveis no mercado vem aumentando nos últimos anos por ser um procedimento minimamente invasivo. Os produtos empregados nesse tipo de procedimento devem seguir normas e regulamentos para a aplicabilidade segura, como, biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixo risco de hipersensibilidade, apresentar baixa incidência de efeitos colaterais (LIMA; SOARES, 2020).

Um dos BEC mais empregados segundo a literatura é o ácido poli-L-láctico (PLLA) que é composto de partículas de PLLA, carboximetilcelulose sódica e manitol apirogênico, estimulando a neocolagênese.

Assim como hidroxiapatita de cálcio (CaHA) que vem sendo empregado por biomédicos e profissionais da saúde estética como opção viável de material para o bioestímulo de colágeno em plano subdérmico. A CaHA é composta de microesferas suspensas em gel aquoso de glicerina e carboximetilcelulose de sódio (CMC), o gel aquoso é substituído por fibroblastos de matriz extracelular, sua alta elasticidade e a viscosidade conferem à CaHA a capacidade de ser moldada e contornada no local injetado.

Os BEC são aplicados com agulhas ou cânulas, sendo o segundo instrumento o mais usual e seguro. As opções de anestésias utilizadas para realização desse procedimento são: tópica, bloqueios, infiltrativas ou associações (LARGURA, 2019).

A Policaprolactona (PCL) é composta por microesferas de dimensões entre 25 – 50µm, são totalmente esféricas e lisas, com tamanho uniforme. Após a injeção nos tecidos moles, há uma leve correção imediata no local. O gel carreador de CMC é gradualmente reabsorvido por macrófagos, enquanto as microesferas de PCL desempenham a principal característica do produto, a estimulação de novo colágeno. (LIMA; SOARES, 2020).

3.1 Ácido poli- L- láctico (PLLA)

Segundo Lima e Soares (2020) O produto é composto de partículas de ácido poli-L-láctico, carboximetilcelulose sódica e manitol apirogênico, sendo um estimulador de neocolagênese, com resultados que perduram por cerca de 2 anos. “Derivado da fermentação da dextrose do milho, o ácido poli-L-láctico é uma molécula pesada (140 KDa),

cristalina, medindo cerca de $2\mu\text{m}$ a $50\mu\text{m}$ de diâmetro, que, sob hidrólise tecidual não enzimática, se degrada a monômeros de ácido láctico que são fagocitados por macrófagos e degradados a glicose e gás carbônico, este último eliminado por via respiratória, possui caráter biocompatível e biodegradável, e, além disso, teste alérgico não se faz necessário (BENY, 2013).

Uma vez injetado, as grandes partículas de PLLA atraem muitos macrófagos (que por não conseguirem fagocitar as partículas, unem-se formando outro tipo de célula inflamatória maior, chamada de Célula Gigante Multinuclear), linfócitos e fibroblastos. Uma cápsula é formada em torno de cada microesfera individual à medida que o PLLA é metabolizado, resultando no aumento da deposição das fibras de colágeno pelos fibroblastos, tendo como resultado um aumento subsequente da espessura dérmica (BARBOSA, 2011).

Após sua aplicação, mudanças são prontamente observáveis, correspondentes ao volume do diluente do produto, no entanto, essas desaparecerão com cerca de dois a três dias, até absorção completa do diluente, pois o PLLA não é agente preenchedor, e sim um estimulador de colágeno, que tem seu efeito de forma gradual e progressiva (SILVA, 2013).

3.2 Hidroxiapatita de cálcio (CaHA)

A CaHA acresce volume os tecidos moles faciais como efeito secundário do bioestímulo de colágeno, melhorando o aspecto geral da face relacionado a sustentação e bioestímulo de colágeno. A CaHA consiste em 30% (dependendo do fabricante e apresentação do produto) de microesferas de CaHA e 70% de gel de CMC, um derivado da celulose solúvel em água. Após a injeção, o gel de CMC é rapidamente decomposto, enquanto as microesferas de CaHA atuam como uma espécie de arcabouço para o colágeno recém sintetizado. Tendo ação tardia sendo substituído por tecido conjuntivo autógeno ou neocolágeno (WOERLE, 2004).

A neocolagênese já pode ser observada na quarta semana e perdura até, pelo menos, 12 meses após a injeção. A alta elasticidade e a viscosidade conferem à CaHA a capacidade de ser moldada e contornada no local injetado dependendo da concentração. Sua aplicação pode ser feita na derme profunda e nos planos subcutâneo e supraperiosteal. O volume a ser injetado varia conforme o local e a extensão do problema em questão, bem como o grau de envelhecimento facial (LARGURA, 2019).

3.3 Policaprolactona (PCL)

Comercialmente conhecido como Ellansé[®] é um bioestimulador à base de policaprolactona composto por microesferas de PCL em um veículo aquoso de CMC. Essas microesferas de PCL possuem dimensão entre $25\mu\text{m}$ - $50\mu\text{m}$, são totalmente esféricas e lisas, com tamanho uniforme. (MELO, 2017).

Após a injeção nos tecidos moles, há uma correção imediata no local, tendo o volume perdido em algumas semanas, quando o gel carreador de CMC é gradualmente

reabsorvido por macrófagos, enquanto as microesferas de PCL desempenham a principal característica do produto, a estimulação de novo colágeno, que substitui o volume do transportador reabsorvido em torno das microesferas (LIMA; SOARES, 2020).

4 | INTERCORRÊNCIAS E SEU MANEJO

No contexto dos procedimentos estéticos o número de procedimentos não cirúrgicos apresentou acréscimo nos últimos anos devido não apenas ao aumento de opções de materiais para bioestimuladores disponíveis, mas, também devido à maior quantidade de profissionais com permissão para executar esse procedimento em questão. Com isso existe um aumento intrínseco das complicações decorrentes desse procedimento, sendo as intercorrências mais comuns: Hematomas, que tem sua causa ruptura dos vasos, estagnação do sangue e ocorrendo abaixo do local da aplicação. Edemas, em casos de grandes hemorragias, excesso de produtos ou técnicas de aplicação erradas podem levar ao surgimento de nódulos endurecidos, mais comuns nos BEC que se baseiam em hidroxiapatita de cálcio e policaprolactona com início imediato (KOH; LEE, 2019).

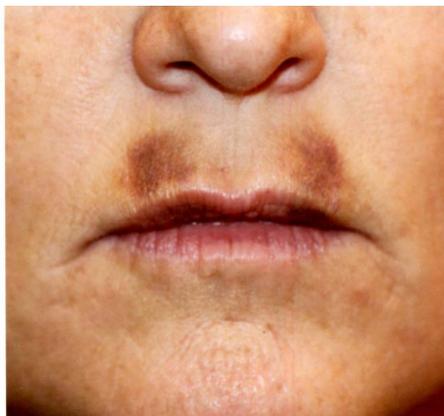


Figura 1 Hematoma após preenchimento.

Fonte: Koh; Lee (2019).

Os granulomas ou nódulos são intercorrências precoces, na maioria das vezes, mas também pode acontecer tardiamente, anos após a injeção do material cosmético, normalmente acontece por aplicação superficial (GUTMANN, 2018).



Figura 2 Granuloma.

Fonte: Koh; Lee (2019).

O eritema, pode ocorrer nos pós imediato ou tardio após a aplicação dos BEC. Por causarem uma inflamação, de certa forma controlada é esperado e tende a sumir após 2 a 3 dias. Em casos de eritema prolongado se faz necessária uma avaliação criteriosa do profissional para averiguação de algum tipo de provável hipersensibilidade.



Figura 3 Eritema prolongado.

Fonte: Koh; Lee (2019).



Figura 4 – Marcação de pele, Cicatriz.

Fonte: Koh; Lee (2019).

Quando a técnica empregada é errada ou se aplica excessivamente o produto para bioestímulo, podem aparecer marcações na pele que se assemelham a vincos como uma estria dispersa, porém menor (KOH; LEE, 2019).

Reação alérgica, pode surgir imediatamente ou tardiamente até seis meses. Sendo tratada com cremes esteroides, anti-histamínicos, ou infiltração intralesional de corticoide (GUTMANN; DUTRA, 2018).



Figura 5 Reação alérgica induzida por injeção intradérmica com preenchedor.

Fonte: Koh; Lee (2019).

Migração, acontece de imediato ou tardiamente tendo múltiplas causas, atividade muscular, gravidade, má técnica, excesso de material injetado, realização da injeção sob pressão, deslocamento induzido por pressão, propagação linfática e intravascular, estas são mais relacionadas (KIM; AHN et al., 2014; JORDAN; STOICA, 2015).

Efeito Tyndall, nas aplicações em planos mais superficiais como derme e epiderme, e quando houver dano vascular, deixa o produto mais visível sendo a causa de um pigmento de coloração azulada na relação de refração da luz (ARAÚJO, 2019).

Obstrução vascular, pode ser localizada ou generalizada, complicações graves como cegueira e embolia cerebral acontecem devido a obstruções vasculares extensas. As obstruções vasculares localizadas são geralmente causadas por compressão em pequenos vasos, já as obstruções generalizadas por embolia, ocorrem em áreas maiores. São fatores de risco de embolia: a aplicação de produtos com agulhas, injeções de alta pressão e aplicação em sítio anatômico altamente vascularizado (KOH; LEE, 2019).

Infecção, de acordo com Urdiales-Gálvez (2018 apud ARAÚJO, 2019, p.21) A infecção dá-se pela contaminação do BEC ou má antisepsia da área a ser bioestimulada.

As infecções de início precoce apresentam endurecimento, eritema, sensibilidade e prurido, podendo ser confundidas como respostas transitória pós-procedimento. Geralmente ocorre devido a patógenos presentes na pele.



Figura 6- Infecção.

Fonte: Koh; Lee (2019).

Necrose, pelo dano irreversível ao tecido, seguido por alterações isquêmicas. Inicia-se com suprimento vascular reduzido, devido uma embolia ou compressão direta de pressão adjacente. E tem como fator de risco as aplicações mais superficiais, pele mais espessa e ou dura, e ou firme, maior quantidade de produto, maior edema e menor diâmetro da agulha ou cânula. (KOH; LEE, 2019).



Figura 11- Necrose.

Fonte: Koh; Lee (2019).

5 | BOAS CONDUTAS PARA MINIMIZAR INTERCORRÊNCIAS NA APLICAÇÃO DE BIOESTIMULADORES DE COLÁGENO

A atividade em saúde estética neste capítulo foi norteada em fundamentos de boas práticas para decrescer as intercorrências com os principais produtos utilizados como BEC. Rol destas, pontuou-se em Multiprofissionais e o Tempo de Formação; Produto; Área de aplicação e Técnica.

O bioestímulo de colágeno é um procedimento estético não cirúrgico pertencente a área de saúde estética, é executado entre multiprofissionais de saúde. Eles realizam os procedimentos estéticos minimamente invasivos não cirúrgicos respaldados por suas resoluções, sendo estas respectivas a cada conselhos. Enfermeiros COFEN N° 529/201; biomédicos, CFBM N° 197/2011 e 241/2014; farmacêuticos CFF N°616/2015 e dentistas CFO N° 616/2019 tendo sua específica habilitação.

Portanto, o exercício da prática de procedimentos estéticos, são devidamente previstos no âmbito dos atos normativos regulamentadores dos respectivos conselhos, não caracteriza o crime de exercício ilegal da medicina (art. 282 do código penal- CP), uma vez que o profissional age ao abrigo de norma presumivelmente válida (MPGM SAUDE, 2021, p 40).

As áreas de riscos das aplicações com BEC são basicamente as estruturas com maior quantidade de vasos e nervos (KOH; LEE, 2019).

Também é valido destacar que há um grande risco de lesão do vaso, quando os produtos utilizados como BEC são injetados superficialmente, pois um número grande de vasos corre mais superficialmente. Assim, Koh e Lee (2019) destacam algumas artérias com relevância clínica. São elas: A. supraorbital, A. supratroclear, ramo nasal lateral da A. facial e A. nasal dorsal. Todas em destaque na figura 12.

Na região frontal colorida de azul claro, "a pele, o subcutâneo, o músculo e aponeurose juntos resultam numa espessura relativamente fina situada sobre estruturas ósseas e qualquer BEC pode resultar em nódulos ou formações lineares visíveis." (TAMURA, 2013) Nessa área "A. supraorbital também surge da carótida interna, de modo que o material injetado no vaso pode causar cegueira ou infarto cerebral" (KOH; LEE, 2019).

Koh e Lee (2019) são contundentes na atenção do uso de BEC que sejam adjacentes ou tangentes aos três vasos que surgem da A. carótida, esses são A. supraorbital, A. supratroclear e A. dorso nasal. Pois o fator de gravidade é elevado quando comprometido em procedimento. Suas complicações podem causar cegueira. Ainda na figura 12, de cor amarelo a região da glabella, as complicações continuam persistentes e mais severas, agora neste sítio pode ocorrer não só a cegueira, mais necrose cutânea e infarto cerebral devido a embolia.

A raiz e a ponta nasal ilustrados de roxo, tem espessura diferentes. A primeira tem dimensão mais fina e a pele não está conectada à camada SMAS (Sistema Muscular

Aponeurótico Superficial).

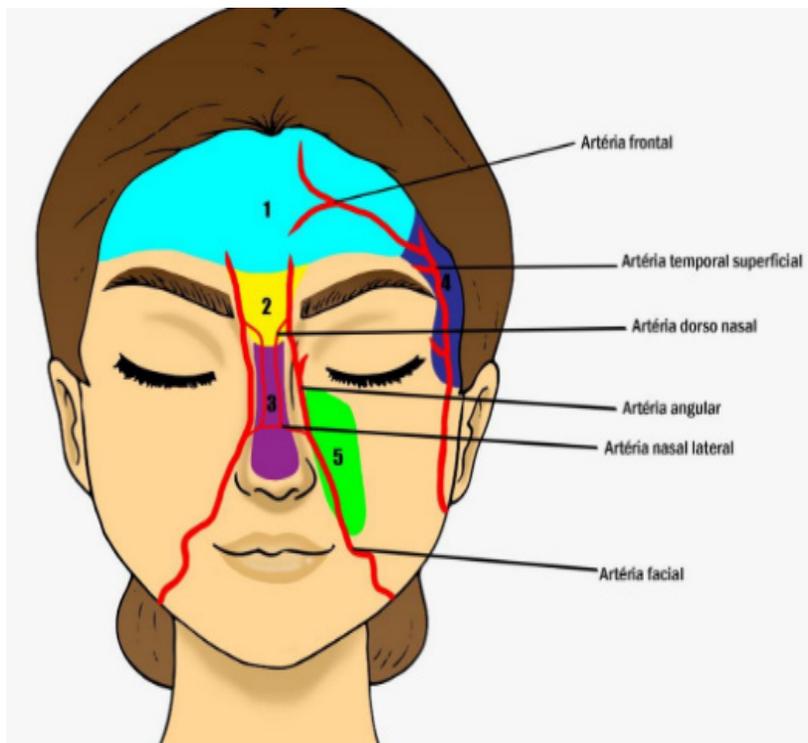


Figura 12- Região de risco acentuado grande vascularização.

Fonte: Faria; Junior (2020).

Pintado de verde o sulco nasolabial, tem um número acentuado de procedimentos, sendo adjacente a Artéria nasal lateral que é um ramo da A. facial essa, passa superficialmente pelos M. elevador do lábio superior e o da asa do nariz, artéria nasal lateral cruza a região pré-maxilar em sentido superior do sulco nasolabial assim, as injeções nesta região tendem a danificar este vaso podendo ocorrer necrose da ponta do nariz, da borda alar (KOH; LEE, 2019).

Marcada pela cor azul escuro na ilustração acima região da têmpora. Este sítio apresenta riscos devidos à presença da artéria temporal superficial, além do nervo e das veias (TAMURA, 2013).

5.1 Anamnese e orientação

Uma anamnese bem-feita compreende históricos de procedimentos, pesquisa de uso de medicação, informação de comorbidades e alergia a alguma substância e avaliação clínica. É feita investigação da insatisfação do cliente, o mesmo deve ser orientado sobre a técnica, a estratégia a ser executada e seus riscos. O cliente deve ser esclarecido e

assinar termo de consentimento. O registro de fotodocumentação acontece antes e pós procedimento (ESSA, 2018).

5.2 Antissepsia

A previa remoção de maquiagem e higienização da pele, seguidos de assepsia com uso do álcool a 70%, iodo, ou clorexidina 2% degermante, deve anteceder os procedimentos invasivos não cirúrgicos sustentam o uso de clorexidina com base de álcool para antissepsia (ALMEIDA; et. al 2020).

5.3 Manipulação de agulhas e cânulas

Com base nas diretrizes preventivas deve-se fazer uso de cânulas. Pois agulha com diâmetros menores podem entrar no vaso e acarretar embolia. O controle da pressão também tem atenção, já que a pressão alta quando se faz uso de agulha com diâmetros menores é uma das causas de cegueira e necrose. A compressão das artérias é uma técnica para prevenir a regurgitação das artérias. O sentido da injeção deve ser paralelo em direção proximal para distal com exceção da glabella onde a direção é oposta (KOH; LEE, 2020). Cânulas também são menos propícias para lesionar o vaso devido sua ponta romba, atentar para uso de cânulas com calibres maiores.

5.4 Aspiração

Técnica de grande discursão, a aspiração é muito válida, quando o sítio anatômico tem vasos mais calibrosos e mais superficiais. No caso da face, são exemplos as A. nasal, supraorbital e dorsal. É válido destacar que há estudos cujo agulha não permanece inerte durante o procedimento, e ainda acrescido de difícil puncionamento quando a mesma está com o BEC, nestas condições a técnica não deve ser usada com agulhas de menor diâmetro (KOH; LEE, 2020).

Silva; Cardoso (2013) apoiados no estudo Vegas apontaram que maiores diluições de PLLA têm sido ministradas passando de 3 ml é chegando até 11 ml de água destilada, quando o ácido poli-L-láctico for usado na área periorbitária. Os casos clínicos daquele estudo, compreenderam 4 casos de equimose no local da injeção e 1 caso de nódulos na região periorbitária, onde havia sido realizada injeção ponto a ponto, que surgiram 15 dias após o procedimento.

Silva; Cardoso (2013) também explanam a relação da profundidade da injeção, já que, de acordo com a área a ser tratada se difere. Assim exemplificando o sítio anatômicos. Para tanger uma prevenção adequada devem ser feitos uso de técnicas apropriadas, conhecimento anatômico, sempre manter as estruturas nobres da área do procedimento, o uso de BEC na área adequada e dosagem segura.

A policaprolactona só deve ser utilizado por profissionais de saúde, com experiência. Os insumos para o procedimento com injeção subcutânea são seringa, BEC, cânula, devido ao diâmetro da agulha fazer anestesia local ou tópica na área da injeção, essa é

discricionária ao aplicador, também deverão ser feitas a antissepsia. Remover o excesso de PCL que estiverem na superfície dos encaixes rosqueáveis da seringa luer lock com gaze estéril. Empurre lentamente o êmbolo da seringa até que o PCL saia pela extremidade da cânula. Localize o local inicial para o implante (CHRISTEN (2000)).

O tecido cicatricial e a cartilagem podem ser difíceis ou impossíveis de tratar. Evite, se possível, passar através destes tipos de tecido ao avançar a cânula; A quantidade injetada irá variar dependendo do paciente, do local e extensão da restauração ou aumento desejado, PCL deve ser injetado subdermicamente. Insira a cânula com a abertura para baixo aproximadamente a 30 da pele. A cânula deve deslizar sob a derme até o ponto que você deseja iniciar a injeção. Isso deve ser facilmente palpável com a mão não-dominante (CHRISTEN (2000)).

6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O capítulo contribuiu para a formulação do rol de procedimentos para evitar, identificar e corrigir eventos adversos com bioestimuladores faciais. Neste processo norteada nos pilares de compreensão das estruturas anatômicas envolvidas, o impacto do processo de envelhecimento e as intervenções estéticas incluindo a aplicação de BEC. Ratifica-se que os achados exposto no capítulo se intencionou em agregar segurança perícia e alto padrão aos procedimentos de bioestímulo de colágeno no sítio da face. Foi possível entender que o problema na sua maior parte dar se pelo uso incorreto em relação a área de aplicação, a quantidade aplicada e técnica exercida. Necessitando sempre de formação profissional adequada para a realização dos procedimentos assim como a resolução em casos de intercorrências com os pacientes.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Ada. *et al.* Diagnóstico e tratamento dos eventos adversos do ácido hialurônico: recomendações de consenso do painel de especialistas da América Latina. 2017. Artigo (SurgicalandCosmeticDermatology, v. 9, n. 3, p. 204- 213). Redalyc.org sistema de comunicação científica. 2017. Disponível em : Diagnóstico e tratamento dos eventos adversos do ácido hialurônico: recomendações de consenso do painel de especialistas da América Latina (unam.mx). Acesso em 15.10.2021

ARAÚJO, Vania. Ácido hialurônico injetável e suas possíveis complicações como preenchedor facial.2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado de Biomedicina) Universidade FEEVALALE, Novo Hamburgo, RS, 2019 Disponível em: <https://biblioteca.feevale.br/Vinculo2/000020/000020a6.pdf>. Acesso em: 15.ago.2021.

BARBOSA, Fernanda. Modelo de impedância fracional para resposta inflamatória cutânea. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) -Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomédicina, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: peb.ufrj.br/teses/0140_2011_6_29.pdf. Acesso em: 19.04.2021.

BENY, Mariana. Histologia e fisiologia da pele. 2013. Artigo (Serie fundamentos da cosmetologia.) Cosmetics&Toiletries Brasil, Vol. Nº 25, São Paulo, 2013. Disponível em: www.cosmeticsonline.com.br/ct/painel/class/artigos/uploads/14dbc-Histologia-e-fisiologia-da-pele_Ed-mar_abr-2013.pdf. Acesso em:

BRASIL. ANVISA, **Procedimentos estéticos**. Anvisa esclarece sobre indicações do PMMA. Substância sintética é utilizada com diversas finalidades, inclusive na área da saúde. Brasília, DF, set, [2018]. Disponível em: www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/anvisa-esclarece-sobre-indicacoes-do-pmma. Acesso em: 22.04.2021.

BRASIL. Ministério Público do Estado de Minas Gerais. **Parecer Jurídico CAO Saude/Procon Estadual Nº 01/2021**. Disponível em: <http://www.abrafidef.org.br/> Acesso em:15.09.2021.

BRASIL. Tribunal de Justiça São Paulo. **Acórdão Nº4000488-87.2013.8.26.0564**. São Paulo:TJSP. 9ª Câmara de direito privado do tribunal de justiça de São Paulo, 30 set. 2014. Disponível em: www.tjsp.jusbrasil.com.br/jurisprudencia/144426432/apelacao-apl-40004888720138260564-sp-4000488-8720138260564/inteiro-teor-144426443. Acesso em:29.04.2021.

COIMBRA, Daniel; URIBE, Natalia; OLIVEIRA, Betina. Quadralização facial no processo do envelhecimento.2014. Artigo de Revisão (Sociedade Brasileira de Dermatologia) Review articles. Brasil, Rio de Janeiro, Vol.º6. Nº1. Dez. 2014. Disponível em: www.surgicalcosmetic.org.br/detalhe-artigo/318/Quadralizacao-facial--no-processo-do-envelhecimento. Acesso em 20.04.2021.

COMUNIDADE HOF,Técnicas de injeções para preenchimento facial. Matéria (blog) 2021. Disponível em: <https://comunidadehof.com.br/blog/comunidade-hof-um-espaco-nosso>. Acesso em 15.10.2021.

DERMATO PATOLOGIA, Sergipe: Universidade federal de Sergipe e Universidade Tiradentes e Centro Universitário Tiradentes, 2021. **Histologia da pele**. Disponível em: dermatologia.com/histologia. Acesso em 17.04.2021.

ESSA:A importância da Anamnese na Estética. Matéria (Beleza & Estética, Carreiras, Saúde) editora essa 2019.Disponível em: <https://blog.essa.g12.br/2018/03/19/a-importancia-da-anamnese-na-estetica/>. Acesso em 15.10.2021.

FILLER-INDUCED Hypersensitivity Reactions, Granuloma, Necrosis, and Blindness. In: KOH , Ik soo; LEE, Won. **Filler Complications: Filler- Induced Hypersensitivity reactons, Granuloma, Necrosis and Blindness**. 1. ed. Springer, Singapore: Springer, 2019. ISBN 978-981-13-6639-0.

GUTMANN, Ivana; DUTRA, Robertson Reações adversas associadas ao uso de preenchedores faciais com ácido hialurônico. 2018. Artigo (Portal de Periódicos nº11 jan-abr.) Tuiuti: ciências e cultura. Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2018 Disponível em: <https://interin.utp.br/article/download>. Acesso em :10.09.2021

KIM JooHyun, et al. Treatmentalgorithmofcomplicationsafterfillerinjectio: basedonwoundhealing process.2014. Artigo (JournalofKorem medical Science) PME US Nationallibraryof medicine Nationalinstitutesofhealth.USA, 2014 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4248003/>. Acesso 30.09.2021

KOL, Ik Soo; LEE, Won. **Complicações em Preenchimentos**. Reações de hipersensibilidade, Granuloma, Necrose e Cegueira Induzidos por Preenchimento. Nova Odessa: Napoleão, 2020.

LARGORA, Luciula. A versatilidade da hidroxiapatita de cálcio. Matéria **Revista Faces Práticas orofaciais integrados**. São Paulo, set.2019. Disponível em: <https://facemagazine.com.br/a-versatilidade-da-hidroxiapatita-de-calcio/>. Acesso em 24.04.2021.

LIMA, Natália; SOARES, Marília. Utilização dos bioestimuladores de colágeno na harmonização orofacial. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Odontologia) -Centro Universitário Maurício de Nassau, Pernambuco, RecifeDisponível em: www.revistas.usp.br/clrd/article/download/165832/161325. Acesso em 25.04.2021.

PORTAL DA EDUCAÇÃO: Pele o maior órgão do corpo Humano. Matéria plataforma EAD **Enfermagem**. Brasil, 2021. Disponível em: [siteantigo.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/enfermagem/pele -o- maior-orgao-do-corpo-humano/24015](http://siteantigo.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/enfermagem/pele-o-maior-orgao-do-corpo-humano/24015) Acesso17.04.2021.

SILVA, Rosângela; CARDOSO, Gustavo. Uso do ácido poli-L-láctico como restaurador de volume facial. 2020. Artigo (Revista Brasileira de Cirurgia Plástica Vol. Nº 28 (2). (pag. 223 a 226)) Clínica CliniSer. Disponível em: www.scielo.br/pdf/v28n2a09.pdf. Acesso em 20.04.2021.

SREEDHAR, Annaporna.; AGUIRRE, Leopoldo; SINGH, Keshav. **Mitochondria in skinhealth, aging, anddissease**. Pubmed. Disponível em: pubmed.ncbi.nlm.gov/32518230. Acesso em16.04.21

TAMURA, Bhertha. Topografia facial das áreas de injeção de preenchedores e seus riscos. 2013. Artigo (SurgicalandCosmeticDermatology, v. 5, n. 3, p. 23-48). Redalyc.org sistema de comunicação científica.2013 Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=265530932008>. Acesso:30.09.21

VARGAS, André; AMORIM, Natale; PINTAGUY, Ivo. Complicações tardias dos preenchimentos permanentes. 2009. Artigo (Revista Brasileira de Cirurgia Plástica v. 24, n. 1, p.71-81) Instituto Ivo Pitanguy, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 2009. Disponível em: <http://www.rbc.org.br/details/447/pt-BR/complicacoes-tardias-dos-preenchimentos-permanentes>. Acesso em :15.10.2021.

WOERLE, Birgit; HANKE, William; SATTLER, Gerhard. **Poly-L-lacticacid: a temporaryfiller for soft tissueaugmentation**. J Drugs Dermatol. 2004;3(4):385-9. Disponível em: pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15303782/. Acesso em 29.04.21

CAPÍTULO 7

Melaleuca armillaris (Sol. Ex Gaertn.) HYDROLAT: USE IN RAT SKIN WOUND HEALING AND BLOOD ANALYSIS

Data de aceite: 01/06/2022

Erna Elisabeth Bach

Pesquisadora Científica aposentada, Secretaria
da Agricultura
Santo André, São Paulo

Andreia Aparecida Oliveira Silva

Professora Curso de Bimedecina, Faculdade
Estacio de Sá
Santo André, SP

Edgar Matias Bach Hi

Professor UNILUS, Núcleo Acadêmico
Experimental Bioquímica (NABEX)
Santos, SP

Rommel Alexandre Sauerbronn da Cunha

Florestamento Nobre
Ibiúna, São Paulo, Brazil

Nilsa Sumie Yamashita Wadt

Professora UNIP, Instituto Ciências da Saúde,
SP

ABSTRACT: *Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertn.) Sm was introduced in Brazil from Australia and is commonly known as the honey bracelet. The trees reach 5m in height, growing in sandy soil with low water retention capacity. The objective of the present work was to evaluate the effect of the *Melaleuca* leaf hydrolate on wound healing in rats, as well as to evaluate the blood of the animals by biochemical tests. The objective of the present work was to evaluate the effect of the *Melaleuca* leaf hydrolate on wound healing in rats, as well as to evaluate the blood of the

animals by biochemical tests. The leaves were collected from trees in Piedade, SP, brought to the laboratory in a Styrofoam refrigerator and the oil was distilled. After oil separation, the hydrolate was removed and the presence of 0.3% of oil was confirmed, containing 91.48% of 1,8 cineol and antioxidant activity equivalent to 494 μmol Trolox. A gel with 10% of hydrolate was prepared. After approval by the Ethic Committee, 15 adult male Wistar rats (weight about 200-250g) were used and divided into three groups. The animals in the first group were treated with 1mL of the 10% hydrolate gel, those in the second group with 1mL of distilled water gel, and those in the third group with a thin layer of fibrinase. Daily application was performed on a 4 cm^2 square wound on the dorsal region of each animal. The wound was evaluated macroscopically in the predetermined periods (0, 2, 7, and 14 days). The macroscopic analysis of the evolution of the wound aspect and measurement of wound healing retraction was performed by digital planimetry. The blood biochemical test showed no difference, demonstrating that the hydrolate penetrates into the skin but has no action on the biochemical metabolism. Partial results of the healing indicated a statistical difference in the areas of the wounds treated with *melaleuca* when compared to the water-gel control. In conclusion, *melaleuca* hydrolate may come to assist in wound healing and be an alternative in the treatment of wounds.

KEYWORDS: Hidrolate of *Melaleuca*, rats, wound healing.

RESUMO: *Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertn.)

Sm, foi introduzida no Brasil oriunda da Austrália e comumente conhecida como Bracete de Mel. As árvores chegam a 5m de altura, crescendo em solo arenoso ou com rochas com baixa capacidade de retenção de água. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do hidrolato das folhas de Melaleuca, sobre a cicatrização de feridas em ratos, bem como, avaliar por testes bioquímicos o sangue dos animais. As folhas foram coletadas de árvores em Piedade, SP, trazidas ao laboratório em geladeira de isopor e realizada a destilação do óleo. Após a separação do óleo, foi retirado o hidrolato e confirmada a presença de 0.3% do óleo contendo 91,48% de 1,8 cineol e, atividade antioxidante equivalente a 494 umol Trolox. Gel foi preparado contendo 10% do hidrolato. Após aprovação no Comitê de Ética, foram utilizados 15 ratos da linhagem Wistar, machos, adultos (peso cerca de 200-250g), divididos em três grupos. Os animais do primeiro grupo foram tratados com 1mL do gel a 10% do hidrolato, os do segundo grupo, com 1mL de gel-água destilada e os do terceiro com uma fina camada de fibrinase. Foi realizada aplicação diária sobre ferida quadrada de 4cm² na região dorsal de cada animal. A avaliação da ferida foi feita macroscopicamente nos períodos pré-determinados (0, 2, 7, e 14 dias). A análise macroscópica da evolução do aspecto da lesão e medida da retração cicatricial da ferida foi realizada por planimetria digital. O teste bioquímico do sangue não apresentou nenhuma diferença demonstrando que o hidrolato penetra na pele mas não chega a ter ação no metabolismo bioquímico. Resultados parciais da cicatrização indicaram uma diferença estatística nas áreas das feridas tratadas com melaleuca quando comparadas com controle gel-água. Como conclusão o hidrolato de melaleuca poderá a vir auxiliar na cicatrização e ser uma alternativa no tratamento de feridas.

PALAVRAS-CHAVE: Hidrolato de Melaleuca, ratos, cicatrização.

1 | INTRODUCTION

Melaleuca, genus of *Myrtaceae* family, included 100 species that occur in Australia and Islets from Indic Ocean. The plant is known as “Tea Tree”, for *Melaleuca alternifolia* and “honey bracelet” for *Melaleuca armillaris* and produces volatile oil formed by a complex mixture of compounds obtained by steam distillation from leaves. The chemical studies of the volatile oil have reported about 100 constituents such as the actives terpinen-4-ol, α -terpineol and 1,8 cineole (Cox et al., 2001).

In Brazil, many different species from *Melaleuca* have been introduced as fresh tea tree plants, such as: *M. alternifolia* Cheel, *M. leucadendra* (L.) L., *M. armillaris* Sm., *M. quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake, *M. cajuputi* Roxb. subsp. *cajuputi* Powell and *M. cajuputi* Roxb. subsp. *platyphylla* (Lemos et al, 2012; Silva et al., 2010). The species can be identified through key characters described by “ANH - Australian national herbarium (ALA, 2012)” and confirmed by photos of “ALA - Atlas of living Australia (ANH, 2012)” as well as by oil composition. The composition of tea tree oil has been regulated by the International Standard (ISO, 1996, 2004).

For *M. armillaris*, in Australian, a new Plant census was demark with scientific name *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris* (Chah, 2010; Cowley et al., 1990). The seeds from *M. armillaris* came from Australia and grown very well in São Paulo

but don't have any analysis from the product. *M. armillaris* was cultivated in Bairro Gurgel, Piedade (Prop. Wolfgang Pickert with latitude 23°45'0.5 13'' S and longitude 47°19'19.39'', CEP 18700-000), São Paulo, and grows to about 5 meters high.

The objectives of present study were: identified the specie, analyze the chemical composition of the leaves extracts (hydrolat) and the essential oil and after evaluated the effect on wound healing in rats.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 Plant Material

Plants of *Melaleuca armillaris* were collected in August 2012, grown in Piedade, São Paulo (Prop. Wolfgang Pickert), from 1-year plantation. Seeds originated from CSIRO-Australia. Voucher specimen has sent to deposited in herbarium of "Prefeitura Municipal de São Paulo (PMSP)". – verificar que no resumo e abstract esta que foi coletada em Ibiúna.

The specie was identified by key taxa from Australian national herbarium and confirmed by photos "ALA - Atlas of living Australia (ALA, 2012)" and by Chah (Chah, 2010). In key taxa must be observed the leaves, flowers, fruit, inflorescences, bark for checked as *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris*.

2.2 Extract from *Melaleuca armillaris* and antioxidants

Leaves were collected from the trees, in a completely randomized way and were transported to UNINOVE (University Nove de Julho, São Paulo) in a Styrofoam cooler. The essential oil was extracted by steam distillation of the leaves and terminal branches of *M. armillaris*. Once condensed, the clear to pale yellow oil is separated from the aqueous distillate, that is Hydrolate.

The technique for determined antioxidants was based on Rufino et al. (2007) and Sousa et al. (2007). The method is based on electron transfer where, by the action of an antioxidant (AH) or a radical species, the DPPH that has purple color is reduced forming diphenyl-picrylhydrazine, yellow, with consequent disappearance of absorption, which can be monitored by the decrease in absorbance. For the DPPH method first the 0.6 mm DPPH stock solution was prepared in methanol and stored at -20 °C and in the dark. Every time it is necessary to use prepare a diluted DPPH solution in methanol with an absorbance of 1.1 ± 0.02 at 515 nm. Standard solution was evaluated with Trolox at concentrations between 100 to 1000 µM. The reaction involves 975 µL of DPPH reagent at room temperature, adding 25 µL of Trolox and monitoring absorbance at 515nm for 6 minutes. The results were expressed as µmol Trolox.

2.3 Chromatography Conditions- GC/MS

The GC (gas-chromatography) analysis for the identification of constituents present

in the essential oil and aqueous distilled samples were carried out with Hewlett-Packard 5890 Series II apparatus equipped with a FID detector, an Agilent BPX5 cap. column (5%-phenyl)-methylpolysiloxane; 30m x 0.25mm i.d., film thickness 0.5mm), an automatic injector (HP 7673) and an electronic integrator (HP 3396A). The oven temperature was programmed rising from 60 to 320°C at 3°C.min⁻¹ and then held isothermal at 320°C for 9min. The injector and detector temperatures were 280°C. Helium gas was used as the carrier gas at a constant flow rate of 0.5mL.min⁻¹. The calculation of the concentrations of the compounds was based on the areas of the peaks in the chromatogram, following the elution order on the BPX-5 column.

GC/MS analysis: The essential oil was analyzed with a Shimadzu CG-17A apparatus equipped with a MS-QP-5050A mass selective detector operating by electronic impact (70 eV) and a DB-5 cap. column (30 m x 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 mm). He (1 mL.min⁻¹) was used as carrier gas. The GC analytical conditions were as described above (see GC Analysis).

Compound identification: The identification of the compounds was based on the comparison of their retention index (RI determined relatively of the t_R of n-alkanes) (Adams, 2001) and mass spectra with those of authentic compounds by means of the program CLASS-5000, version 2.23 (Shimadzu Corporation), equipped with the commercial libraries NIST 21, NIST 107 and Wiley 229.

2.4 Animals

The experiment was approved by UNINOVE's Ethics Committee with protocol number AN 0037/2013). A total of 15 male Wistar rats were used, with a controlled body mass of 275± 25g, aging from 12 ± 2 weeks old. All animals were obtained from the University vivarium (UNINOVE), and were kept in cages, grouped in groups of 5 animals/cage, and kept under controlled environment, with average temperature of 26°C and 12 hours light/dark cycle, with water *ad libitum* and balanced feed.

Animals were initially weighed, and then anesthetized with xylazine (0.5mg) and ketamine (0.1mg). After 5 minutes of anesthesia started, the dorsal region of each animal was shaved. After local asepsis, a surgical incision of 4cm² was performed at the trichotomized area, and topical treatment begun. Animals were separated in individual cages and submitted to the following treatment: a) syringe containing 1mL of gel-water (negative control); b) syringe containing 1mL of gel + 10% hydrolate; c) a thin layer of gel-free fibrinase (SG) (positive control). Skin healing results were observed at days 2, 4, 7 and 14. Wounds were photographed, and total wound area evaluated by ImageJ software (NIH, USA).

At the end of the experimental period, the animals were anesthetized with a lethal dose of a cocktail containing ketamine (1 mg), xylazine (5 mg), and acepromazine (0.2 mg). Thoracotomy was performed. Blood was collected from the left ventricle and centrifuged.

The plasma was removed and stored at -20°C for no longer than three days before the assay. Total cholesterol, triglycerides, urea and creatinine were measured using test kits (Labtest Diagnostica).

2.5 Statistical analysis

All data was evaluated using average \pm standard deviation, and evaluated using One-Way ANOVA variance analysis, using Assistat *software*, with a significant result considered $*P < 0,05$.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Taxonomic identification and chemical analysis

Melaleuca genus belongs to the *Myrtaceae* family, and almost species are native from Australia (ALA, 2012). When left to grow naturally, the plants demonstrated a difference in height of trees, for example, *M. alternifolia* grows of approximately 8 meters compared to 4-5 meters when is cultivated and chemical compounds presented different concentrations (Colton and Murtagh, 1999). For taxonomic identification, in internet have the “ANH - Australian National Herbarium (ANH, 2012)” that can be compared with the photos from all species in “ALA - Atlas of living Australia (ALA, 2012)”. Chah (Chah, 2010) proceeded a new revision from all species.

The first identification was related to leaves: that is usually less than 4mm long, sessile (identify *M. irbyana*) or; more than 5mm long, petiolate or sessile. After the leaves was opposite or scattered. With the flowers that can observed: Flowers are red, staminal bundles more than 20mm long (identify *M. hypericifolia*) or; flowers are mauve, pink, white or yellowish and stamina bundles than 20mm long. When the flowers are white and inflorescences lateral, the specie was *M. acuminata* and, when flower was pink color with the same inflorescences the specie was *M. thymifolia*.

But when the leaves was scattered, alternate; less than 3mm wide; more than 5mm long and fruit also scattered; flowers in spikes with white color; staminal claw more than 5mm long but inflorescences axillary, borne low on the branchlets; bark corky or hard the specie was identified as *Melaleuca armillaris* and Chah (2010) named as *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris*.

When compared with *M. alternifolia* in the set of observations is the same as *M. armillaris*, but the inflorescences were terminal and borne at the ends with bark papery.

In conclusion the plant cultivated in Piedade was identified as *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris* (Chah, 2010; Cowley et al., 1990) (Figure 1).

Table 1 shows the chemical composition of the essential oil from *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris* (extracted August 2012) and the compounds are listed according to their elution order on GC/MS. In total, 15 compounds, representing

100% of the chemical composition of the oil sample, were identified. The major components present in the essential oil were 1,8-cineole (91.48%), myrcene (3.53%) and α -terpineol (3.42%).

Chabir et al. (2011) and Amri et al. (2012) extracted volatile oil from leaves of *Melaleuca armillaris* in Tunisia and observed thirty-two components representing more than 98% of the total composition of the essential oil and identified 85.8% from 1,8-cineole, camphene (5.05%) and α -pinene (1.95%). Farag et al. (2004) analyzed essential oil from *M. armillaris* leaves in Egypt, and observed 33.9% of 1,8-cineole. When compared results from São Paulo with Tunisia and Egypt, the major component was 1,8-cineole but in different percentual of concentrations. The other compounds were not the same. This difference in the chemical composition of the essential oil could be related to seasonal variations such as: temperature, humidity in environmental, quality, micronutrients (N, P, K) and water availability in soil, and presence of sun (Sayuri et al., 2010; Simões et al., 1999). Other factor that required careful it is in collection from plants that must made in early morning when have no much Sun because can loss compound from oil (Simões et al, 2003).



Figure 1- *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris* from Piedade. Photo by Erna Bach (august 2018).

N°	IK	Compound	% relative
1	991	Myrcene	3.53
2	1031	limonene	0.88
3	1033	1,8-cineole	91.48
4	1062	alfa-terpinene	0.03
5	1118	myrcenol	0.02
6	1177	terpinen-4-ol	0.14
7	1189	1,2 terpineol	3.42
8	1404	(Z)-caryophyllene	0.03
9	1418	(E)-caryophyllene	0.15
10	1441	alfa-humulene	0.07
11	1454	2-humulene	0.09
12	1524	1-cadinene	0.06
13	1655	alfa-bisabolol B oxide	0.03
14	1683	1-bisabolol	0.04
15	1744	2-bisabolol A oxide	0.03
Total identified			100.0

Table 1: Chemical constituents [%] of the essential oil from leaves of *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris*.

When the aqueous distillate was observed by GC/MS one peak corresponded to 1,8-cineole was present that can be represent from 3 to 5% of oil in hydrolate.

The antioxidant activity based on Trolox showed 494.8 mmol TEAC/g leaf. The antioxidant activity is important in terms of stimulating new skin tissue, collagen production, having anti-inflammatory properties, and decreasing scar formation in chronic wounds.

3.2 Animals

The wound induction consisted of a single dorsal skin fragment, according to the technique described by Prata et al. (1988). The dorsal region was chosen because it is difficult to manipulate by the animals. In this experiment, dressings were not performed, and the wounds remained unprotected, since the use of dressings on the skin surface of rats is difficult to adapt and maintain, besides causing trauma by contact with the wound. It is a complex, dynamic process of reestablishing the cellular structures and, consequently, the layers of epithelial tissue. This process is carried out in order to establish a re-epithelialization closer to its normal state (Kumar et al., 2006).

For the treatments we used a 10% gel, according to the orientation of the Association of Pharmaceuticals-Homeopathy from Brazilian -ABFH- (1995), which in its technical norms for the preparation of medicines, recommends for pharmaceutical forms for external use a 10% preparation, whether for cream, gel or ointment. The option for the gel and not the liquid form of the hydrolat is due to its adherence on the injured site, with longer duration of action.

As for the option for the gel, it is due to the easy acquisition and manipulation of the vehicle, which allows its preparation by hand. This facilitates its use in the human area. To measure the healing areas there are several methods and, in the project were used morphometry system by pachymetry, photo followed by software and computer measurement.

The fibrinase ointment (fibrinolisin, deoxyribonuclease, and chloramphenicol) was used as a positive control because it is indicated for the treatment of infected skin lesions (lesions on the skin with infection) such as burns, ulcers (superficial skin lesions), and wounds. It consists of an association of active enzymes (substances that activate a chemical reaction, in this case accelerating the destruction of cells damaged by inflammation, infection, or cauterization) and a bacteriostatic antibiotic (type of antibiotics that prevent bacteria from reproducing, but do not kill them directly). This combination acts doubly as a debridement agent (removes substances deposited on the skin surface) and a topical antibiotic, keeping the area clean so that healing can occur properly.

Wound areas were measured at all time intervals (2d, 7d, and 14d) and the results were plotted on the graph of the averages of the rats per group (Figure 2). Observing the healed area, the animals treated with gel + melaleuca hydrolate had an increase or acceleration in tissue recovery when compared with control and with the ointment. A macroscopic evaluation of each lesion was also performed, taking the following aspects: presence of edema, hyperemia, exudate, granulation tissue and re-epithelialization.

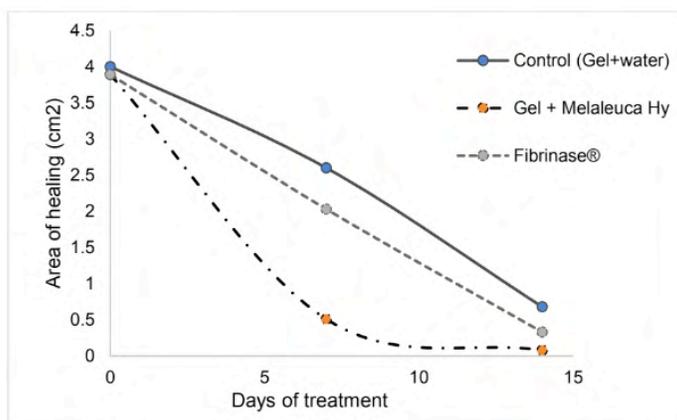


Figure 2: Area in cm² of wounds in the healing period in rats using fibrinase, melaleuca in the form of hydrolate (Hy) incorporated with gel and, control (gel-water).

With the macroscopic observation, in relation to the control animals and with fibrinase, these on the second day after surgery, serous-saginolent exudate, hyperemia and edema were observed in the wounds. In the melaleuca group the healing area remained dry with no sero-saginolent sign. On the seventh day in the control group and fibrinase already appeared a thin crust what can be observed in the percentage of healed area where fibrinase

had 49.29% compared to the control with 60% while, with melaleuca, the percentage was 86.89% having a well-defined crust. In 14 days the wounds of the animal with melaleuca practically closed (96.15%) while in fibrinase still had small pieces finishing the healing and reaching 90.75% and the control animal having 73% of healed area. The results were in agreement with the description of Mott et al. (2003), which states that the exponential period occurs between six and fifteen days after the injury, and corresponds to the maximum level of activity of the myofibroblasts that are part of the granulation tissue.

Treatments	Time (days)		
	2d	7d	14d
Fibrinase®	19.00a*	49.29a	90.75a
Control (Gel+ water)	18.75a	60.00b	73.00b
Gel + melaleuca Hy	28.03b	86.89c	96.15c

*Media from wound area five animals in %.

Different letters in the columns are statistically different from each other ($p < 0.05$).

Table 2: Percentage of healing or recovery in the treatment period.

The treatments showed no difference in biochemical tests indicating no metabolic changes when using the melaleuca gel (Table 3) this means that the hydrolat penetrates into the wound but not into the bloodstream and may bring no differences in biochemical metabolism.

Treatments*	Glycemia (mg/dL)	Total Cholesterol (mg/dL)	TAG (triglycerides) (mg/dL)	Urea	Creatinine (mg/dL)
Fibrinase®	91 ± 3	74 ± 10	91 ± 18	32 ± 3	0,55 ± 0,11
Control (Gel+ water)	89 ± 4	72 ± 10	90 ± 17	32 ± 4	0,56 ± 0,10
Gel + melaleuca Hy	90 ± 2	73 ± 10	91 ± 18	34 ± 2	0,57 ± 0,09

No difference statistically in collums (ANOVA + Tukey's test).

Table 3: Biochemical results of plasma from rats submitted to treatments.

In conclusion *Melaleuca armillaris* hydrolate could be used to help in skin healing process and can be an alternative for a low-cost skin wound treatment in humans.

ACKNOWLEDGMENT

- To UNINOVE for use the laboratory and animals.

- We wish to thank “in memorian” Prop. Wolfgang Pickert (Piedade, SP) for providing parts of plant, aqueous distilled and oil obtained from *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. subsp. *armillaris*.

REFERENCES

Adams, R.P., 2001. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry**, Allured, Illinois, 2001.

ALA, **Atlas of living Australia**, 2012. <http://www.bie.ala.org.au>. (accessed December 2012).

Amri, I., Mancini, E., Martino, L., Marandino, A., Lamia, H., Mohsen, H., Bassem, J., Scognamiglio, M., Reverchon, E., Feo, V., 2012. Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oils from Three *Melaleuca* Species Grown in Tunisia. **Int J Mol Sci**, 13, 16580-16591.

ANH, **Australian national herbarium**, 2012. <http://www.anb.gov.au/cgi-bin/apclist>. (accessed December 2012).

AS, Australian Standard AS 2782-85, 1989. *Oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type*. In: Altman, P. M. Australian tea tree oil - a natural antiseptic. **Aust. J. Biotech**, 3, 247-248.

Chabir, N., Romdhane, M., Valentin, A., Moukarze, B., Marzoug, H.N., Brahim, N.B., Mars, M., Bouajila, J., 2011. Chemical study and antimalarial, antioxidant, and anticancer activities of *Melaleuca armillaris* (Sol Ex Gateau) Sm essential oil. **J. Med. Food**, 14, 1383–1388.

Chah, C., 2010. **Australian Plant Census** (APC). <http://www.anbg.gov.au/chah/apc>. (accessed December 2012).

Cowley, K.J., Quinn, F.C., Barlow, B.A., Craven, L.A., 1990. Contributions to a revision of *Melaleuca*. (*Myrtaceae*). **Australian Systematic Botany**, 3, 7-10.

Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., 2001. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **J Appl Microbiol**, 91, 492–497.

Farag, R.S., Shalaby, A.S., El-Baroty, G.A., Ibrahim, N.A., Ali, M.A., Hassan, E.M., 2004. Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. **Phytoterapy Research**, 18, 30-35.

ISO, International Organisation for Standardisation, 2004. ISO/FDIS 4730 Final draft, International Standard Oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil).

ISO, International Organisation for Standardisation., 1996. *ISO 4730 International Standard Oil of Melaleuca*, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil).

Kumar, V.; Abbas, A.K.; Fausto, N. Robbins-Cotran - **Bases patológicas das doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.49-124. 2006.

Lemos, D.R.H., Melo, E.C., Rocha, R.P., Barbosa, L.C.A., Pinheiro, A.L., 2012. Influence of drying air temperature on the chemical composition of the essential oil of melaleuca. **Engenharia na agricultura**, Viçosa – MG, 20, 5-11.

Mott, K.J.; Clark, D.P.; Stelljes, L.S. Regional variation in wound contraction of Mohs surgery defects allowed to heal by second intention. **Dermatol. Surg.**, v.29, n.7, p.712-722, 2003.

Prata, M.C.; Haddad, C.M.; Goldenberg, S.; Simões, M.J.; Moura, L.A.R.; Trabulsi, L.R. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em rato. **Acta Cir. Brás.**, v.3, n.2, p.43-48, 1988.

Rufino, M.S.M.; Alves, R.E.; Brito, E.S.; Morais, S.M.; Sampaio, C.G.; Jimenez, J.P.; Calixto, F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, 127: 1-4, 2007.

Sayuri, V.A., Romoff, P., Fávero, O.A., Ferreira, M.J.P., Lago, J.H.G., Buturi, F.O.S., 2010. Chemical composition, seasonal variation, and biosynthetic considerations of essential oils from *Baccharis microdonta* and *B. elaeagnoides* (Asteraceae). **Chemistry and Biodiversity** 7, 2771-2782.

Silva, C.J.; Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J. Montanari, R. M.; Pinheiro, A. L.; Dias, I.; Andrade, N.J. *Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of Myrtaceae species planted in Brazil*. **Quim Nova**, 33, 104-108, (2010).

Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosman, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R., 2003. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC.1102p.

Simões, C.M.O., Spitzer, V., 1999. Óleos essenciais. In: Simões CMO, Schenkel E P, Gosman G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR.(Org). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis. Editora da UFSC. 397-425.

Sousa, C.M.M.; Silva, H.R.; Vieira, G.M.; Ayres, M.C.C.; Costa, C.S.; Araújo, D.S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30(2): 351-355, 2007.

CAPÍTULO 8

AS VANTAGENS DA BIOFORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Data de aceite: 01/06/2022

Dayane de Melo Barros

Doutora em Bioquímica e Fisiologia –
Universidade Federal de Pernambuco
Pernambuco

Danielle Feijó de Moura

Doutora em Ciências Biológicas – Universidade
Federal de Pernambuco
Pernambuco

Vanessa Maria dos Santos

Estudante de Mestrado em Nutrição, Atividade
Física e Plasticidade Fenotípica – Centro
Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de
Pernambuco
Pernambuco

José Hélio Luna da Silva

Estudante de Mestrado em Nutrição, Atividade
Física e Plasticidade Fenotípica – Centro
Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de
Pernambuco
Pernambuco

Letícia da Silva Pachêco

Estudante de Mestrado em Nutrição, Atividade
Física e Plasticidade Fenotípica – Centro
Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de
Pernambuco
Pernambuco

Zenaide Severina do Monte

Doutora em Ciências Farmacêuticas –
Universidade Federal de Pernambuco
Pernambuco

Marcelino Alberto Diniz

Bacharel em Farmácia – Universidade Federal
de Pernambuco
Pernambuco

Amanda Nayane da Silva Ribeiro

Estudante de Mestrado em Nutrição, Atividade
Física e Plasticidade Fenotípica – Centro
Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de
Pernambuco
Pernambuco

Marllyn Marques da Silva

Doutora em Biotecnologia - Universidade
Federal Rural de Pernambuco
Pernambuco

Jefferson Thadeu Arruda Silva

Especialista em Fitoterapia na Prática Clínica e
Esportiva – Faculdade IDE
Pernambuco

Andreza Roberta de França Leite

Bacharel em Nutrição – Centro Acadêmico de
Vitória, Universidade Federal de Pernambuco
Pernambuco

Fábio Henrique Portella Corrêa de Oliveira

Doutor em Botânica – Universidade Federal
Rural de Pernambuco
Pernambuco

Talismania da Silva Lira Barbosa

Bacharel em Biomedicina – Instituição:
Associação Caruaruense de Ensino Superior
Pernambuco

Tamiris Alves Rocha

Doutora em Ciências Biológicas – Universidade
Federal de Pernambuco
Pernambuco

Cleiton Cavalcanti dos Santos

Estudante de Graduação em Enfermagem –
Centro Acadêmico de Vitória, Universidade
Federal de Pernambuco
Pernambuco

Clêidiane Clemente de Melo

Bacharel em Biomedicina –
Associação Caruaruense de Ensino Superior
Pernambuco

Hélen Maria Lima da Silva

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos –
Universidade Federal Rural de
Pernambuco
Pernambuco

Silvio Assis de Oliveira Ferreira

Doutor em Bioquímica e Fisiologia –
Universidade Federal de Pernambuco
Pernambuco

André Severino da Silva

Doutor em Biotecnologia –
Universidade Federal de Pernambuco
Pernambuco

Roberta de Albuquerque Bento da Fonte

Doutora em Nutrição –
Universidade Federal de Pernambuco
Pernambuco

RESUMO: A biofortificação é uma técnica que viabiliza o aumento das concentrações e/ou biodisponibilidade de vitaminas e/ou minerais em alimentos básicos, sendo considerada uma estratégia agrícola eficaz para evitar deficiências nutricionais por micronutrientes. Dessa forma, o objetivo do estudo foi identificar evidências disponíveis na literatura sobre as vantagens da biofortificação de alimentos. Para tanto, foi realizada uma revisão integrativa de literatura e foram definidos os descritores (biofortificação, alimentos, valor nutricional, micronutrientes e vantagens) para a localização dos estudos. Os critérios de inclusão foram: artigos científicos completos em português, publicados entre os anos de 2016 e 2020. Foram avaliados 15 artigos na íntegra e nenhum versou sobre a questão do estudo, demonstrando a necessidade de um maior número de pesquisas que possam explicar as contribuições da utilização desta técnica em produtos alimentícios.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos básicos. Biodisponibilidade. Micronutrientes. Técnica. Valor nutricional.

ABSTRACT: Biofortification is a technique that makes it possible to increase the concentrations and/or bioavailability of vitamins and/or minerals in staple foods, being considered an effective agricultural strategy to avoid nutritional deficiencies by micronutrients. Thus, the objective of the study was to identify evidence available in the literature on the advantages of food biofortification. Therefore, an integrative literature review was carried out and the descriptors (biofortification, food, nutritional value, micronutrients and advantages) were defined for the location of the studies. The inclusion criteria were: full scientific articles in Portuguese, published between 2016 and 2020. Fifteen articles were evaluated in their entirety and none of them dealt with the question of the study, demonstrating the need for a greater number of researches that can explain the contributions of the use of this technique in food products.

KEYWORDS: Staple foods. Bioavailability. Micronutrients. Technique. Nutritional value.

INTRODUÇÃO

A produção de alimentos mais nutritivos pode ser realizada através da biofortificação que é uma técnica capaz de otimizar as concentrações e/ou biodisponibilidade de micronutrientes nos alimentos básicos, podendo evitar de forma eficaz deficiências de vitaminas e/ou minerais em populações que tem acesso limitado a determinados nutrientes (SAEID et al., 2019).

O processo de biofortificação de alimentos foi iniciado em meados da década de 90 como uma tecnologia promissora de enriquecimento de alimentos com a finalidade de reduzir a desnutrição e deficiências nutricionais específicas decorrentes de uma alimentação inadequada (TALSMA; MELSE-BOONSTRA; BROUWER, 2017).

A deficiência de alguns micronutrientes específicos tais como, vitamina A, vitamina C, folato, iodo, zinco e ferro podem afetar os indivíduos em todos os ciclos de vida e a redução das concentrações séricas desses nutrientes no organismo provoca diversos impactos na saúde como, redução da capacidade de trabalho, anemia, bócio endêmico e alterações no sistema imunológico (HUEY et al., 2022).

A biofortificação é considerada uma estratégia agrícola viável, econômica, sustentável e também possibilita o fornecimento de subsídios para reduzir as deficiências nutricionais provenientes de micronutrientes (ONUEGBU et al., 2017; SHEORAN et al., 2022). Portanto, o objetivo do estudo foi identificar evidências disponíveis na literatura sobre as vantagens da biofortificação de alimentos.

METODOLOGIA

A revisão integrativa permite reunir, avaliar e sintetizar o conhecimento produzido, resultante de diversas abordagens metodológicas, não havendo a necessidade de qualquer análise estatística (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008). As etapas para a elaboração da revisão integrativa estão descritas a seguir:

Identificação do tema e elaboração da pergunta de pesquisa

Para a formulação da pergunta de pesquisa e definição dos descritores aplicados na busca dos artigos científicos utilizou-se a estratégia de PICO. A utilização dessa estratégia para definir a questão de pesquisa na condução de métodos de revisão permite a identificação de palavras-chave, que contribuem na localização de estudos primários relevantes na base de dados. Dessa forma, a questão de pesquisa delimitada foi: “Quais as vantagens da técnica de biofortificação de alimentos?”.

Estratégia de busca na literatura e amostragem

Foram estabelecidas estratégias de busca na literatura e selecionadas na base de dados Periódicos CAPES. Utilizaram-se os seguintes descritores: biofortificação, alimentos, valor nutricional, micronutrientes e vantagens (Tabela 1) e o operador booleano (operadores lógicos) “AND”. Os critérios de inclusão dos estudos primários delimitados para a presente revisão foram: artigos científicos completos em português, publicados entre os períodos de 2016 e 2020. Foram excluídas as publicações que não se enquadravam no nível de critérios estabelecidos e que não atendessem ao objetivo do estudo.

Base de dados	Descritores em português
Periódicos CAPES	Biofortificação Alimentos Valor nutricional Micronutrientes Vantagens

Tabela 1. Base de dados e descritores utilizados para a pesquisa.

Definição das informações que foram extraídas dos estudos selecionados

Foram utilizados instrumentos consolidados com o propósito de reunir, organizar e sumarizar as informações de modo conciso, construindo bancos de dados com fácil acesso e manejo.

Avaliação dos estudos primários incluídos na revisão

Os dados obtidos em cada publicação foram analisados conforme o objetivo da pesquisa.

Análise e síntese dos resultados da revisão integrativa

Os resultados das publicações selecionadas nas bases de dados foram confrontados de modo imparcial.

Apresentação da revisão integrativa

Os principais resultados evidenciados da análise das publicações selecionadas são apresentados adiante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a localização dos artigos no portal Periódicos CAPES, obteve-se um total de 54 artigos na referida base de dados, entre os quais foram selecionados 16 de acordo com os critérios de inclusão (Tabela 2).

Descritores por cruzamento	Estudos identificados	Selecionados
Biofortificação AND alimentos	42	10
Biofortificação AND alimentos AND valor nutricional	10	4
Biofortificação AND alimentos AND valor nutricional AND micronutrientes	1	1
Biofortificação AND alimentos AND valor nutricional AND micronutrientes AND vantagens	1	1
Total	54	16

Tabela 2. Cruzamento dos descritores no portal Periódicos CAPES.

Concluída a fase de identificação, descrita anteriormente, dos artigos localizados, realizou-se a seleção entre os 16 artigos, por meio da leitura do título e resumo. Foram excluídos os artigos com duplicidade e os que não eram condizentes com o objetivo do estudo, resultando na seleção de 15 artigos para leitura na íntegra (Figura 1).

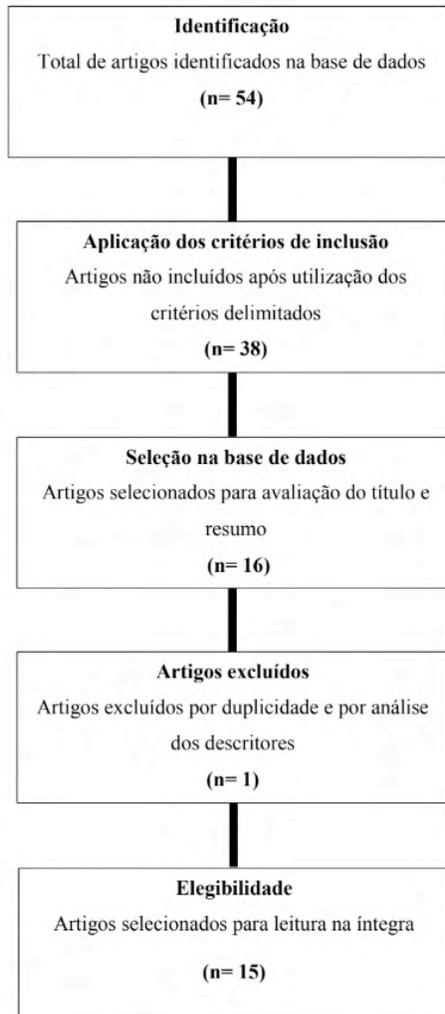


Figura 1. Fluxograma das etapas metodológicas utilizadas na revisão integrativa.

A revisão integrativa verificou que dos 15 artigos lidos na íntegra nenhum respondeu ao objetivo do estudo que era evidenciar apenas as vantagens da biofortificação de alimentos. Isto demonstra a necessidade de uma maior quantidade de estudos que possam explicar as contribuições que esta técnica pode proporcionar a alimentos básicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A biofortificação é considerada uma técnica que aumenta o teor de micronutrientes em alimentos básicos sendo eficaz para evitar deficiências nutricionais, mesmo sabendo-se de sua potencial capacidade de otimizar o valor nutritivo dos alimentos, a revisão integrativa evidenciou que se faz necessário o desenvolvimento de mais pesquisas sobre

as vantagens que esta técnica pode promover para os alimentos.

REFERÊNCIAS

HUEY, S. L. et al. Review of the Impact Pathways of Biofortified Foods and Food Products. **Nutrients**, v. 14, p. 1–25, 2022.

ONUEGBU, N. C. et al. Biofortification of local staples in Nigeria: prospects and problems. **Journal of Food Biotechnology Research**, v. 1, n. 1, p. 5, 2017.

SAEID, A. et al. Food biofortification. *Journal of Chemistry*, v. 2019, 2019.

SHEORAN, S. et al. Current Status and Potential of Biofortification to Enhance Crop Nutritional Quality: An Overview. **Sustainability**, v. 14, n. 6, p. 3301, 2022.

TALSMA, E. F.; MELSE-BOONSTRA, A.; BROUWER, I. D. Acceptance and adoption of biofortified crops in low-and middle-income countries: A systematic review. **Nutrition Reviews**, v. 75, n. 10, p. 798–829, 2017.

CAPÍTULO 9

A BIODIVERSIDADE MARINHA DOS COSTÕES ROCHOSOS COMO FONTE DE BIOATIVOS COM ATIVIDADE ANTICÂNCER

Data de aceite: 01/06/2022

Giselle Pinto de Faria Lopes

Programa associado de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e Universidade Federal Fluminense (UFF)
Departamento de Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)
Arraial do Cabo, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5946761253214009>

Bianca Fernandes de Mirra

Programa associado de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e Universidade Federal Fluminense (UFF)
Arraial do Cabo, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/4722028512840825>

Cassiana Maurer de Carli

Programa associado de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e Universidade Federal Fluminense (UFF)
Arraial do Cabo, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5194341093634486>

Danielle da Silva Fraga

Programa associado de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e Universidade Federal Fluminense (UFF)
Arraial do Cabo, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/7882868468585829>

Giovanna da Silva Pressanto

Programa associado de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e Universidade Federal Fluminense (UFF)
Arraial do Cabo, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/83358994370046693>

Isabel Virgínia Gomes e Silva

Programa associado de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e Universidade Federal Fluminense (UFF)
Arraial do Cabo, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9566555312863781>

Israel de Oliveira Araújo

<http://lattes.cnpq.br/0601908560119879>

Ricardo Coutinho

Programa associado de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e Universidade Federal Fluminense (UFF)
Departamento de Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)
Arraial do Cabo, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9656680428289292>

RESUMO: O ecossistema marinho é uma fonte de novos compostos principalmente por possuir uma grande diversidade biológica. O município de Arraial do Cabo, no Rio de Janeiro abrange uma biodiversidade em seus costões rochosos, onde são registradas espécies tipicamente de ambientes tropicais e subtropicais, principalmente

pela influência do fenômeno da ressurgência. Devido à necessidade da descoberta de novos princípios ativos, especialmente para uso como medicamentos, as pesquisas com esses organismos cresceram muito nos últimos anos. A maior parte dos organismos marinhos pertencem à classe dos invertebrados e por serem amplos em termos de distribuição e diversidade, são os grupos mais investigados em relação aos seus compostos bioativos, sendo os filos Porífera e Equinodermos, além das macroalgas, os mais estudados. O câncer é o principal problema de saúde pública e apesar de possuir tratamentos conhecidos, ainda encontra barreiras associadas principalmente aos efeitos secundários. Dessa forma, a procura por terapias anticancerígenas altamente eficientes continua a ser o maior desafio da medicina. Considerando a atualização das espécies de invertebrados e macroalgas no catálogo publicado recentemente sobre a Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo: Histórico, Ecologia e Conservação (Batista, et.al.2020), este capítulo consiste em uma revisão bibliográfica das espécies que ocorrem na região que apresentam mais estudos com bioativos com atividades anticancerígenas promissoras na última década.

PALAVRAS-CHAVE: Produtos Naturais Marinhos, Costões rochosos, Câncer, invertebrados, macroalgas.

THE MARINE BIODIVERSITY OF ROCKY SHORES AS A SOURCE OF BIOACTIVES WITH ANTICANCER ACTIVITY

ABSTRACT: The marine ecosystem is a source of new compounds mainly due to its great biological diversity. The city of Arraial do Cabo, in Rio de Janeiro, encompasses biodiversity on its rocky shores, where species typically from tropical and subtropical environments are recorded, mainly due to the influence of the upwelling phenomenon. The need to discover new active principles, especially for use as medicines, encourages the research on these organisms has grown a lot in recent years. Most marine organisms belong to the class of invertebrates and because they are broad in terms of distribution and diversity, they are the most investigated groups concerning their bioactive compounds, with the phyla Porifera and Echinoderms, in addition to macroalgae, being the most studied. Cancer is the main public health problem and despite having known treatments, it still finds barriers associated mainly with side effects. Thus, the search for highly efficient anticancer therapies continues to be the greatest challenge in medicine. Considering the update of the invertebrate and macroalgae species in the recently published catalog on the Marine Biodiversity of the Rocky Coasts of Arraial do Cabo: History, Ecology, and Conservation (Batista, et.al.2020), this chapter consists of a bibliographic review of the species that occur in the region that present more studies with bioproducts with promising anticancer activities in the last decade.

KEYWORDS: Marine Natural Products, Rocky shores, Cancer, invertebrates, macroalgae.

INTRODUÇÃO

O ecossistema marinho representa 95% da biosfera e devido à grande diversidade biológica, tornou-se alvo de interesse científico em meados do século XX. Desde então, dezenas de milhares de novas substâncias com potencial farmacológico foram descritas (ALTMANN, 2017). As condições físicas e químicas adversas desse ambiente fazem com

que quase todas as classes de organismos produzam uma variedade de substâncias, com características estruturais complexas e únicas, facilitando suas interações em alvos celulares inusitados e aumentando o destaque destas como substâncias bioativas (NEWMAN & CRAGG, 2007).

Pesquisadores do “*National Cancer Institute*”, indicaram em um levantamento, que entre as fontes naturais, os organismos marinhos são os que forneceram o maior número de extratos orgânicos com altas porcentagens de atividade antitumorais (GARSON, 1994; CRAGG & NEWMAN, 1997). Algas, ascídias, esponjas, corais e outros organismos sésseis, frequentemente competindo em um ambiente inóspito, por exemplo, produzem uma diversificada gama de metabólitos secundários. Além desses metabólitos inibirem a divisão celular, verificou-se que certos produtos naturais marinhos podem modelar caminhos apoptóticos nas células neoplásicas humanas (BRANDÃO et al., 2010), fazendo dos organismos marinhos ótimos candidatos para produzir substâncias para o tratamento de câncer.

O câncer está documentado como um grupo complexo de doenças causadas por interações de múltiplos fatores tais como susceptibilidade genética, influências ambientais e de estilo de vida, agentes infecciosos e envelhecimento (SCHNEKENBURGER, M.; DICATO, M.; DIEDERICH, M. 2014). As quimioterapias tradicionais e os tratamentos antitumorais direcionados exercem os seus efeitos por citotoxicidade ou inibição do crescimento tumoral. No entanto, os efeitos curativos destes medicamentos, nem sempre são suficientemente bons e estão geralmente associados a vários efeitos secundários. Consequentemente, a procura de terapias anticancerígenas altamente eficientes continua a ser o maior desafio da medicina (RADY, H., 2014). Além disso, os custos envolvidos no processo de P&D de fármacos antitumorais são extremamente elevados, chegando na ordem de 2 bilhões de reais, fazendo do setor o principal interessado no potencial dos produtos de origem marinha (HILEMAN, 2002; HUNT et al., 2006).

Em vista disso, essa revisão apresenta um resumo sobre as atividades antitumorais já publicadas de cinco grupos e de espécies que ocorrem nos costões rochosos de Arraial do Cabo – Rio de Janeiro com base no Catálogo da Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo (Batista, et al. 2020).

METODOLOGIA

A busca dos estudos relatados nesse capítulo foi realizada a partir da utilização do nome de cada espécie de Arraial do Cabo, listada nas tabelas catalogadas da obra de Batista et al. (2020), juntamente com a palavra “*cancer*”, através da plataforma de artigos PubMed da Biblioteca Nacional de Medicina do *National Institute of Health* (NIH) e com data de publicação dos últimos 10 anos. Foram encontrados 8 estudos com as ascídias, 5 estudos com os cnidários, 10 estudos com as esponjas marinhas, 5 estudos com os

equinodermos e 24 estudos com as macroalgas.

ASCÍDIAS

As ascídias são organismos exclusivamente marinhos, sésseis, que pertencem a classe mais diversa do subfilo Tunicata. Esses organismos têm sido estudados como fonte de bioativos há mais de 30 anos devido à sua grande capacidade de sintetizar biomoléculas ativas.

Arast et al., (2017) e Palanisamy et al., (2018) relataram atividade antitumoral da espécie *Phallusia nigra*. Na primeira pesquisa os compostos foram testados em um ensaio *in vivo* utilizando a linhagem *Wistar* (ratos albinos) e o tumor foi inoculado a partir de outro animal com células de melanoma F10. Como resultado, os extratos em todas as concentrações aplicadas induziram alterações tóxicas nas mitocôndrias cancerosas, mas não nas mitocôndrias de pele sadia, para a análise da citometria de fluxo foi encontrado o mesmo padrão. Já no segundo estudo, foram testados três tipos de células cancerosas (HeLa, MCF-7 e HT29) em um ensaio *in vitro*. Os extratos brutos mostraram potencial atividade antitumoral contra as células HT29 (câncer do cólon) com $IC_{50}=35\mu M$ e modesta inibição do crescimento contra HeLa (câncer do colo do útero) e MCF-7 (câncer de mama).

Segundo Dassonneville et al., (2000), a atividade do ascididemin, um composto bioativo isolado da espécie *Cystodytes dellechiajei* foi citotóxico tanto para as células HL-60 (leucemia promielocítica aguda) com $IC_{50}=0,48\mu M$ como para a HL-60/MX2 com $IC_{50}=0,65\mu M$. Em relação a mesma espécie, Martinez-García et al., (2007), relataram a atividade do extrato orgânico, onde amostras de colônias inteiras, do tecido túnico, zooides e larvas foram testados. Os extratos brutos foram utilizados em diferentes concentrações finais e mostraram alta atividade inibitória contra as linhas de células cancerosas SKBR3 (mama), H-116 (colorretal), A-549 (pulmão), e PSN-1 (pâncreas).

Nove compostos isolados da ascídia *Polyclinum Constellatum*, foram estudados por Raslan et al., (2017). A citotoxicidade foi testada em quatro linhas de células cancerosas (SK-MEL, KB, BT-549 e SK-OV) e em uma linha de células epiteliais renais não cancerosas (LLC-PK1). Somente um composto (5) apresentou atividade citotóxica na linha de células LLC-PK1 com $IC_{50}=23\mu g/mL$.

Mais de 200 alcalóides com atividade farmacológica interessante já foram isolados do tunicados marinhos. A primeira droga anticâncer marinha a entrar em testes clínicos é proveniente de uma espécie representante do grupo, a *Trididemnum solidum*. E em 2007, o Yondelis[®], alcalóide isolado da ascídia *Ectenascidia turbinata*, foi aprovado e é utilizado para o tratamento de sarcomas de tecidos moles. Em 2009, combinado com Doxorubicina, o medicamento passou a ser usado também em tratamentos de câncer no ovário recidivado (CRAGG & NEWMAN, 2013).

CNIDÁRIOS

O filo Cnidária compreende aproximadamente 11.000 espécies classificadas em sete classes (Anthozoa, Scyphozoa, Cubozoa, Staurozoa, Polypodiozoa, Myxozoa e Hydrozoa) (LAZCANO-PÉREZ et al., 2018). Os membros da classe Anthozoa são conhecidos por explorarem um arsenal químico articulado e recentemente foi estimado que pelo menos 250 compostos foram purificados a partir de animais desta classe. (FRAZÃO et al., 2012; ROCHA et al., 2011). Os extratos de tecidos dos cnidários contêm uma mistura complexa de peptídeos e proteínas que juntos causam a paralisia e envenenamento da sua presa ou predador (JOUIAEI et al., 2015) e vários desses venenos têm propriedades citotóxicas que também demonstraram causar efeitos hemolíticos. Algumas substâncias estudadas demonstraram afetar as células tumorais e de microrganismos, tornando assim os extratos de cnidários particularmente interessantes para o seu possível emprego terapêutico (MARIOTTINI & PANE, 2013).

Lazcano-Pérez et al., (2018) determinaram a atividade tóxica e avaliaram o potencial antitumoral do veneno de *Palythoa caribaeorum in vitro* em vários tipos de câncer. O extrato citotóxico foi rastreado contra algumas linhagens humanas: HCT-15 (câncer colorretal), MCF-7 (câncer de mama), K562 (leucemia mielóide crônica), U251 (glioblastoma), PC-3 (câncer de próstata), SKLU-1 (câncer de pulmão). O principal efeito inibidor nas células tumorais foi observado nas células de glioblastoma U251 (52,61%), seguido por uma atividade inibidora de 41,5% das células cancerosas do pulmão (SKLU-1). Não foi observada qualquer atividade contra as outras linhagens (HCT-15, MCF-7M, K562, PC-3). Em 2016, Silva, avaliou as atividades biológicas do muco e do extrato proteico da mesma espécie. Esse muco ainda é pouco conhecido quanto as suas propriedades bioquímicas e farmacológicas, mas o teste de citotoxicidade revelou que o extrato proteico apresentou viabilidade celular abaixo de 50% nas linhagens de MCF-7 e S-180.

Conforme Moritz et al., (2014), os esteroides poli oxigenados isolados do octocoral *Leptogorgia punicea*, foram analisados química e biologicamente e apresentaram promissora atividade citotóxica diante da proliferação de células cancerígenas de pulmão (A549). Já Yan et al., 2018 investigaram mais detalhadamente o extrato de uma coleção australiana do hidróide *Macrorhynchia philippina* que mostrou atividade significativa para a linhagem celular NCI-60. Nessa investigação, o extrato de *M. philippina*, forneceu seis derivados de adição de alimino quinonas e macrofilonas que exibem propriedades citotóxicas potentes e seletivas nas células. Os hidróides são amplamente distribuídos nos oceanos, mas têm sido pouco estudados quimicamente em comparação com outros organismos.

ESPONJAS MARINHAS

As esponjas pertencem ao filo Porífera são os metazoários mais antigos que existem. São amplamente distribuídos e assim como as ascídias, são principalmente animais sésseis

e que garantem a sua sobrevivência pelo desenvolvimento de estratégias de defesa química através da produção de metabólitos secundários com várias bioatividades (RODRÍGUEZ-NIETO, S. et al, 2002; THOMS, C et al., 2004). A elevada produção de metabólitos faz das esponjas marinhas uma das mais ricas fontes de compostos anticancerígenos ativos encontrados nos ecossistemas marinhos.

De Medeiros et al., (2014), estudaram a esponja *Tedania ignis* e mostraram que seu extrato aquoso atua como um agente citotóxico sobre as células de câncer de próstata da linhagem PC-3. No modelo *in vitro* utilizado, o extrato causou a morte celular. Posteriormente, Salazar-Mendoza et. al, (2020), isolaram os compostos chamados Trichodermaloides A, B, e C da espécie *Dysidea* para verificar a viabilidade celular através do teste MTT. Como resultado, apenas os Trichodermaloides A e B revelaram citotoxicidade nas linhas de células colorretais NCIH-460, NCIC-H929 e SW620 com valores de IC50 na gama de 6,8 a 12,7 µM. Uma espécie do mesmo gênero foi relatada por Nazemi et al., (2020) no Golfo Pérsico e testou o composto Estigmasterol através do teste XTT que exibiu potentes propriedades citotóxicas contra a célula KB/C152 em comparação com a célula Jurkat/E6-1.

Além das pesquisas para encontrar possíveis bioativos contra o câncer, alguns compostos estão sendo usados como marcadores e parâmetros de diagnósticos para mapear os tecidos suspeitos. Testes assim proporcionam uma melhor compreensão das neoplasias a nível citológico e molecular. De acordo com Dresch, R. et al., (2013), a lectina, isolada da esponja *Axinella corrugata*, mostrou resultados positivos na identificação de células diferentes, além de ter mostrado a capacidade de se ligar as células tumorais de HT-29 (câncer de cólon), MCF7 e T-47D (câncer de mama), OVCAR-3 (câncer de ovário), H460 (câncer de pulmão) e T24 (câncer de bexiga).

Entre todas as substâncias já descobertas no *habitat* marinho até agora, cerca de 30% derivam das esponjas e nos últimos anos, a bioprospecção de produtos naturais produziu um número considerável de candidatos a medicamentos, estando a maioria no desenvolvimento pré-clínico ou clínico precoce (BEEDESSEE, G. et al., 2011). Um exemplo típico de um medicamento anticancerígeno de origem marinha é o mesilato de eribulina, um derivado da halichondrina B isolado da esponja *Halichondria okadai* e em 2014 foi aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária para o tratamento de câncer de mama no estágio avançado ou metastático, sendo o medicamento conhecido como Halaven.

EQUINODERMOS

Os equinodermos pertencem ao filo Echinodermata, que contém aproximadamente 7.000 espécies vivas, que incluem estrelas-do-mar, ouriços do mar, e crinóides. Recentemente, os equinodermos receberam grande atenção como fonte inexplorada de novas moléculas bioativas com importantes atividades antimicrobianas, antivirais e anticancerígenas.

De acordo com a pesquisa de Li J. et al., (2019), dois polissacarídeos extraídos da espécie *Isostichopus badionotus*, um pepino do mar, mostraram atividade *in vitro* contra as células de A549 (câncer pulmonar). Quando comparadas ao controle, os compostos inibiram a viabilidade das células cancerosas. Outra espécie de equinodermos que demonstrou ter atividade anticancerígena é o *Echinometra lucunter*, um ouriço-do-mar, que foi relatado por Teixeira et al., (2018). O Galactan, bioativo extraído da espécie foi testado em ensaios *in vitro* utilizando as células LS180 (carcinoma de intestino) e em ensaios *in vivo* com camundongos da linhagem C57BL/6. O composto inibiu a ligação das células tumorais à P-selectina e nos animais injetados, 24% das células tumorais estavam associadas a plaquetas e nos animais que tinham sido injetados com PBS, 69% das células tumorais estavam presentes nos complexos plaquetários. Estes resultados do tratamento *in vitro* e dos ensaios *in vivo* mostram que este composto previne completamente a metástase no seu modelo.

Em 2020, Luparello et al., mostraram que os extratos do fluido celômico do ouriço-do-mar *Arbacia lixula*, demonstraram uma atividade contra células triplamente negativas do MDA-MB231 do câncer de mama. Dois extratos brutos foram testados e foi possível observar que ambos resultaram em uma diminuição da viabilidade celular. O tratamento também causou uma paragem do ciclo celular e levaram a um aumento de células na fase S. Estes resultados demonstraram que os extratos da *A. lixula* apresentam compostos bioativos que podem ser promissores como um novo medicamento eficaz contra os carcinomas da mama.

Dentre os organismos estudados como fonte de novas moléculas, os invertebrados juntos, foram responsáveis pela descoberta de 42% do total das novas moléculas publicadas em 2016. Isso representa 526 compostos, dentre os quais 12% são oriundos dos equinodermos (BLUNT et al., 2018), mesmo com poucos resultados, diversos grupos de pesquisa vêm atuando na validação da capacidade destas substâncias em interagir com diferentes alvos moleculares, e assim, modular o desenvolvimento tumoral por meio da inibição da proliferação, migração e agressividade celular (DZIK, 2019).

MACROALGAS

As macroalgas marinhas são organismos autotróficos, classificados em diferentes grupos taxonômicos, que produzem uma variedade de compostos quimicamente distintos (YOUNG et al., 2015). Produzem uma vasta gama de metabólitos secundários com atividades biológicas, tais como terpenos, polifenóis, clorotanos e polissacarídeos que levam ao desenvolvimento de novos agentes farmacêuticos (GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ et.al., 2018).

As algas vermelhas (Filo Rhodophyta) são consideradas a fonte mais promissora de compostos bioativos, quando comparado aos outros filós. Jania Mosaddegh (2014), relatou

que o extrato de metanol de *Jania adhaerens*, exibiu efeitos citotóxicos na linha de células humanas do câncer de mama (MCF-7). El-Saharty (2018), mostrou que os extratos de *Jania rubens* tem atividade citotóxica contra as células de carcinoma hepatocelular (HepG2) *in vitro* com IC50 = 8,61 µg/mL em células hepáticas e atividade hepatoprotetora através dos seus componentes antioxidantes. Segundo Khanavi (2012), a espécie *Chondria dasyphylla* apresentou atividade citotóxica contra a proliferação da linha celular do carcinoma mamário (T47D) pelo ensaio MTT. O efeito foi associado ao fucosterol, um esterol abundante em muitas algas marinhas que são utilizadas como substância preventiva ao câncer, sendo tóxica para as células tumorais e impedindo a sua progressão. Taskin (2010), relatou que o extrato bruto de *Spyridia filamentosa* tem uma forte atividade citotóxica *in vitro* contra as células do câncer de próstata (DU-145), o estudo mostrou menos de 10% de viabilidade celular após 24 horas de tratamento. Tarhouni et al., (2017), isolou o mertensene, monoterpeno halogenado da alga vermelha *Pterocladia capillacea* e avaliou o seu efeito inibidor sobre as linhas celulares do câncer colorretal HT29 e LS174. O estudo demonstrou que o mertensene é um novo e promissor medicamento anticancerígeno devido à sua atividade antiproliferativa. A substância pode induzir apoptose por bloqueio do ciclo celular e suprimir a progressão tumoral.

No grupo das algas pardas (Filo Phaeophyta), uma investigação com a alga *Sargassum vulgare* contra a linha de células cancerosas humanas Jurkat (leucemia linfoblástica aguda) foi realizada por Tannourya (2016). O extrato mostrou atividade citotóxica após 72 horas de tratamento ao induzir apoptose. Kami (2018), extraiu e isolou da alga *Canistrocarpus cervicornis*, o composto inédito para o gênero, que foi codificado como CS-6 e apresentou IC50 de: 7,17 µg/mL frente a linhagem celular HCT116 (câncer de cólon). A citotoxicidade da fucoxantina extraída da alga *Colpomenia sinuosa* também foi testada e apresentou um efeito de inibição e diminuição do crescimento celular em função do tempo de exposição e concentração ao composto nas células cancerosas MDA-MB-231 (câncer de mama) (KARKHANE YOUSEFI et al., 2018). De acordo com Guedes et al., (2013), o extrato da alga *Hypnea musciformis* apresentou atividade citotóxica e os resultados foram significativos nas linhagens K562 (leucemia mielocítica), Hep-2 e NCI-H292 (câncer de pulmão). Outro teste realizado pelo grupo, com a alga *Padina gymnospora* também apresentou citotoxicidade nas linhagens de K562.

Em relação as algas verdes (Filo Chlorophyta), estudos realizados sobre as propriedades das moléculas bioativas da glicoproteína (GLP) extraídas da alga *Codium decortcatum* foram executados por Thangam et al., (2014). Observou-se que a citotoxicidade da GLP inibiu a viabilidade celular em células da linhagem MDA-MB-231 (câncer de mama) induzindo a apoptose. No ensaio MTT feito por Paul & Kundu (2013), foi verificado a citotoxicidade do extrato extraído da alga *Rizoclonium riparium* obtendo a diminuição do número de células cancerosas das linhagens B16-F10 (melanoma) e RAW 264.7 (macrófago murino).

CONCLUSÃO

Dentre as diversas fontes e formas para o desenvolvimento de fármacos, os produtos naturais marinhos representam uma parcela significativa e de extrema importância na indústria farmacêutica global. Devido à grande diversidade biológica da costa marítima de Arraial do Cabo no Rio de Janeiro, esse ambiente marinho torna-se alvo de interesse científico para uma ampla rede de pesquisas na área da saúde, sendo os exemplos de bioativos com potencial anticâncer uma das aplicações de grande impacto na sociedade Brasileira.

REFERÊNCIAS

- ALTMANN, K. H. (2017). Drugs from the oceans: marine natural products as leads for drug discovery. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 71(10), 646-652.
- ARAST, Yalda et al. Selective toxicity of non polar bioactive compounds of Persian gulf sea squirt *Phallusia nigra* on skin mitochondria isolated from rat model of melanoma. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP**, v. 18, n. 3, p. 811, 2017.
- BATISTA, D., Granthom-Costa, L. V., Coutinho, R. Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo. Histórico, Ecologia e Conservação. IEAPM. 2020. 407p. ISBN: 978-65-81772-000
- BEEDESSEE, Girish et al. Cytotoxic activities of hexane, ethyl acetate and butanol extracts of marine sponges from Mauritian Waters on human cancer cell lines. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 34, n. 2, p. 397-408, 2012.
- BOUHENNA, M. et al. Effects of chitin and its derivatives on human cancer cells lines. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 20, p. 15579-15586, 2015.
- BULATI, Matteo et al. Partially purified extracts of sea anemone *Anemonia Viridis* affect the growth and viability of selected tumour cell lines. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.
- CUI, Jie et al. Trichodermaloids A–C, Cadinane Sesquiterpenes from a Marine Sponge Symbiotic *Trichoderma* sp. SM16 Fungus. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 4, p. e2000036, 2020.
- DASSONNEVILLE, Laurent et al. Inhibition of topoisomerase II by the marine alkaloid ascididemin and induction of apoptosis in leukemia cells. **Biochemical pharmacology**, v. 60, n. 4, p. 527-537, 2000.
- EL-SAHARTY, Abeer et al. Anticancer Activity of Some Marine Macroalgae in Hepatocellular Carcinoma Cell Lines (HepG2). **Int. J. Ecotoxicol. Ecobiol**, v. 3, p. 22-30, 2018.
- FRAZÃO, Bárbara, et al., Sea anemone (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) toxins: an overview. **Marine drugs**, v. 10, n. 8, p. 1812-1851, 2012.
- GUEDES, Élica AC et al. Cytotoxic activity of marine algae against cancerous cells. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, p. 668-673, 2013.
- GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ, Anllely G. et al. Anticancer activity of seaweeds. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 2, p. 434-447, 2018.

- HAMED, Imen; ÖZOGUL, Fatih; REGENSTEIN, Joe M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in food science & technology**, v. 48, p. 40-50, 2016.
- HILEMAN, Bette. Side effects from FDA's drug user fees. **Chemical & Engineering News**, v. 80, p. 60. 2002.
- HUNT, Bob; VINCENT, Amanda CJ. Scale and sustainability of marine bioprospecting for pharmaceuticals. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, v. 35, n. 2, p. 57-64, 2006
- JIAO, Wei-Hua et al. Dysideanones A–C, unusual sesquiterpene quinones from the south china sea sponge dysidea avara. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 2, p. 346-350, 2014.
- JOUIAEI, Mahdokht et al. Ancient venom systems: a review on cnidaria toxins. **Toxins**, v. 7, n. 6, p. 2251-2271, 2015.
- KAMI, Satomy Arenas et al. Investigação química da alga parda *Canistrocarpus cervicornis* do Atol das Rocas. 2018.
- KARANAM, Gayathri et al., Anticancer effect of marine sponge-associated *Bacillus pumilus* AMK1 derived dipeptide Cyclo (-Pro-Tyr) in human liver cancer cell line through apoptosis and G2/M phase arrest. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 26, n. 1, p. 445-457, 2020.
- KARKHANE YOUSEFI, M. et al. In vitro investigating of anticancer activity of fucuxanthin from marine brown seaweed species. **Global Journal of Environmental Science and Management**, v. 4, n. 1, p. 81-90, 2018.
- KHANA VI, Mahnaz et al. Cytotoxicity of fucosterol containing fraction of marine algae against breast and colon carcinoma cell line. **Pharmacognosy Magazine**, v. 8, n. 29, p. 60, 2012.
- KHURANA, Amit et al. Therapeutic applications of selenium nanoparticles. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 802-812, 2019.
- LAZCANO-PÉREZ, Fernando et al. Hemolytic, anticancer and anti-giardial activity of *Palythoa caribaeorum* venom. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 24, 2018.
- LI, Junhui et al. Ultrasound-assisted fast preparation of low molecular weight fucosylated chondroitin sulfate with antitumor activity. **Carbohydrate polymers**, v. 209, p. 82-91, 2019.
- LOKWANI, Ravi et al. Beyond anticoagulant: Heparin as a potential anti-cancer agent. **Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 76-82, 2014.
- LUPARELLO, Claudio et al. Cell-free coelomic fluid extracts of the sea urchin *Arbacia lixula* impair mitochondrial potential and cell cycle distribution and stimulate reactive oxygen species production and autophagic activity in triple-negative MDA-MB231 breast cancer cells. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 8, n. 4, p. 261, 2020.
- MARIOTTINI, Gian Luigi; PANE, Luigi. Cytotoxic and cytolytic cnidarian venoms. A review on health implications and possible therapeutic applications. **Toxins**, v. 6, n. 1, p. 108-151, 2013.

MARTÍNEZ-GARCÍA, Manuel et al. Cytotoxicity of the ascidian *Cystodytes dellechiaiei* against tumor cells and study of the involvement of associated microbiota in the production of cytotoxic compounds. **Marine drugs**, v. 5, n. 3, p. 52-70, 2007.

MOSADDEGH, M. et al. A survey of cytotoxic effects of some marine algae in the Chabahar coast of Oman Sea. **Research Journal of Pharmacognosy**, v. 1, n. 1, p. 27-31, 2014.

NAZEMI, Melika et al. Cytotoxicity Activity and Druggability Studies of Sigmasterol Isolated from Marine Sponge *Dysidea avara* Against Oral Epithelial Cancer Cell (KB/C152) and T-Lymphocytic Leukemia Cell Line (Jurkat/E6-1). **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP**, v. 21, n. 4, p. 997, 2020.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of natural products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007

NICOSIA, Aldo et al. The *Anemonia viridis* venom: Coupling biochemical purification and RNA-Seq for translational research. **Marine Drugs**, v. 16, n. 11, p. 407, 2018.

PALANISAMY, Satheesh Kumar et al. Patterns of chemical diversity in the marine ascidian *Phallusia* spp.: anti-tumor activity and metabolic pathway inhibiting steroid biosynthesis. **3 Biotech**, v. 8, n. 5, p. 1-11, 2018.

PAUL, Subhabrata; KUNDU, Rita. Antiproliferative activity of methanolic extracts from two green algae, *Enteromorpha intestinalis* and *Rizoclonium riparium* on HeLa cells. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 21, n. 1, p. 1-12, 2013.

RADY, Hanaa Ibrahim; KHALEK, M. Prevalence and risk factors of hypophosphatemia in pediatric intensive care unit. **J Anesth Crit Care Open Access**, v. 1, n. 6, p. 25-26, 2014.

RASLAN, A. E. et al. Evaluation of Secondary Metabolites from the Red Sea Tunicate *Polyclinum Constellatum*. **Pharmacy & Pharmacology International Journal**, v. 5, n. 3, p. 123-129, 2017.

REZAKHANI, Leila et al. Antiproliferatory effects of crab shell extract on breast cancer cell line (MCF7). **Journal of breast cancer**, v. 17, n. 3, p. 219-225, 2014.

REZAKHANI, Leila et al. Crab shell extract induces prostate cancer cell line (LNCap) apoptosis and decreases nitric oxide secretion. **Cell Journal (Yakhteh)**, v. 19, n. 2, p. 231, 2017.

RIVA, Raphael et al. Chitosan and chitosan derivatives in drug delivery and tissue engineering. **Chitosan for biomaterials II**, p. 19-44, 2011.

ROCHA, Joana et al. Cnidarians as a source of new marine bioactive compounds—An overview of the last decade and future steps for bioprospecting. **Marine drugs**, v. 9, n. 10, p. 1860-1886, 2011.

RODRÍGUEZ-NIETO, Salvador et al. Antiangiogenic activity of aeropylsinin-1, a brominated compound isolated from a marine sponge. **The FASEB Journal**, v. 16, n. 2, p. 1-27, 2002.

SALAH, R. et al. Anticancer activity of chemically prepared shrimp low molecular weight chitin evaluation with the human monocyte leukaemia cell line, THP-1. **International journal of biological macromolecules**, v. 52, p. 333-339, 2013.

- SALAZAR-MENDOZA, Jasmín et al. Cytotoxic activity against breast cancer cells of two species of marine sponges from shallows of Yucatan peninsula. **Natural Product Research**, v. 35, n. 23, p. 5329-5333, 2021.
- SARHADIZADEH, Neda, et al. Evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic agents of Ascidian *Phallusia nigra* (Savigny, 1816) from Persian Gulf. **Eur J Exp Biol**, v. 4, n. 1, p. 250-253, 2014.
- SCHNEKENBURGER, Michael; DICATO, Mario; DIEDERICH, Marc. Plant-derived epigenetic modulators for cancer treatment and prevention. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 6, p. 1123-1132, 2014.
- SRINIVASAN, Haripriya; KANAYAIRAM, Velayutham; RAVICHANDRAN, Ramanibai. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells *Penaeus monodon* and its human ovarian cancer cell line, PA-1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 662-667, 2018.
- TANNOURYA, Mona Y. et al. Evaluation of cytotoxic activity of *Sargassum vulgare* from the Lebanese coast against Jurkat cancer cell line. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 6, p. 108-112, 1930.
- TARHOUNI-JABBERI, Safa et al. Mertensene, a halogenated monoterpene, induces G2/M cell cycle arrest and caspase dependent apoptosis of human colon adenocarcinoma HT29 cell line through the modulation of ERK-1/-2, AKT and NF- κ B signaling. **Marine drugs**, v. 15, n. 7, p. 221, 2017.
- TASKIN, E.; CAKI, Z.; OZTURK, M. Assessment of in vitro antitumoral and antimicrobial activities of marine algae harvested from the eastern Mediterranean sea. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 27, p. 4272-4277, 2010.
- TEIXEIRA, Felipe COB et al. Sulfated fucans and a sulfated galactan from sea urchins as potent inhibitors of selectin-dependent hematogenous metastasis. **Glycobiology**, v. 28, n. 6, p. 427-434, 2018.
- THANGAM, Ramar et al. Induction of ROS-dependent mitochondria-mediated intrinsic apoptosis in MDA-MB-231 cells by glycoprotein from *Codium decorticatum*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 15, p. 3410-3421, 2014.
- THOMS, Carsten et al. Chemical defense of Mediterranean sponges *Aplysina cavernicola* and *Aplysina aerophoba*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 59, n. 1-2, p. 113-122, 2004.
- WU, Zong-Ze et al. Anticancer activity of anthopleura anjunae oligopeptides in prostate cancer DU-145 cells. **Marine drugs**, v. 16, n. 4, p. 125, 2018.
- YADAV, Monika et al. Seafood waste: a source for preparation of commercially employable chitin/chitosan materials. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 6, n. 1, p. 1-20, 2019.
- YAN, Pengcheng et al. Macrophilones from the marine hydroid *Macrorhynchia philippina* can inhibit ERK cascade signaling. **Journal of natural products**, v. 81, n. 7, p. 1666-1672, 2018.
- YOUNES, Islem; RINAUDO, Marguerite. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. **Marine drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133-1174, 2015.
- YOUNG, R. M. et al. Structure and function of macroalgal natural products. In: **Natural products from marine algae**. Humana Press, New York, NY, 2015. p. 38.

YOUNG, R. M. et al. Structure and function of macroalgal natural products. In: **Natural products from marine algae**. Humana Press, New York, NY, 2015. p. 38.

ZOU, Zheng-Rong et al. Intercedensides A– C, three new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Mensamaria intercedens* Lampert. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 8, p. 1055-1060, 2003.

AVALIAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTE DA INDÚSTRIA TÊXTIL ATRAVÉS DE *Pleurotus ostreatus* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVOS LÍQUIDOS E NA PRESENÇA DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 13/05/2022

Renan Nakamura

Universidade Estadual de Londrina – UEL –
Departamentos de Bioquímica e Biotecnologia
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3403956047784868>

Mayara Thameia Pessoa Paiva

Universidade Estadual de Londrina – UEL –
Departamentos de Bioquímica e Biotecnologia
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3971164522654001>

Suely Mayumi Obara Doi

Universidade Estadual de Londrina – UEL –
Departamentos de Bioquímica e Biotecnologia
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8961225162470777>

RESUMO: O tratamento microbiológico de efluentes têxteis empregando fungos basidiomicetos tem atraído crescente atenção, pois suas enzimas ligninolíticas possuem a habilidade de degradar corantes sintéticos, de forma sustentável, ambientalmente amigável e economicamente viável. As lacases, com amplo potencial de aplicação, como nas indústrias de papel, têxteis, detergente e na alimentícia, podem ser usadas na biorremediação de resíduos e efluentes. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade do fungo *Pleurotus ostreatus* em descolorir um efluente têxtil em diferentes meios de cultivo. Os experimentos

foram realizados em 6 diferentes meios de cultivo contendo efluente e meio de Vogel (2%) suplementado com diferentes compostos: meio 1 (glucose 0,5%, extrato de levedura 0,2%), meio 2 (glucose 0,5%), meio 3 (extrato de levedura 0,2%), meio 4 (bagaço de cana 1%, extrato de levedura 0,2%, etanol 4%), meio 5 (casca de coco em pó 1%, extrato de levedura 0,2%, etanol 4%) e meio 6 (farelo de aveia 1%, extrato de levedura 0,2%, etanol 4%) em volume final de 25mL, pH 5, incubados durante 7 dias a 28°C e 180 rpm de agitação. A maior porcentagem de descoloração (84,82%) ocorreu no meio 4, contendo bagaço de cana, extrato de levedura e etanol. Neste meio a atividade de lacase obtida (1,73 U/mL) não foi a maior, entre os diferentes meios, indicando que provavelmente outras enzimas podem estar envolvidas no processo de descoloração. Em relação à atividade de lacase, o meio 6, contendo farelo de aveia, extrato de levedura e etanol, foi o que mais se destacou (4,93 U/mL). A elevada porcentagem de descoloração obtida, indicam que o *Pleurotus ostreatus* apresenta um grande potencial biotecnológico de aplicação no tratamento de efluentes corados, e o bagaço de cana-de-açúcar, um resíduo abundante da indústria de açúcar e álcool, um substrato alternativo e de baixo custo para ser empregado como substrato.

PALAVRAS-CHAVE: Biorremediação, Descoloração, Efluente têxtil, *Pleurotus ostreatus*.

EVALUATION OF DECOLORIZATION OF EFFLUENT FROM THE TEXTILE INDUSTRY THROUGH *Pleurotus ostreatus* IN DIFFERENT LIQUID MEDIA AND IN THE PRESENCE OF LIGNOCELLULOSIC RESIDUES

ABSTRACT: The microbiological treatment of textile effluents using basidiomycetes fungi has attracted increasing attention, as their ligninolytic enzymes possess the ability to degrade synthetic dyes in a sustainable, environmentally friendly and economically viable manner. Lacases, which have great potential for application in the paper, textile, detergent and food industries, can be used in the bioremediation of waste and effluents. Thus, this work aimed to evaluate the ability of the fungus *Pleurotus ostreatus* to bleach a textile effluent in different culture media. The experiments were performed in 6 different culture media containing effluent and Vogel's medium (2%) supplemented with different compounds: medium 1 (glucose 0.5%, yeast extract 0.2%), medium 2 (glucose 0.5%), medium 3 (yeast extract 0.2%), medium 4 (sugarcane bagasse 1%, yeast extract 0.2%, ethanol 4%), medium 5 (coconut husk powder 1%, yeast extract 0.2%, ethanol 4%) and medium 6 (oat bran 1%, yeast extract 0.2%, ethanol 4%) in a final volume of 25mL, pH 5, incubated for 7 days at 28C and 180 rpm agitation. The highest percentage of decolorization (84.82%) occurred in medium 4, containing sugarcane bagasse, yeast extract and ethanol. In this medium the lacase activity obtained (1.73 U/mL) was not the highest among the different mediums, indicating that probably other enzymes may be involved in the decolorization process. In relation to lacase activity, medium 6, containing oat bran, yeast extract and ethanol, was the one that stood out the most (4.93 U/mL). The high percentage of decolorization obtained, indicate that *Pleurotus ostreatus* presents a great biotechnological potential of application in the treatment of colored effluents, and the sugar cane bagasse, an abundant residue of the sugar and alcohol industry, an alternative and low cost substrate to be employed as substrate.

KEYWORDS: Bioremediation, Decolorization, Textile effluent, *Pleurotus ostreatus*.

1 | INTRODUÇÃO

Com a expansão populacional e o aumento indiscriminado pela demanda de diversos setores industriais, o consumo e a disponibilidade por água, suplantam sua disponibilidade. Consequentemente, os problemas devido à ação antrópica têm atingido dimensões catastróficas e preocupantes, resultando em alterações na qualidade do ar, do solo e da água (RIZK *et al.*, 2021). A contaminação de corpos hídricos tem sido um dos grandes problemas ambientais, aonde o descarte indiscriminado de efluentes tóxicos afetam em totalidade diversos grupos de seres vivos (SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2018). Neste contexto, as indústrias têxteis apresentam especial destaque, devido aos enormes volumes de resíduos liberados, os quais, quando não tratados corretamente, podem causar sérios problemas de contaminação ambiental.

Estima-se que aproximadamente 200 bilhões de litros de efluentes sejam produzidos anualmente em todo o mundo pela indústria têxtil (GARCIA; ROSA; BORRELY, 2020). Os efluentes têxteis caracterizam-se por apresentarem alta carga de compostos químicos orgânicos, sendo os corantes o principal resíduo desses efluentes (ALMEIDA; DILARRI;

CORSO, 2014). A descarga direta em corpos d'água não é um problema somente estético, mas também ambiental e socioeconômico. Por serem altamente solúveis em água, 10 a 20% dos corantes, permanecem no efluente durante a produção e cerca de 50% são perdidos durante o tingimento das fibras (SANTOS *et al.*, 2020).

Devido a sua estrutura química, composta por diversos grupos químicos diferentes, como, anéis aromáticos, grupos aminas e azos, sulfônicos, e íons metálicos, os corantes tornam-se moléculas de difícil degradação, permanecendo no ambiente por um longo período (PANDEY; TEWARI; TEWARI, 2018). Além de serem substâncias recalcitrantes, carcinogênicas e mutagênicas, alteram o ciclo biológico dos corpos d'água, afetando principalmente o processo de fotossíntese (RIZK *et al.*, 2021).

Com as implicações ambientais apresentadas, muitas tecnologias de remediação são reportadas na literatura, de modo geral, as principais técnicas envolvem processos de precipitação, adsorção, degradação química, eletroquímica e biorremediação (SHAH; SHAH, 2020). Ainda assim, os métodos químicos são os mais empregados industrialmente, principalmente, devido a rapidez e custo, mesmo podendo acarretar subprodutos tóxicos (LALLAWMSANGA *et al.*, 2019).

Portanto a utilização de técnicas que sejam menos agressivas ao meio ambiente, como a biorremediação, vem sendo reportadas. O emprego de microrganismos na descoloração de efluentes, com foco em seus mecanismos biológicos e produções enzimáticas, são métodos potencialmente econômicos e ambientalmente corretos (YANG *et al.*, 2016). Em especial os fungos basidiomicetos de podridão branca (*White rot fungi*) que degradam celulose, hemicelulose e lignina, através da produção de enzimas ligninolíticas como lacases, manganês peroxidase e lignina peroxidase (PANDEY; TEWARI; TEWARI, 2018).

O *Pleurotus ostreatus* tem sido apontado como o mais promissor produtor de enzimas, como lacase, e sua capacidade em descolorir corantes foi documentada por Hultberg, Ahrens e Golovko (2020) e Lallawmsanga *et al.* (2019). As lacases (Lac) (EC 1.10.3.2) são oxidoreduases multicuprosas glicosiladas, que utilizam oxigênio molecular (O_2) para oxidar vários compostos aromáticos ou não aromáticos. O mecanismo de atuação se dá pela retirada de um elétron de compostos fenólicos, associado a redução do Cu^{2+} para Cu^+ , concomitantemente reduzindo O_2 a H_2O , tornando assim o mecanismo cíclico. Entretanto, essas enzimas também podem degradar estruturas aromáticas não fenólicas por meio da oxidação de alguns mediadores sintéticos como o hidroxibenzotriazol (HBT), ou mesmo naturais como derivados do ácido benzóico e íons Mn^{2+} (SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2018).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade do fungo *Pleurotus ostreatus* na descoloração de efluente têxtil, a produção e a influência da atividade da enzima lacase no processo de remediação, bem como, avaliar a influência do substrato, em diferentes meios de cultivo.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

O fundo utilizado, *Pleurotus ostreatus* (PLO), foi cultivado em meio BDA (Ágar Batata Dextrose) (Marca Acumedia) 28 ± 2 °C durante 10 dias. O efluente têxtil utilizado foi cedido gentilmente por uma indústria têxtil da região de Apucarana-PR. Os resíduos lignocelulósicos empregados, bagaço de cana, fibra de coco e farelo de aveia, foram obtidos na região de Londrina-PR.

2.2 Métodos

2.2.1 Descoloração de efluente têxtil em meio de cultivo líquido

Para avaliar a eficiência do biotratamento do efluente têxtil por PLO, 3 discos de micélio fúngico (0,5 cm de diâmetro), foram inoculados em 6 diferentes meios de cultivo (todos os cultivos continham meio de Vogel 2% e solução efluente 0,02%): meio 1 (glicose 0,5% e extrato de levedura 0,02%); meio 2 (glicose 5%); meio 3 (extrato de levedura 0,2%); meio 4 (extrato de levedura 0,2%, 0,25 g de pó de cana e 1 mL de etanol); meio 5 (extrato de levedura 0,2%, 0,25 g de pó de coco e 1 mL de etanol) e meio 6 (extrato de levedura 0,2%, 0,25g de farelo de aveia e 1 mL de etanol).

O pH de todos os meios foram ajustados para 5,0 com H_3PO_4 (0,1 mol.L⁻¹) ou NH_4OH (0,1 mol.L⁻¹) e incubados durante 7 dias a 28°C e 180 rpm. Posteriormente os cultivos foram interrompidos por centrifugação e filtrados. O sobrenadante foi nomeado de acordo com cada número de cultivo (meio 1, 2, 3, 4, 5 e 6) e a biomassa foi submetida a secagem a 70°C por 24 h em estufa aerada (Fanem - 002 CB).

A porcentagem de descoloração foi determinada comparando-se a absorbância do sobrenadante dos cultivos com a absorbância dos frascos controle (sem microrganismos-abiótica) no comprimento de onda de maior absorção do corante, de acordo com a Equação 1:

$$\text{Descoloração (\%)} = \left(\frac{Abs_0 - Abs_1}{Abs_0} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

onde Abs_0 é a absorbância inicial abiótica e Abs_1 absorbância lida da amostra.

2.2.2 Determinação da atividade de lacase

A atividade de lacase foi determinada pela oxidação do substrato 2,6-dimetoxifenol 10 mM (DMP), conforme metodologia descrita por Dekker e Hardy (1996), com modificações. A solução ensaio continha 150 μ L de DMP, 150 μ L de tampão McIlvaine pH 5,0, 200 μ L de água destilada e 500 μ L do sobrenadante dos cultivos. Foram utilizados o controle da enzima (C1): 150 μ L de tampão McIlvaine (pH 5), 350 μ L de água destilada e 500 μ L de

solução enzimática e o controle do substrato (C2): 150 μL de tampão McIlvaine (pH 5), 700 μL de água destilada e 150 μL de substrato. O ensaio foi realizado em banho-maria a 50 $^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Femto –600Plus) a 468nm.

Uma unidade de lacase foi definida como a quantidade de enzima capaz de produzir 1 μmol de DMP oxidado por min/mL de extrato enzimático nas condições de ensaio descritas pelo Equação 2:

$$U/ml = \frac{A - (C1 + C2)}{\varepsilon} \times \frac{1}{V} \times FD \times \frac{1}{t} \times 1000 \quad \text{Eq. 2}$$

onde U/mL é a unidade de lacase por mL de substrato, t é o tempo de incubação, v é o volume de enzima empregado nos ensaios, Fd é o fator de diluição da solução enzimática e ε é o coeficiente de extinção molar do substrato que para o DMP equivalente a 10.000 $\text{mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

2.2.3 Determinação de biomassa

A biomassa foi pesada após secagem em estufa aerada (Fanem - 002 CB) a 70 $^{\circ}\text{C}$.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Descoloração de efluente têxtil em meio de cultivo líquido

Conforme os dados apresentados na Tabela 1, o meio 4, suplementado com pó de cana-de-açúcar como fonte única de carbono, foi o que apresentou maior taxa de descoloração, quando comparado com os outros meios de cultivo. Esse resultado corrobora com o valor de Abs_1 (Tabela 1), aonde o meio 4 apresentou uma diminuição de 83,78% em relação ao controle. Entretanto, destaca-se que o meio 4 quando comparado com o meio 5, não apresentou diferença significativa em relação a biomassa fúngica. A menor taxa de descoloração foi observada para meio 3, isento de fonte de glicose, atingindo somente 58,66%. Coincidentemente foi também o que apresentou menor crescimento fúngico, indicando, portanto, a dependência do *P. ostreatus* da fonte de carbono.

Cultivos	Abs ₀	Abs ₁	Descoloração (%)	Biomassa (g)
Meio 1	1,680	0,555 ± 0,01 ^{cd}	66,52 ± 0,38 ^{bc}	0,24 ± 0,18 ^c
Meio 2	1,612	0,591 ± 0,03 ^{bc}	63,95 ± 0,61 ^{bc}	0,20 ± 0,21 ^c
Meio 3	1,916	0,787 ± 0,02 ^{ab}	58,66 ± 0,44 ^d	0,18 ± 0,32 ^c
Meio 4	2,312	0,375 ± 0,03 ^d	84,58 ± 0,33 ^a	0,43 ± 0,55 ^{ab}
Meio 5	1,977	0,614 ± 0,06 ^{bc}	67,15 ± 2,03 ^b	0,47 ± 1,17 ^a
Meio 6	2,875	0,959 ± 0,01 ^a	63,27 ± 0,43 ^c	0,39 ± 0,42 ^b

Médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias (Teste de Tukey $p \leq 0,05$). Meio 1 (glicose e extrato de levedura); meio 2 (glicose); meio 3 (extrato de levedura); meio 4 (extrato de levedura, pó de cana e etanol); meio 5 (extrato de levedura, pó de coco e etanol) e meio 6 (extrato de levedura, farelo de aveia e etanol).

Tabela 1 – Resultado das absorvâncias dos controles (Abs₀) e ao final do cultivo (Abs₁), porcentagem de descoloração e biomassa fúngica, após sete dias de incubação.

A maior produção de biomassa observado no meio 5 não influenciou no processo de descoloração, visto que, quando comparado com o meio 1 e 2, não apresentou diferença significativa nas médias. Outro aspecto interessante, é que o aumento na concentração de glicose de 0,5 para 2% e a ausência de fonte de nitrogênio, do meio 1 para o meio 2, não influenciou na taxa de descoloração, visto que ambos os cultivos não apresentam diferença significativa nas médias para descoloração, biomassa e Abs₁.

Outros autores alcançaram melhores níveis de descoloração, empregando *P. ostreatus* na degradação de corantes específicos. Entretanto, é necessário ter em mente que o efluente têxtil é composto por uma mistura incerta de diversos compostos, apresentando diferentes funções químicas e grupos cromóforos (SANTOS *et al.*, 2020). Zhuo *et al.* (2019) alcançaram 91,50% de descoloração para o corante verde malaquita, após 24 horas de incubação com o fungo *P. ostreatus*.

Os meios de cultivos suplementados com resíduos lignocelulósicos, meio 4, 5 e 6 (Tabela 1), apresentaram bons níveis de crescimento de biomassa, indicando um potencial de utilização desses resíduos como fonte de glicose. Esses resíduos são ricos em fontes de micro e macronutrientes essenciais para o metabolismo celular, que se tornam disponíveis através da oxidação de moléculas orgânicas, como por exemplo a celulose (XU *et al.* 2020). Além disso, subprodutos agrícolas ou lenhosos são ótimos substratos, pois imitam o habitat natural da maioria dos fungos (MURUGESAN *et al.* 2007).

3.2 Determinação da atividade de lacase (Lac)

De acordo com a Tabela 2, a maior atividade enzimática foi encontrada no meio 6, chegando a 4,930 U/mL de atividade. Em contrapartida, o meio 4, com a maior taxa de descoloração (Tabela 1), apresentou uma diminuição significativa de Lac, com atividade de 1,730 U/mL. Além disso, os meios 1 e 2, que apresentaram as segundas melhores taxas de descoloração e diminuições de Abs₁ (Tabela 1), foram os que apresentaram menores

atividades enzimática.

Cultivos	Lacase U/mL
Meio 1	0,294 ± 0,69 ^e
Meio 2	0,219 ± 0,81 ^f
Meio 3	1,310 ± 0,37 ^d
Meio 4	1,730 ± 0,46 ^b
Meio 5	1,320 ± 1,25 ^c
Meio 6	4,930 ± 0,53 ^a

Médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias (Teste de Tukey $p \leq 0,05$). Meio 1 (glicose e extrato de levedura); meio 2 (glicose); meio 3 (extrato de levedura); meio 4 (extrato de levedura, pó de cana e etanol); meio 5 (extrato de levedura, pó de coco e etanol) e meio 6 (extrato de levedura, farelo de aveia e etanol).

Tabela 2 – Atividade (U/mL) de Lac na presença do efluente têxtil.

Observa-se que os meios suplementados com resíduos lignocelulósicos e etanol, demonstraram maiores atividade enzimáticas. De acordo com Zhuo *et al.* (2017) a produção de lacase por diversos microrganismos, tem sido positivamente induzida com meios ricos em substratos fenólicos como, ácido ferúlico, cumáricos e álcool veratrílico (presentes em muitos resíduos lignocelulósicos), além de álcoois como, etanol e metanol. Além disso, a utilização de indutores, como sulfato de cobre, tem se mostrado eficiente para aumentar a produção enzimática, mostrando níveis de atividade de até 7438 U/L (AMBATKAR *et al.*, 2021).

Esses dados demonstram, que apesar do *P. ostreatus* ser conhecido como bom produtor de Lac, o processo de oxidação dos efluentes, não é exclusivo da ação dessa enzima. Outras enzimas oxidases ligninolíticas já foram reportadas na literatura, como parte da maquinaria enzimática capaz de degradar diversos compostos recalcitrantes. Paiva, Gasparin e Doi (2020) estudando a degradação dos corantes Remazol Brilliant Blue RN e Remazol Azul BTE BB 133%, também por *P. ostreatus*, encontraram 42,59 U/mL de atividade para a enzima manganês peroxidase. Ambatkar *et al.* (2021) empregando palha de arroz como substrato, para fermentação do *P. ostreatus*, obtiveram 14,3 e 1,90 U/L de atividade para lignina e manganês peroxidase, respectivamente.

4 | CONCLUSÃO

O *Pleurotus ostreatus* mostrou-se efetivo na descoloração do efluente têxtil, nos seis meios de cultivos. A melhor taxa de descoloração foi obtida para o meio 4, suplementado com bagaço de cana-de-açúcar. Esses resultados demonstram que os resíduos lignocelulósicos são uma fonte em potencial de nutrientes, onde a celulose presente pode ser convertida em carboidratos simples, que podem ser metabolizados pelos microrganismos, podendo levar

à um barateamento do processo.

Foi encontrada atividade enzimática em todos os meios de cultivos, porém, ela não foi proporcional a taxa de descoloração do efluente têxtil. Indicando, dessa maneira, que o *Pleurotus ostreatus*, produz outras enzimas oxidases capazes de degradação.

Estudos futuros, com base na otimização do processo fermentativo, visando a produção de metabólitos capazes de biorremediação são necessários. Parâmetros físico-químicos como, temperatura, concentração do efluente, substrato e indutores, devem ser levados em consideração, na tentativa de potencializar o uso de microrganismo nas biorremediações.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, É. J. R.; DILARRI, G.; CORSO, C. **A indústria têxtil no Brasil: Uma revisão dos seus impactos ambientais e possíveis tratamentos para os seus efluentes**. São Paulo: Rio Claro, 2014. 18 p.

AMBATKAR, N.; JADHAV, D. D.; DESHMUKH, A.; SATTIKAR, P.; WAKADE, G.; NANDI, S.; KUMBHAR, P.; KOMMOJU, P. Functional screening and adaptation of fungal cultures to industrial media for improved delignification of rice straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 155, p. 106271, dec. 2021.

GARCIA, V.; ROSA, J. M.; BORREL S. Toxicity and color reduction of a textile effluent containing reactive red 239 dye by electron beam irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 172, p.108765, jul. 2020.

HULTBERG, M.; AHRENS, L.; GOLOVKO, O. Use of lignocellulosic substrate colonized by oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) for removal of organic micropollutants from water. **Journal of Environmental Management**, v. 272, p. 111087, out. 2020.

LALLAWMSANGA, L. V. V.; PASSARI, A. K.; MUNIRAJ, I. K.; UTHANDI, S.; HASHEM, A.; ABD-ALLAH, E.; ALQARAWI, A. A.; SINGH, B. P. Elevated levels of laccase synthesis by *Pleurotus pulmonarius* BPSM10 and its potential as a dye decolorizing agent. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 3 p. 464-468, mar. 2019.

MURUGESAN, K.; NAM, I.; KIM, Y.; CHANG, Y. Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by *Ganoderma lucidum* in solid state culture. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 7, p. 1662-1672, jun. 2007.

PAIVA, M. T. P.; GASPARIN, F. G. M.; DOI, S. M. O. Descoloração fúngica de corantes têxteis. In: AZEVEDO, Érica de Melo. **A Química nas Áreas Natural, Tecnológica e Sustentável**, 3. ed. Ponta Grossa: Atena, 2020. p. 58-75.

PANDEY, R. K.; TEWARI, S.; TEWARI, L. Lignolytic mushroom *Lenzites elegans* WDP2: Laccase production, characterization, and bioremediation of synthetic dyes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 158, p. 50-58, aug. 2018.

RIZK, R.; JUZSAKOVA, T.; ALI, M. B.; RAWASH, M. A.; DOMOKOS, E.; HEDFI, A.; ALMALKI, M.; BOUFAHJA, F.; SHAFIK, H. F.; RÉDEY, Á. Comprehensive environmental assessment of heavy metal contamination of surface water, sediments and Nile Tilapia in Lake Nasser, Egypt. **Journal of King Saud University – Science**, v. 34, n. 1, p. 101748, jan. 2021.

SANTOS, D. H. S.; DUARTE, J. L. S.; TAVARES, M. G. R.; FRIEDRICH, L. C.; MEILI, L.; PIMENTEL, W. R. O.; TONHOLO, J.; ZANTA, C. L. P. S. Electrochemical degradation and toxicity evaluation of reactive dyes mixture and real textile effluent over DSA® electrodes. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, v. 153, p. 107940, jul. 2020.

SHAH, A.; SHAH, M. Characterisation and bioremediation of wastewater: A review exploring bioremediation as a sustainable technique for pharmaceutical wastewater. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 11, p. 100383, oct. 2020.

SAHRMA, B.; DANGI, A. K.; SHUKLA, P. Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 210, p. 10-22, mar. 2018.

XU, L.; SUN, K.; WANG, F.; ZHAO, L.; HU, J.; MA, H.; DING, Z. Laccase production by *Trametes versicolor* in solid-state fermentation using tea residues as substrate and its application in dye decolorization. **Journal of Environmental Management**, v. 270, p. 110904, sept. 2020.

YANG, P.; SHI, W.; WANG, H.; LIU, H. Screening of freshwater fungi for decolorizing multiple synthetic dyes. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 828-834, oct-dec. 2016.

ZHUO, R.; YUAN, P.; YANG, Y.; ZHANG, S.; MA, F.; ZHANG, X. Induction of laccase by metal ions and aromatic compounds in *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 and decolorization of different synthetic dyes by the extracellular laccase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 117, part B, p. 62-72, jan. 2017.

ZHUO, R.; ZHANG, J.; YU, H.; MA, F.; ZHANG, X. The roles of *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 laccase isoenzymes in decolorization of synthetic dyes and the transformation pathways. **Chemosphere**, v. 23, n. 234, p. 733-745, nov. 2019.

CAPÍTULO 11

PROPRIEDADES ANTIBACTERIANAS DE SOFOROLIPÍDIOS CONTRA OS PATÓGENOS DA INDÚSTRIA AVÍCOLA

Data de aceite: 01/06/2022

Victória Akemi Itakura Silveira

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
<http://lattes.cnpq.br/0700367481133546>

Christiane Aparecida Urzedo de Queiroz

Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
<http://lattes.cnpq.br/1894683260586149>

Tania Regina Kaiser

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
<http://lattes.cnpq.br/6988916630082723>

Briane Gisele Bigotto

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
<http://lattes.cnpq.br/6391064485603263>

Cristiani Baldo

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
<http://lattes.cnpq.br/7405984333346151>

Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
<http://lattes.cnpq.br/8103146519423861>

RESUMO: O Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking mundial de exportações de carne de frango, porém perdas significativas na produção ocorrem devido a elevada contaminação microbiana. Soforolipídios são biossurfactantes pertencentes à classe de glicolipídios e são compostos por uma molécula de sofrorose unida a uma cadeia de ácido graxo. São produzidos por diversos microrganismos, com destaque para a levedura *Starmarella bombicola*. Dentre as diversas aplicações, os sofrorolipídios têm chamado atenção devido sua ação antimicrobiana contra uma ampla gama de patógenos. Considerando esses aspectos, este capítulo tem o objetivo de apresentar as propriedades antibacterianas dos sofrorolipídios contra bactérias contaminantes da indústria avícola. De acordo com os estudos, os sofrorolipídios demonstrou ser uma molécula inovadora com perspectiva de aplicação na indústria avícola, para a redução da contaminação e aumento da produtividade industrial.

PALAVRAS-CHAVE: Biossurfactantes, sofrorolipídios, patógenos avícolas, atividade antibacteriana.

ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF SOPHOROLIPIDS AGAINST POULTRY INDUSTRY PATHOGENS

ABSTRACT: Brazil occupies the first place in the world chicken meat exports, although there are losses in the sector due to microbial contamination. Sophorolipids are biosurfactants belonging to the class of extracellular glycolipids composed of a sophorose molecule linked to a fatty acid chain. They are produced by several

microorganisms, especially the yeast *Starmerella bombicola*. Among the diverse applications, sophorolipids has increased attention due to their antimicrobial activities against various bacteria. Considering these aspects, this chapter aims to present the antibacterial properties of sophorolipids against contaminating bacteria in the poultry industry. According to the studies, the sophorolipids present themselves as an innovative molecule with perspective of application in the poultry industry, to reduce contamination and increase industrial productivity. **KEYWORDS:** Biosurfactants, sophorolipids, chicken pathogens, antibacterial activity.

1 | INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de aves no Brasil tem apresentado um crescimento com taxas significativas desde a década de 80. Segundo dados do relatório anual de 2022 da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), a produção de frango brasileira superou 12 milhões de toneladas, ocupando o segundo lugar mundial. Os estados brasileiros que apresentam uma produção mais expressiva são Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, destacando o Paraná como o maior exportador. Esse crescimento na produção, aumentou o risco e a preocupação com a transmissão de patógenos, assim como a necessidade de um maior controle da qualidade higiênico e sanitário dos produtos.

Os alimentos de origem animal, com destaque para as aves, são os maiores responsáveis pela disseminação de microrganismos causadores de infecções alimentares tais como *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, os quais representam um risco potencial à saúde do consumidor. Desse modo, estudos que apontem para novos agentes sanitizantes que possam ser introduzidos na cadeia produtiva de aves, tais como os antimicrobianos naturais, como os soforolípídios, que se destacam como uma inovação de importância, podendo contribuir para uma maior competitividade do setor produtivo. Neste capítulo, destacamos as propriedades antibacterianas de soforolípídios contra bactérias contaminantes da carne de frango, para potencial utilização como sanitizante na indústria avícola.

2 | SEGURANÇA ALIMENTAR EM PROCESSAMENTO DE PRODUTOS AVÍCOLAS

A carne de frango é um importante commodity alimentar e a previsão de produção é que se atinja uma meta de 134,5 milhões de toneladas nos próximos dez anos, assegurando a liderança entre todos os tipos de produção de carne (AHMED; HIREMATH; JACOB, 2016). O setor avícola no Brasil apresenta um grande impacto social e econômico, ocupando o primeiro lugar no ranking mundial de exportações de carne de frango, concentrada nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, sendo que o estado do Paraná contribuiu com 35,54% do volume abatido total do país no ano de 2021 (ABPA, 2022). Em contrapartida com esse cenário de crescimento econômico, encontra-se também um aumento no

risco de contaminações e preocupação com a transmissão de patógenos, assim como a necessidade de um maior controle da qualidade higiênico e sanitário dos produtos. Diante da importância mundial da avicultura brasileira e as exigências dos mercados importadores, o processo produtivo tem sido constantemente aprimorado com automações, visando a melhoria de produtividade e diminuição de perdas.

Surtos de doenças alimentares são um problema de saúde pública, causando anualmente 600 milhões de doenças e 420.000 mortes em todo o mundo (WHO, 2015). *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *Listeria* spp. estão entre os principais patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos, sendo os principais fatores de risco o manejo e o consumo de frango cru ou mal cozido ou outras carnes, leite cru e águas contaminadas (AURAS, 2018). Além disso, a carne de frango é altamente perecível e os principais patógenos encontrados são *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (AHMED; HIREMATH; JACOB, 2016b; JAMES; PRUCHA; BREWER, 1993; SILVA, 1998).

Uma prática tradicional utilizada na remoção da contaminação gastrointestinal visível é o refile, em que as carcaças contaminadas têm suas partes afetadas cortadas e descartadas. Outro método implementado em países como Brasil, Estados Unidos, Canadá e Europa é o emprego do sistema de lavagem por meio de bicos aspersores para remoção da contaminação presente nas superfícies internas e externas das carcaças, como alternativa à prática do refile, sendo considerada superior tanto no aspecto microbiológico quanto operacional (BRASIL, 2011; STEFANI et al., 2011). Concomitantemente a lavagem, outras estratégias vêm sendo estudadas e aplicadas, especialmente no exterior, ao longo de todo o processo produtivo.

No entanto, no Brasil ainda não é permitida a utilização de qualquer adjunto ou composto descontaminante no processamento de abate das aves, sendo utilizado somente cloração da água de no máximo 1 ppm de cloro livre e a água de renovação dos resfriadores até 5 ppm (BRASIL, 1998).

Dessa forma, estudos que busquem o desenvolvimento e aplicação de novos sanitizantes são fundamentais para atrair a atenção dos órgãos de regulamentação do Brasil sobre a necessidade de mudanças e adesão de novos procedimentos para diminuição dos prejuízos na produção de frangos. Pesquisas sobre agentes antimicrobianos naturais, como os soforolipídios, são de grande relevância para a tentativa de melhorias no produto, tanto na questão de redução da carga microbiológica e aumento da vida de prateleira, como também a redução dos custos de produção.

3 | APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DOS SOFOROLIPÍDIOS

Os soforolipídios são biossurfactantes pertencentes à classe dos glicolipídios extracelulares, compostos por um dissacarídeo soforose (O β -Dglicopiranosil-2-1- β -D-

glicopirranose) unidos por ligação β -glicosídica entre o carbono 1' e o carbono terminal (ω) ou subterminal ($\omega-1$) de uma cadeia de ácido graxo de 16 ou 18 carbonos (ASHBY; SOLAIMAN, 2010). São considerados metabólitos secundários, sendo produzidos no final da fase exponencial e início da fase estacionária (HOMMEL et al., 1987).

O principal microrganismo produtor é a levedura *Starmerella bombicola*, devido aos seus rendimentos de produção bastante expressivos, o que a faz ser a mais utilizada e estudada atualmente para essa produção (PAULINO et al., 2016). Os soforolipídios são sintetizados em altas concentrações e geralmente por cepas não patogênicas, tornando esse grupo de moléculas particularmente atrativo para produções comerciais e futuras aplicações, considerando os aspectos de segurança (PAULINO et al., 2016).

Devido suas propriedades anfífilas, os soforolipídios possuem a capacidade de diminuir a tensão superficial e interfacial de diversos compostos, tornando-o potencialmente aplicáveis nas mais amplas áreas, como agentes detergentes e emulsificantes. A redução da tensão superficial e os valores de concentração micelar crítica dos soforolipídios são comparáveis aos dos surfactantes comercialmente 26 disponíveis, como a surfactina (JEZIERSKA et al., 2018). Assim, os soforolipídios têm sido vastamente estudados como um substituto natural para os surfactantes normalmente empregados na indústria (KAUR; SANGWAN; KAUR, 2017; REBELLO et al., 2018; VAN BOGAERT et al., 2007). Os soforolipídios também possuem outras propriedades de alto valor agregado, tais como componentes de misturas germicidas aplicadas na limpeza de frutas e verduras (PIERCE; HEILMAN, 1998), lise de microrganismos patogênicos da pele e cabelo (MAGAR; ROTH LISBERGER; WZGNER, 1987), biopesticidas e agentes antifúngicos de patógenos de plantas (YOO; LEE; KIM, 2005), ações anti-inflamatórias, antimicrobianas, antivirais e anticancerígenas (BORSANYIOVA et al., 2015; DEY et al., 2015; DIAZ DE RIENZO et al., 2015; VAN BOGAERT et al., 2007; ZHANG et al., 2016), eliminação de radicais livres (HILLION, 1998), entre outros.

Os soforolipídios possuem baixa citotoxicidade e seus produtos são considerados aceitos e aprovados pela FDA (Food and Drug Administration) (JEZIERSKA et al., 2018). Atualmente, são os biossurfactantes mais aplicados na indústria e seus produtos são disponíveis em nível comercial. Destacam-se as aplicações em formulações de cosméticos (MAENG et al., 2018); agentes de limpeza (JEZIERSKA et al., 2018); recuperação de petróleo (PESCE, 2002); biorremediação (MINUCELLI et al., 2017); na indústria de alimentos como estabilizantes e emulsificantes (NITSCHKE; SILVA, 2017); na indução de enzimas (SHAH, 2007); na área da saúde como antivirais, anticâncer e anti-inflamatórios (SHAH et al., 2005; CHEN et al., 2006; RASHAD et al., 2014; SHAO et al., 2012; JOSHI-NAVARE; SHIRAS; PRABHUNE, 2011; ZIEMBA et al., 2017). Outra atividade biológica de grande importância é sua ação antimicrobiana, que tem sido de grande destaque atualmente.

3.1 Propriedades antibacterianas dos soforolipídios

A ação antimicrobiana do soforolipídios está relacionada à sua natureza anfifílica, a qual através de interações sinérgicas entre as porções da soforose e ácido graxo produz o efeito surfactante, sendo capaz de diminuir a tensão interfacial e superficial de compostos e materiais, e assim promover alterações da adesão de microrganismos (VALOTTEAU et al., 2017). Sua ação envolve mecanismos de desestabilização e alteração da permeação da membrana, o que leva a ruptura e extravasamento do conteúdo celular (FRACCHIA et al., 2015).

A atividade antibacteriana dos soforolipídios tem sido descrita para várias cepas bacterianas (OLANYA et al., 2018; RIENZO et al., 2014; VALOTTEAU et al., 2017; ZHANG et al., 2016) e embora apresentem resultados de inibição contra Gram-negativas, na maioria dos casos, soforolipídios demonstrou ter melhor ação em cepas Gram-positivas. Isso se deve à sua especificidade de ação em membranas, uma vez que existem diferenças estruturais na parede celular dessas bactérias (ZHANG et al., 2016).

Pontes et al. (2016) conduziram um estudo sobre a aplicação de soforolipídios em cateteres de silicone para inibir a formação de biofilmes bacterianos. Foram testadas cepas de *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922, como microrganismos representativos de infecções vasculares e urinárias. Os resultados revelaram que a presença de soforolipídios na superfície do silicone foi capaz de diminuir a hidrofobicidade do material com consequente redução na formação de biofilmes pelas duas bactérias. *S. aureus* mostrou ser mais vulnerável à ação desse biosurfactante, sendo erradicada na concentração inibitória mínima (MIC) de 50 mg/mL. Contrariamente, não foi possível observar inibição completa da *E. coli* dentro das concentrações testadas (MIC < 750 mg/mL).

Ações sinérgicas dos soforolipídios com outros compostos também têm sido descritas. Joshi-Navare e Prabhune (2013) relataram interação entre soforolipídios e antibióticos tradicionais (cefaclor e tetraciclina), apresentando efeitos melhorados na atividade contra *E. coli* ATCC 8739 e *S. aureus* ATCC 29737, respectivamente. Díaz de Rienzo e colaboradores (2016a) além de reportarem ação antimicrobiana dos SL contra *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *Bacillus subtilis* NCTC 10400, *S. aureus* ATCC 9144 e *E. coli* NCTC 10418 (CIM > 5%), também investigaram a ação conjugada de SL 1% e ácido caprílico 0,8% na inibição de biofilmes formados por *P. aeruginosa*, *E. coli* e *B. subtilis*, sugerindo uma interação sinérgica entre os compostos. Em outro estudo, os mesmos autores (Díaz de Rienzo et al., 2016b) verificaram a combinação de soforolipídios e ramnolipídios (0.04%/ 0.01%) contra biofilmes de *P. aeruginosa* ATCC 15442, *S. aureus* ATCC 9144 e uma cultura mista de ambas, obtendo resultados positivos para os dois últimos casos.

Zhang et. al (2017) investigaram os mecanismos de ação do soforolipídio e do etanol assim como sua ação combinada contra *E. coli* O157:H7. Os resultados mostraram que utilizando o padrão de etanol 20% ou soforolipídios de forma isolada, não houve redução

significativa na população da bactéria. Na presença de 10% de etanol, nenhuma das formas acidicas e lactônicas obtiveram resultados promissores. Contudo, reduções significativas foram observadas com todos os soforolipídios na presença de 20% de etanol, sugerindo um efeito sinérgico entre eles, com aumento na atividade antimicrobiana do soforolipídios.

Considerando a importância de encontrar alternativas para o controle de patógenos na indústria de alimentos, um estudo avaliou o potencial antimicrobiano dos soforolipídeos em combinação com ácido láctico contra *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella spp.* Os resultados demonstraram que soforolipídios foram capazes de reduzir completamente a viabilidade de *S. aureus* e *L. monocytogenes* em valores de MIC de 31,25 mg/mL e 62,5 mg/mL, respectivamente. O ácido láctico inibiu completamente o crescimento de todas as bactérias em concentrações de 0,15% a 0,6%. Um efeito combinado de soforolipídios com ácido láctico apresentou um efeito interação aditiva para *L. monocytogenes* e *S. aureus*, reduzindo o MIC de cada composto pela metade foi observado. O teste de tempo de morte apresentou a redução logarítmica progressiva ao longo de 24 horas e mostrou inibição completa das populações de *S. aureus*. Para *L. monocytogenes*, a erradicação foi alcançada às 12h com soforolipídeo, 10h com ácido láctico e 12 h com combinação. O ensaio de citotoxicidade mostrou que as concentrações menores que 62,5 mg/mL foram citotóxicas para as células HepG2, portanto, o tratamento combinado entre soforolipídeos e ácido láctico representou um potencial uso dos compostos como sanitizante na avicultura com eficácia antimicrobiana e sem citotoxicidade efeitos (SILVEIRA et al., 2021).

4 | PERSPECTIVAS FUTURAS

Os soforolipídios são metabólitos secundários produzidos por leveduras não patogênicas, destacando a levedura *Starmerella bombicola*. São secretados para o meio extracelular como uma mistura de compostos de estruturas químicas relacionadas e possuem ação antibacteriana comprovada por diversos estudos do nosso grupo de pesquisa, incluindo bactérias contaminantes do processo de abate e processamento de aves. Desta forma, pesquisas sobre agentes antimicrobianos naturais são de grande relevância na busca de alternativas para reduzir a carga microbiológica e aumento da vida de prateleira de produtos avícolas, resultando assim na redução dos custos de produção.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES - Brasil) e o ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

ABPA. Relatórios Anuais da Associação Brasileira de Proteína Animal. 2022. Disponível em: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Relatorio-Anual-ABPA-2022-vf.pdf Acesso em: maio. 2022.

AHMED, J; HIREMATH, N; JACOB, H. Properties of Plasticized Polylactide Films Incorporated with Essential Oils to Inhibit *Staphylococcus aureus* and *Campylobacter jejuni*. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 2, 2016a.

AHMED, J; HIREMATH, N; JACOB, H. Efficacy of antimicrobial properties of polylactide / cinnamon oil film with and without high-pressure treatment against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* inoculated in chicken sample. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 10, p. 72–78, 2016b.

ASHBY, Richard D.; SOLAIMAN, Daniel K. Y. The influence of increasing media methanol concentration on sophorolipid biosynthesis from glycerol-based feedstocks. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 10, p. 1429–1437, 2010.

AURAS, R. Compression molded LLDPE films loaded with bimetallic (Ag-Cu)

BORSANYIOVA, M; PATIL, A; MUKHERJI, R; PRABHUNE, A; BOPEGAMAGE, S. Biological activity of sophorolipids and their possible use as antiviral agents. **Folia Microbiologica**, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento, Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico Sanitária de Carnes de Aves. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1998. Seção 1, p. 226.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução RDC nº 4, de 4 de Outubro de 2011. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 out. 2011.

DEY, G; BHARTI, R; SEN, R; MANDAL, M. Microbial amphiphiles: A class of promising new-generation anticancer agents. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 1, p. 136–146, 2015.

DIAZ DE RIENZO, MA; STEVENSON, PS; MARCHANT, R; BANAT, IM. Antibacterial properties of biosurfactants against selected Gram positive and negative bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 44, n. 0, p. 1–22, 2015.

DÍAZ DE RIENZO, MA; STEVENSON, PS; MARCHANT, R; BANAT, IM. Effect of biosurfactants on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* biofilms in a BioFlux channel. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 13, p. 5773–5779, 2016a.

DÍAZ DE RIENZO, MA; STEVENSON, PS; MARCHANT, R; BANAT, IM. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm disruption using microbial surfactants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, n. 4, p. 868–876, 2016b.

FRACCHIA, L; BANAT, JJ; CAVALLO, M; CERESA, C; BANAT, IM. Potential therapeutic applications of microbial surface-active compounds. **AIMS Bioengineering**, v. 2, n. 3, p. 144–162, 2015.

JEZIERSKA, S, CLAUS S, VAN BOGAERT I. Yeast glycolipid biosurfactants. **FEBS Letters**, v.592, n. 8 p. 1312-1329, 2018.

HILLION, G. Use of a sophorolipid to provide free radical formation inhibiting activity or elastase inhibiting activity, **US Patent 5.756.471**, 1998.

HOMMEL, R; STIIWER, O; STUBER, W; HAFERBURG, D; KLEBER, HP. Production of water-soluble surface-active exolipids by *Torulopsis apicola*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 199–205, 1987.

JAMES, W. O.; PRUCHA, J. C.; BREWER, R. L. Cost-Effective techniques to control human enteropathogens on fresh poultry. **Poultry Science**, v. 72, n. 1174–1176, 1993.

JOSHI-NAVARE, K; PRABHUNE, A. A biosurfactant-sophorolipid acts in synergy with antibiotics to enhance their efficiency. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

KAUR, K; SANGWAN, S; KAUR, H. Biosurfactant production by yeasts isolated from hydrocarbon polluted environments. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 12, 2017.

MAENG, Y; KIM, KT; ZHOU, X; JIN, L; KIM, KS; KIM, YH; LEE, S; PARK, JH; CHEN, X; KONG, M; CAI, L; LI, X. A novel microbial technique for producing high-quality sophorolipids from horse oil suitable for cosmetic applications. **Microbial Biotechnology**, v. 11, n. 5, p. 917–929, 2018.

MAGAR, H.; ROTHLISBERGER, R.; WZGNER, F. Use of sophorose-lipid lactone for the treatment of dandruffs and body odor, **European Patent 0209783**, 1987.

MINUCELLI, T; RIBEIRO-VIANA, RM; BORSATO, D; ANDRADE, G; CELY, MVT; DE OLIVEIRA, MR; BALDO, C; CELLIGOI, MAPC. Sophorolipids Production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and Its Potential Application in Soil Bioremediation. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 3, p. 743–753, 2017.

MUKHOPADHYAY, S. Reduction in *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 in vitro and on tomato by sophorolipid and sanitiser as affected by temperature and storage time. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 5, p. 1303–1315, 2018.

nanoparticles and cinnamon essential oil for chicken meat packaging applications. **LWT - Food Science and Technology**, 2018.

NITSCHKE, M; SILVA, SS. Recent food applications of microbial surfactants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8398, p. 1–8, 2017.

OLANYA, OM; UKUKU, DO; SOLAIMAN, DKY; ASHBY, RD; NIEMIRA, BA; PAULINO, BN; PESSÔA, MG; MANO, MCR; MOLINA, G; NERI-NUMA, IA; PASTORE, GM. Current status in biotechnological production and applications of glycolipid biosurfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 24, p. 10265–10293, 2016.

PESCE, L. A biotechnological method for the regeneration of hydrocarbons from dregs and muds, on the base of biosurfactants, **World Patent 02/062495**, 2002.

PIERCE, D; HEILMAN, TJ. Germicidal composition, **World Patent 16192**, 1998.

- PONTES, C; ALVES, M; SANTOS, C; RIBEIRO, MH; GONÇALVES, L; BETTENCOURT, AF; RIBEIRO, IAC. Can Sophorolipids prevent biofilm formation on silicone catheter tubes? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 513, n. 1–2, p. 697–708, 2016.
- RASHAD, MM; NOOMAN, MU; ALI, MM; MAHMOUD, AE. Production, characterization and anticancer activity of *Candida bombicola* sophorolipids by means of solid state fermentation of sunflower oil cake and soybean oil. **Grasas Aceites**, v. 65, n. 2, p. 1–11, 2014.
- REBELLO, S; ANEESH, EM; SINDHU, R; BINOD, P; PANDEY, A. Biosynthesis and Technological Advancements of Biosurfactants. **Biosynthetic Technology and Environmental Challenges**, Chapter 10, p. 167–183, 2018.
- RIENZO, MADD; DOLMAN, B; GUZMAN, F; KAISERMANN, C; WINTERBURN, J; BANAT, IM; MARTIN, P. Antimicrobial properties of sophorolipids produced by *Candida Bombicola* ATCC 22214 against gram positive and Gram-negative bacteria. **New Biotechnology**, v. 31, n. July, p. S66–S67, 2014.
- SHAH, V; BADIA, D; RATSEP, P. Sophorolipids having enhanced antibacterial activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 1, p. 397–400, 2007.
- SHAH, V; DONCEL, GF; SEYOUM, T; EATON, KM; ZALENSKAYA, I; HAGVER, R; AZIM, A; GROSS, R. Sophorolipids , Microbial Glycolipids with Anti-Human Immunodeficiency Virus and Sperm-Immobilizing Activities. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 49, n. 10, p. 4093–4100, 2005.
- SHAO, L; SONG, X; MA, X; LI, H; QU, Y. Bioactivities of sophorolipid with different structures against human esophageal cancer cells. *Journal of Surgical Research*, v. 173, n. 2, p. 286–291, 2012.
- SILVA, JA. Microrganismos patogênicos em carne de frangos. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 9–14, 1998.
- SILVEIRA, V.A.I., NISHIO, E.K., FREITAS, C.A.U.Q, AMADOR, I.R., KOBAYASHI, R.K.T., CARETTA, T., MACEDO, F., CELLIGOI, M.A.P.C. Production and antimicrobial activity of sophorolipid against *Clostridium perfringens* and *Campylobacter jejuni* and their additive interaction with lactic acid. **Biocatal Agric Biotechnol** 21, 101287, 2019.
- STEFANI, LM; BACKES, RG; FARIA, GA; BIFFI, CP; ALMEIDA, JM; KRYSTINE, H; BASSI, G; LANGARO, A. Trimming and washing poultry carcass to reduce microbial contamination: A comparative study, **Poultry Science**, p. 1–4, 2011.
- Stimulating Skin Fibroblast Metabolism, **U S Patent 6596**, 2003.
- VALOTTEAU, C; BANAT, IM; MITCHELL, CA; LYDON, H; MARCHANT, R; BABONNEAU, F; PRADIER, CM; BACCILE, N; HUMBLLOT, V. Antibacterial properties of sophorolipid-modified gold surfaces against Gram positive and Gram negative pathogens. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 157, p. 325–334, 2017.
- VAN BOGAERT, INA; SAERENS, K; DE MUYNCK, C; DEVELTER, D; SOETAERT, W; VANDAMME, EJ. Microbial production and application of sophorolipids. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 76, n. 1, p. 23–34, 2007.

VAN BOGAERT, INA; SAERENS, K; DE MUYNCK, C; DEVELTER, D; SOETAERT, W; VANDAMME, EJ. Microbial production and application of sophorolipids. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 76, n. 1, p. 23–34, 2007.

WHO. **WHO estimates of the global burden of foodborne diseases**. 2015. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/>.

YOO, DS; LEE, BS; KIM, EK. Characteristics of Microbial Biosurfactant as an Antifungal Agent Against Plant Pathogenic Fungus. **J Microbiol Biotechnol**, v. 15, p. 1164–1169, 2005.

ZHANG, X; ASHBY, R; SOLAIMAN, DKY; UKNALIS, J; FAN, X. Inactivation of *Salmonella spp.* and *Listeria spp.* by palmitic, stearic, and oleic acid sophorolipids and thiamine dilauryl sulfate. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. DEC, p. 1–11, 2016.

ZHANG, X; ASHBY, R; SOLAIMAN, DKY; UKNALIS, J; FAN, X. Inactivation of *Salmonella spp.* and *Listeria spp.* by palmitic, stearic, and oleic acid sophorolipids and thiamine dilauryl sulfate. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. DEC, p. 1–11, 2016.

ZHANG, X; ASHBY, RD; SOLAIMAN, DKY; LIU, Y; FAN, X. Antimicrobial activity and inactivation mechanism of lactonic and free acid sophorolipids against *Escherichia coli O157:H7*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 11, p. 176–182, 2017.

CAPÍTULO 12

FUNGOS PATOGÊNICOS EM ANIMAIS VERTEBRADOS

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 02/05/2022

Camila Silva de Lavor

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduanda em Ciências Biológicas
Petrolina - Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/1855784410662735>

Pedro Henrique Sobreira Bacelar

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduando em Ciências Biológicas
Petrolina - Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/2656407167636511>

Igor Ribeiro da Silva

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduando em Ciências Biológicas
Petrolina - Pernambuco.
<http://lattes.cnpq.br/3729627175018082>

Luana Beatriz da Silva Rocha

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduanda em Ciências Biológicas
Petrolina - Pernambuco.
<http://lattes.cnpq.br/5309285969409351>

Rebecca Oliveira de Carvalho

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduanda em Ciências Biológicas
Petrolina – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/8053365546785681>

Isabela Ferreira Leão

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduanda em Ciências Biológicas
Petrolina – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/8660692664923874>

Maria Tamires Silva de Sá

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduanda em Medicina Veterinária
Petrolina - Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/4661055691754377>

Nayra Thaislene Pereira Gomes

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas
Crato - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/4215597540387398>

Daniela Tábita de Lavor

Universidade Federal da Paraíba - UFPB, Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN), Mestrado Profissional em Ensino de Biologia (PROFBIO)
João Pessoa – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/0482032390405387>

Iara Alves de Lavor

Faculdade de Ciências Humanas do Sertão Central, Licenciatura em Ciências Biológicas
Salgueiro – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/7013630462484884>

RESUMO: Os fungos são organismos eucariontes capazes de causar doenças em humanos e animais. Essas afecções, geralmente, estão relacionadas ao manejo inadequado desses animais em cativeiro, assim o estudo de doenças infecciosas causadas por fungos é uma área emergente, tendo em vista a aproximação antrópica e de animais domésticos com animais silvestres. O objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento descritivo dos principais fungos patogênicos para animais vertebrados

silvestres. Desse modo, foi realizado um levantamento bibliográfico, a partir do estudo de 32 trabalhos de cunho científico disponibilizados gratuitamente nas plataformas online: Google Acadêmico, Researchgate e SciELO. Os resultados apontaram relatos existentes para todas as ordens de vertebrados, com destaque para os principais filos fúngicos isolados: Ascomycota, Oomycota, Basidiomycota, Mucormycota e Chytridiomycota. Assim, o monitoramento de animais, domésticos ou silvestres, configura-se como um importante fator para prevenção de possíveis epidemiologias.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças, Fauna, Levantamento, Micoses.

PATHOGENIC FUNGI IN VERTEBRATE ANIMALS

ABSTRACT: Fungi are eukaryotic organisms capable of causing disease in humans and animals. These conditions are usually related to the inadequate management of these animals in captivity, so the study of infectious diseases caused by fungi is an emerging area, in view of the anthropic approach and of domestic animals with wild animals. The objective of the present work was to carry out a descriptive survey of the main pathogenic fungi for wild vertebrate animals. In this way, a bibliographic survey was carried out, based on the study of 32 scientific works available for free on online platforms: Google Scholar, Researchgate and SciELO. The results showed existing reports for all vertebrate orders, with emphasis on the main isolated fungal phyla: Ascomycota, Oomycota, Basidiomycota, Mucormycota and Chytridiomycota. Thus, the monitoring of animals, domestic or wild, is an important factor for the prevention of possible epidemiologies.

KEYWORDS: Diseases, Fauna, Survey, Mycoses.

1 | INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos eucariontes, podendo ser unicelulares (leveduras) ou pluricelulares (filamentosos formadores de hifas) e são heterotróficos, geralmente se encontrando em habitat úmido e rico em matéria orgânica (SILVA; COELHO, 2006). Existem em torno de 800.000 espécies conhecidas de fungos, destes, 400 são capazes de causar doenças em humanos e animais (QUINN et al., 2011; CASTRO et al., 2017).

As enfermidades acometidas por fungos são denominadas micoses, as quais são classificadas de acordo com o grau de envolvimento no tecido e modo de entrada no hospedeiro: sistêmica, subcutâneas, cutâneas, superficial ou oportunista (TORTORA, 2005). Desse modo, uma grande variedade de doenças fúngicas têm sido descritas ocorrendo nos mais variados grupos de animais. Essas afecções, geralmente, estão relacionadas ao manejo inadequado desses animais em cativeiro, como alta umidade, superpopulações e acúmulos de detritos no ambiente (PARÉ, 2007; CHAVES 2021).

Atualmente, o estudo de doenças infecciosas causadas por fungos é uma área emergente, tendo em vista a aproximação antrópica e de animais domésticos com animais silvestres. Entretanto, pouco se sabe sobre a microbiota natural ou contaminante desses animais, o que dificulta o diagnóstico e tratamento (FRAGA et al., 2011). Assim, o objetivo

deste trabalho é:

2 | MATERIAIS E MÉTODOS:

Para obtenção dos resultados, foi realizado um levantamento bibliográfico a partir das bases de dados Google Acadêmico, SciELO e ResearchGate, onde priorizaram-se trabalhos de cunho acadêmico-científicos compreendidos ao longo de duas décadas (2000-2020). Todavia, a depender da relevância, estudos realizados antes do ano 2000 também foram considerados. Desse modo, totalizaram-se 32 bibliografias utilizadas como referências para a presente análise. Os principais termos descritores para a busca literária foram: micologia, fungos, micoses, animais, vertebrata, doenças fúngicas e animais vertebrados.

3 | PRINCIPAIS AGENTES FÚNGICOS ISOLADOS EM VERTEBRATA

3.1 Peixes

As doenças fúngicas podem ocorrer em um peixe, poucos peixes ou uma população inteira, dependendo do tamanho da invasão fúngica (SIQUEIRA, 2004). A transmissão dos fungos ocorre de maneira horizontal, por meio dos esporos que se encontram presentes na água, a qual apresenta influência de acordo com sua qualidade, temperatura, práticas de manejo, facilitando na transmissão (PINHEIRO et al., 2015). As principais patologias fúngicas registradas para peixes são: Saprolegniose (*Saprolegnia* sp., *Achlya* sp., *Aphanomyces* sp. e *Dictyuchus* sp.) Branquiomicose (*Branchiomyces* sp.) e Ictiofaríase (*Ichthyophonus hoferi*), *Rhizopus* sp., *Dermocystidium* sp., *Exophiala* sp., *Hyphomycetes* sp.) (HIPÓLITO, 2009). Além destes, outros principais gêneros são importantes para piscicultura atual: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Acremonium* e *Mucor*. O manejo adequado da piscicultura é a medida mais importante a ser tomada para evitar que os peixes sejam acometidos pelas doenças, já que não existe dúvida a respeito da forte correlação existente entre técnicas de manejo e aparecimento de enfermidades (PAVANELLI et al., 2008; PINHEIRO et al., 2015).

3.2 Anfíbios

Dentre o grupo dos tetrápodes, os anfíbios são listados como um dos táxons mais sensíveis às mudanças climáticas em virtude de suas características morfológicas, fisiológicas e ecológicas. Destacando-se por possuírem elevada permeabilidade, uma vez que utilizam a pele para funções de respiração, osmorregulação e termorregulação, esses animais encontram-se suscetíveis a ressecamento e exposição a fatores patogênicos decorrentes das condições climáticas (DE LAVOR, 2021). O patógeno atualmente mais registrado e associado ao declínio de anfíbios é o fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* pertencente ao Filo Chytridiomycota, Classe Chytridiomycetes e Ordem Chytridiales,

causando uma dermatite denominada Quitridiomicose. Segundo a Cúpula de Conservação de Anfíbios (2005), a quitridiomicose é “a pior doença infecciosa já vista entre vertebrados, em termos de números de espécies atingidas e que estão propensas a serem extintas”. Outrossim, diferentes micoses também podem acometer estes animais, mesmo que em menores proporções, tais como: Mucormicose (*Rhizopus* spp.), Saproleniose (*Saprolegnia* sp. e/ou *Achlya* sp.) e Cromomicose (*Cladosporium* sp. e/ou *Curvularia* sp.).

3.3 Répteis

Os répteis são animais ectotérmicos cuja saúde depende do ambiente em que são mantidos, principalmente quando estão em cativeiro. Em ambientes aglomerados, a sujeira e a umidade são fontes de crescimento de fungos, que encontram as características ambientais ideais para se multiplicar e espalhar. Infecções a nível gastrointestinal são mais raras, dada a presença natural de fungos na flora digestiva. Todavia, as micoses sistêmicas pulmonares, acometem jabutis, principalmente em ambientes temperados, onde os esporos dos fungos permanecem no ar. Além disso, as lesões cutâneas também são comuns, embora sejam confundidas com muitas outras doenças que acometem, principalmente, serpentes e crocodilianos. Observou-se que os gêneros de microrganismos isolados com maior frequência foram: *Escherichia* sp., *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp., *Candida* spp., *Citrobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Aeromonas* spp. e *Fusarium* sp. Desse modo, os microrganismos que compõem a microbiota podem se tornar patogênicos para seus hospedeiros quando os mesmos se encontram debilitados, bem como a eliminação contínua destes microrganismos (pelas fezes, por exemplo) por répteis aparentemente saudáveis ou mesmo doentes, pode representar um importante problema para pessoas que tenham contato com eles (PESSOA, 2009).

3.4 Aves

As aves compreendem um dos grupos mais diversificados dentre os animais vertebrados e, devido aos seus atrativos, inúmeras espécies são mantidas em cativeiro, provenientes de lugares tanto regularizados quanto de comércio ilegal, o que predispõe um maior contato entre o homem e possíveis agentes infecciosos. Entre as doenças fúngicas, inclusive zoonóticas, que acometem esses animais destacam-se a aspergilose (*Aspergillus fumigatus* e o *Aspergillus flavus*), criptococose (*Cryptococcus neoformans* é a mais comum), candidíase (*Candida albicans*), micotoxicoses (conjunto de doenças causadas por metabólitos secundários produzidos por diversos fungos), entre outras que podem causar lesões significativas e de fácil disseminação em ambientes com manejo inadequado (SANTOS, 2020). Embora as aves tenham uma aparência saudável, podem funcionar como hospedeiras para microrganismos patogênicos, eliminando diversas formas de levedura com potencial zoonótico para o meio ambiente (MARINHO et al., 2010).

3.5 Mamíferos

Os principais relatos de micoses ou da presença de agentes fúngicos na microbiota de mamíferos silvestres citam como representantes: *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Candida* spp., *Malassezia* spp., *Cryptococcus* spp. e os Dermatófitos (*Epidermophyton* sp., *Microsporium* sp. e *Trichophyton* sp.) (ALBANO, 2009). A Paracoccidioidomicose (*Paracoccidioides brasiliensis*), doença fúngica mais importante no Brasil, acomete principalmente populações de baixa renda, na zona rural e já foi relatada em animais silvestres e domésticos (PAZ, 2017), incluindo morcegos presentes em telhados de casas rurais. Mamíferos domésticos também são receptáculos de doenças de cunho zoonótico, principalmente, com importância na saúde pública (BALDA et al., 2004), os principais agentes encontrados foram: *Microsporium canis*, *Trichophyton* sp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Malassezia* sp. e *Candida* sp.

Além disso, as doenças fúngicas se destacam por representarem a principal causa de mortalidade natural de mamíferos marinhos, caracterizados por mais de 130 espécies distribuídas entre cetáceos, sirênios, pinípedes e alguns mustalídeos. Nesses indivíduos, as enfermidades afetam suas populações provocando estresse, imunossupressão, diminuição da oferta de alimentos e maior exposição a patógenos. Os isolados apontem: *Candida albicans* (maior número de relatos), *Aspergillus fumigatus*, *Epidermophyton floccosum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cephalosporium* sp., *Cryptococcus* sp. e *Histoplasma capsulatum*.

Agente Etiológico	Filos	Ordens Acometidas
Achlya	Oomycota	Peixes e Anfíbios
Acremonium	Ascomycota	Peixes
Aphanomyces	Oomycota	Peixes
Aspergillus	Basidiomycota	Peixes, Répteis, Aves e Mamíferos
Batrachochytrium	Chytridiomycota	Anfíbios
Blastomyces	Ascomycota	Mamíferos
Branchiomyces	Mucormycota	Peixes
Candida	Ascomycota	Répteis, Aves e Mamíferos
Cephalosporium	Ascomycota	Mamíferos
Cladosporium	Ascomycota	Anfíbios
Cryptococcus	Basidiomycota	Aves e Mamíferos
Curvularia	Ascomycota	Anfíbios
Dictyuchus	Oomycota	Peixes
Epidermophyton	Ascomycota	Mamíferos
Exophiala	Ascomycota	Peixes
Fusarium	Ascomycota	Peixes

Histoplasma	Ascomycota	Mamíferos
Malassezia	Basidiomycota	Mamíferos
Microsporium	Ascomycota	Mamíferos
Mucor	Mucormycota	Peixes
Paracoccidioides	Ascomycota	Mamíferos
Penicillium	Ascomycota	Peixes e Mamíferos
Rhizopus	Mucormycota	Peixes, Anfíbios, Aves e Mamíferos
Saprolegnia	Oomycota	Peixes e Anfíbios
Scopulariopsis	Ascomycota	Mamíferos
Sporothrix	Ascomycota	Mamíferos
Trichoderma	Ascomycota	Peixes
Trichophyton	Ascomycota	Mamíferos

Tabela 01: Principais agentes etiológicos (fungos) e ordens acometidas (vertebrata).

Fonte: Autoria própria (2021).

4 | PRINCIPAIS DOENÇAS FÚNGICAS EM ANIMAIS VERTEBRADOS

4.1 Esporotricose

A esporotricose é uma micose zoonótica subaguda ou crônica, causada pelo agente *Sporothrix schenckii*, que acomete uma diversidade de espécies. (ACHA; SZYFRES, 2003; BISON et al., 2020). Os indivíduos do complexo *Sporothrix schenckii* apresentam como características o dimorfismo e estão amplamente distribuídas na natureza colonizando árvores e solos em associação com restos vegetais localizados principalmente em regiões de clima temperado e tropical úmido (LOPES-BEZERRA et al., 2006, BRUM et al. 2007; SILVA et al., 2018). De forma geral, a infecção ocorre por inoculação traumática, uma vez que o agente é incapaz de penetrar a pele intacta. Raramente a esporotricose pode ser do resultado da inalação, aspiração ou ingestão do agente (LAZARO et al., 2008; BISON, 2020). Os carnívoros domésticos e equinos são suscetíveis à infecção por espécies do complexo *S. schenckii*. Além disso, existem relatos da presença do fungo em outros animais como primatas, bovinos, camelídeos, caprinos, suínos, aves, tatus, golfinhos e artrópodes (abelhas, pulgas, formigas). Esses hospedeiros podem, eventualmente, servir de fonte de infecção ao homem (LARSSON, 2011).

4.2 Aspergilose

Aspergilose é causada por diversos fungos do gênero *Aspergillus*, sendo mais comum em aves domésticas ou silvestres (OSÓRIO et al., 2007). *Aspergillus* pertence à divisão Eucomycota, apresentando cerca de 300 espécies, sendo 20 consideradas patogênicas, destacando: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus*. Acredita-se que a *A. fumigatus* é responsável por 90 a 95% das infecções por *Aspergillus* em animais, sendo essa a espécie

mais patogênica e que apresenta destaque no setor agrícola devido aos seus problemas (MEIRELES; DA SILVA NASCENTE, 2009). A disseminação ocorre, principalmente, pelo ar, contaminando assim as mais diversas áreas dentro de um aviário, desde o incubatório ao nascedouro, isso devido a sua pequena necessidade nutricional fazendo com que cresçam em qualquer ambiente (TESSARI et al., 2004). A aspergilose pode apresentar-se clinicamente de forma aguda ou crônica. Geralmente a forma aguda é caracterizada por surtos severos em aves jovens, de alta morbidade e mortalidade, podendo chegar a 50%, enquanto que a crônica ocorre em aves adultas, sendo sua incidência não significativa, mas causadora de perdas econômicas. A forma aguda apresenta rápida progressão geralmente culminando com morte súbita. A aspergilose crônica é a forma clássica da enfermidade apresentando um curso clínico mais prolongado, de semanas a meses, sendo induzida por condições de imunossupressão do indivíduo (TESSARI et al, 2004).

4.3 Criptococose

Acryptococose ou “doença do pombo” é uma doença infecciosa fúngica potencialmente fatal e cosmopolita. É uma zoonose oportunista, causada por uma levedura encapsulada, sendo encontrada em solo, frutos e vegetais em decomposição, apresentando como reservatórios as fezes das aves, principalmente pombos, e raramente morcegos (CALNEK, 1991). Quanto à transmissão, não foi provado que pode ser passada diretamente de animais para humanos e vice-versa. Segundo Nelson e Couto (2010) os sinais clínicos da criptococose em animais domésticos são similares para as infecções dos dois agentes (*C. neoformans* e *C. gattii*) e podem ser divididos em quatro síndromes principais: síndrome respiratória, síndrome neurológica, síndrome ocular e síndrome cutânea (QUEIRÓZ et al., 2008). Nas aves não há presença de sintomatologia, enquanto que em bovinos ocorrem surtos de mastite e nas demais espécies de animais de pequeno porte ocorre à forma disseminada da doença. Embora presente em grande número no ambiente aviário, *Cryptococcus* spp. não causa doença nesses animais, na maioria das vezes, devido à alta temperatura corporal das aves, a qual inibe o crescimento da levedura e da baixa capacidade de invasão sistêmica do fungo nessas espécies. A infecção subclínica, com subsequente erradicação da levedura no organismo pela imunidade celular intacta também pode ocorrer. Neste caso, as aves poderiam funcionar como reservatório transitório e portadores assintomáticos da doença. Os relatos da doença clínica em aves são restritos a Psitaciformes, Columbiformes, Anseriformes, cracídeos e frangos (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2000).

4.4 Quitridiomicose

A quitridiomicose é causada por duas espécies de fungos, *Batrachochytrium dendrobatidis* e *B. salamandrivorans*. Este microrganismo é descrito como um patógeno generalista e infecta espécies hospedeiras distintas. Por ser aquático, tem causado declínios populacionais e extinções incomparáveis em anfíbios que se reproduzem nesses

ambientes (MESQUITA, 2016). Das 501 espécies de anfíbios em situação de declínio, cerca de 18% (90 espécies) das espécies foram extintas na natureza (confirmadamente ou presumivelmente), outras 25% (124 espécies) experimentaram uma redução de 90% de sua abundância. Essas diminuições em todas as espécies foram atribuídas a *B. dendrobatidis*, exceto o caso da *Salamandra salamandra* afetada por *B. salamandrivorans* (SCHEELE et al., 2019). O *Batrachochytrium dendrobatidis* ataca os tecidos queratinizados dos anfíbios, tanto em girinos como em anuros adultos, alojando-se em sua pele e causando-lhes danos graves. Assim, os mesmos morrem por conta das lesões provocadas, as quais dificultam seu processo respiratório cutâneo, ocasionando paradas cardíacas, ou por imunossupressão, através de alguma patologia que em condições normais teriam superado sem problemas aparentes. Relatos apontam que em girinos, *Batrachochytrium dendrobatidis* parasita a região bucal e dos dentículos, dificultando a alimentação e comprometendo o crescimento do animal, muitas vezes desencadeando em óbito pela falta de alimentação.

5 I CONCLUSÕES

Fungos são microrganismos que em condições favoráveis podem disseminar-se e apresentarem patogenicidade em animais e humanos. Por isso, são necessários estudos que gerem conhecimentos para solucionar possíveis emergências sanitárias ocasionadas por fungos patogênicos presentes em animais vertebrados, sejam silvestres ou de companhia. São precisos investimentos em ações governamentais, em cooperação com a sociedade civil, para realização de campanhas de diagnósticos precoces para controle epidemiológico, bem como, administrem levantamentos populacionais de espécies vetores de zoonoses, atuando diretamente na saúde humana, animal e equilíbrio ecológico.

REFERÊNCIAS

ALBANO, A. P. N. **Fungos e micoses em animais silvestres recebidos por Centros de Triagem**. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009. Disponível em: http://guaiaca.ufpel.edu.br/bitstream/123456789/2537/1/dissertacao_ana_albano.pdf. Acesso em: 07 out. 2021.

BERCHIERI JÚNIOR, Ângelo *et al.* **Doenças das aves**. 3. ed. Campinas: Editora Facta, 2000. ISBN 978-65-991079-0-0.

BALDA, A.C. et al. Estudo retrospectivo de casuística das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 2, p. 133 - 140, 2004. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/16835>. Acesso em: 30 set. 2021.

BISON, I. et al. Metanálise de esporotricose felina: um destaque para sua ocorrência no Brasil. **Ars Veterinária**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 301, 23 dez. 2020. FUNEP. Disponível em: <http://arsveterinaria.org.br/ars/article/download/1303/1323>. Acesso em: 21 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Cromoblastomicose: sintomas, causas, prevenção, diagnóstico e tratamento. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/paracoccidioidomicose/746-saude-de-a-a-z/47175-sarampo-saiba-tudo-sobre-a-doenca-e-a-vacina-2>. Acesso em: 12 out. 2021.

CABANA, L. et al. Alterações anatomopatológicas da aspergilose em pinguins. 2007. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_01210.pdf. Acesso em 09 de outubro de 2021.

CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. 9. ed. Rockville: The Canadian Veterinary Journal, 1991. 377 p. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686554/>. Acesso em: 17 nov. 2021.

CASTRO, N. B. et al. Doenças micóticas em gatos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 37, n. 11, p. 1313-1321, nov. 2017. FAP UNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/nFTTJ6wWmKXzLqPwMbDBVfm/?lang=pt>. Acesso em: 21 set. 2021.

CEOLIN, L. V. et al. **Surto de aspergilose em frangos de corte**. 2011. Disponível em: http://portal.ufsm.br/jai/anais/trabalhos/trabalho_1001221911.htm. Acesso em: 05 out. 2022.

CHAVES, E. N. et al. Analysis of the fungal microbiota present in scales of *Bothrops atrox* (Serpente: viperidae) maintained in captivity. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 1-14, abr. 2021. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8078771>. Acesso em: 13 set. 2021.

CUNHA, K. M.; SANTOS, E. R. D. Não basta o vírus da COVID-19, agora existe um fungo também?. Depto. BOT-CCB/UFSC, 24 ago. 2021. Disponível em: <https://cientistasdescobriramque.com/2021/08/24/nao-basta-o-virus-da-covid-19-agora-existe-um-fungo-tambem/>. Acesso em: 12 out. 2021.

DE LAVOR, C. S. at al. **Quitridiomicose em anfíbios - revisão de literatura**. In: I Simpósio Sobre Animais Silvestres Da Caatinga (I SASC), 2021, Petrolina. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/sasc2021/>. Acesso em: 15 out. 2021.

FRAGA, C. F. **Ocorrência de doenças micóticas em animais silvestres no Brasil**. 2014. 39 f. TCC (Doutorado) - Curso de Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/108152/000946635.pdf?sequence=1>. Acesso em: 07 set. 2021.

HIPÓLITO, M.; BACH, E. E. Patologias em rã touro (*Rana catesbeiana* Shaw 1802). Primeira revisão da bibliografia brasileira. Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo. São Paulo, v. 69, n. 2, p. 113-120, 2002. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V69_2/hipolito.pdf. Acesso em: 10 out. 2021.

HIPOLITO, M. **Fungos em peixes e anfíbios: diagnóstico, prevenção e tratamento**. 2009. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/publicacoes/comunicados-documentos-tecnicos/comunicados-tecnicos/fungos-em-peixes-e-anfibios-diagnostico-prevencao-e-tratamento>. Acesso em: 17 set. 2021.

LARSSON, C. E. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 3, p. 250-259, 2011. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/34389>. Acesso em: 25 set. 2021.

MARINHO, M. et al. Microbiota Fúngica de Passeriformes de Cataveiros da Região Noroeste do Estado de São Paulo. **Vet. e Zootec.** São Paulo. v. 17, n. 2, p. 288-292, 2010. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/132984>. Acesso: 16 out. 2021.

MEIRELES, M. C. A.; DA SILVA NASCENTE, P. Micologia Veterinária. Pelotas: Universitária UFPEL, 2009. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/ppgveterinaria/files/2018/04/Anna-Luiza-Silva.pdf>. Acesso em: 15 set. 2021.

MESQUITA, A. F. C. **A história de vida do hospedeiro pode intermediar respostas adaptativas a um patógeno emergente em anfíbios?** 2016. 23 f. TCC (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio Claro, Rio Claro, 2016. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/156057/000890198.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 out. 2021.

MONTEIRO, D. **Pesquisadores identificam micose transmitida ao homem por felino doméstico em Alagoas:** denominada de esporotricose, a micose subcutânea tem no gato um potencial transmissor para o ser humano. Denominada de esporotricose, a micose subcutânea tem no gato um potencial transmissor para o ser humano. 2014. Portal de Notícia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Disponível em: <https://ufal.br/ufal/noticias/2014/12/pesquisadores-identificam-em-alagoas-micose-transmitida-ao-homem-por-felino-domestico#:~:text=Diversas%20zoonoses%20podem%20ser%20transmitidas,os%20riscos%20do%20ponto%20de>. Acesso em: 26 out. 2022.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Infecções micóticas multissistêmicas. In: **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 1356-1366.

OSÓRIO, L. G. et al. Desinfecção ambiental no controle de *Aspergillus* spp. No centro de recuperação de animais marinhos. In: XVI Congresso De Iniciação Científica: Pesquisa E Responsabilidade Ambiental, 16., 2007, Capão do Leão - RS. **Anais do XVI Congresso De Iniciação Científica E IX ENPOS**. Capão do Leão - RS: RI FURG, 2007. p. 1-5. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/handle/1/3986>. Acesso em: 15 nov. 2021.

PAZ, G. S. **Pesquisa molecular de fungos patogênicos em quirópteros da região de Botucatu-SP**. 2017. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu – SP, 2017. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/148882>. Acesso em: 21 out. 2021.

PESSOA, C. A. **Avaliação da microbiota bacteriana e fúngica presente na cloaca de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio e análise do potencial de risco a saúde humana**. 2009. 97 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada Às Zoonoses, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tdc-22042009-111421/publico/Carlos_Alexandre_Pessoa.pdf. Acesso em: 22 set. 2021.

PINHEIRO, C. A. M. et al. Qualidade da água e incidência de fungos em peixes oriundos de pisciculturas do município de São Luís – Maranhão. **Pesquisa em Foco**, São Luiz, v. 20, n. 1, p. 53-69, maio 2015. Disponível em: https://ppg.revistas.uema.br/index.php/PESQUISA_EM_FOCO/article/download/918/731/2551. Acesso em: 13 set. 2021.

QUEIRÓZ, J. P. A. F. et al. Criptococose: uma revisão bibliográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 2, n. 2, p. 32-38, 2008. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/699/310>. Acesso em: 17 set. 2021.

SCHEELE, B. C. et al. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. **Science**, [S.L.], v. 363, n. 6434, p. 1459-1463, 29 mar. 2019. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.aav0379>. Disponível em: [https://www.science.org/doi/10.1126/science.aav0379#:~:text=The%20chytridiomycosis%20panzootic%20represents%20the,worldwide%20\(2%2C%203\)](https://www.science.org/doi/10.1126/science.aav0379#:~:text=The%20chytridiomycosis%20panzootic%20represents%20the,worldwide%20(2%2C%203)). Acesso em: 26 set. 2021.

SILVA, G. M. et al. Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 38, n. 9, p. 1767-1771, set. 2018. Fap. UNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5027>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/f7LvYsSXGWNHYZH4bBB6ppm/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 26 set. 2021.

SILVA, R. R.; COELHO, G. D. Fungos – Principais grupos e aplicações biotecnológicas. Instituto de Botânica – IBT, São Paulo - SP, out. 2006.

SIQUEIRA, A. D. D. **Saprolegnose: Doença fúngica em peixes**. 2004. 51 f. Monografia (Especialização) - Curso de Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos., São João da Boa Vista, 2004. Disponível em: <https://pdfcoffee.com/tudo-sobre-saprolegnose-doenca-fungica-em-peixespdf-pdf-free.html>. Acesso em: 15 out. 2021.

TESSARI, E.N.C. et al. Prevalência de aspergilose pulmonar em pintos de um dia de idade. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v.71, n.1, p.75-77, 2004. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V71_1/tessari.pdf. Acesso em: 12 out. 2021.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. Traduzido de *Microbiology: An Introduction*. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

INFLUENCE OF THE STATE OF OPERATION ON ALCOHOLIC FERMENTATION OF INVERTED SUGARCANE BLACKSTRAP MOLASSES ON HIGH CONCENTRATION OF TOTAL REDUCED SUGARS

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 10/05/2022

Fernando Henrique da Silva

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Engenharia Química
Umuarama – PR (Brasil)
<http://lattes.cnpq.br/3144160942453495>

Ramiro Picoli Nippes

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Engenharia Química
Maringá – PR (Brasil)
<http://lattes.cnpq.br/6778980188605524>

Ângela Maria Picolloto

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Física
Umuarama – PR (Brasil)
<http://lattes.cnpq.br/9909400184500689>

ABSTRACT: The objective of this work is to study how the state of operation, the concentration of Total Reduced Sugars (TRS) and the previous inversion of the sugarcane blackstrap molasses are able to influence alcoholic fermentation using yeast as fermentative agent with relation to the rate of production and yield in ethanol. Any improvement on alcoholic fermentation would be very beneficial to sugarcane industry, that movement billions of dollars annually. Fed-batch essay showed better than batch in both parameters. The high concentrations of TRS ended to inhibit the rate of production of ethanol, therefore becoming the fermentation slower.

The yields in ethanol apparently were greater with molasses previously inverted comparing to molasses non-inverted, what indicate that previous inversion would be a process that would improve the fermentation on this important parameter.

KEYWORDS: Alcoholic Fermentation, Molasses, Yeast, Rate of Production, Yield.

INFLUÊNCIA DO REGIME DE OPERAÇÃO EM FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE MEL RICO INVERTIDO DE USINA SUCROALCOOLEIRA EM ALTAS CONCENTRAÇÕES DE AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS

RESUMO: O objetivo deste trabalho é estudar como o regime de operação, a concentração de Açúcares Redutores Totais (ART) e a inversão prévia do mel rico de usina sucroalcooleira são capazes de influenciar a fermentação alcoólica usando fermento como agente fermentativo com relação a velocidade de produção e rendimento em etanol. Qualquer melhoria na fermentação alcoólica seria muito benéfica a indústria sucroalcooleira, que movimenta bilhões de dólares anualmente. A batelada alimentada se mostrou superior a batelada em ambos os parâmetros. As altas concentrações de ART terminaram por inibir a velocidade de produção de etanol, tornando, portanto, a fermentação mais lenta. Os rendimentos em etanol foram aparentemente maiores com o mel rico previamente invertido comparando com este sem inverter, o que indica que a inversão prévia é um processo que poderia de fato melhorar a fermentação nesse importante parâmetro.

PALAVRAS-CHAVE: Fermentação Alcoólica, Mel Rico de Usina Sucroalcooleira, Fermento, Velocidade de Produção, Rendimento.

1 | INTRODUCTION

Brazil is the world's second greater producer of anhydrous and hydrated ethanol, producing less only than United States. The world production of ethanol on 2017 was 26.7 billion of liters, being this quantity approximately 26% of the world production (RFA, 2018). The raw material most commonly utilized on Brazil for the ethanol production is sugarcane, while in the United States is most utilized corn. The ethanol production using sugarcane as raw material is more attractive when compared to corn, because it requires less than nine energy units for each litter of produced ethanol. The productivity per planted area of sugarcane is also about two times greater than corn (Kohlhepp, 2010). Given the great production and importance of this biofuel, any contribution that can be developed to improve the alcoholic fermentation would be economically interesting for the sugarcane industry.

2 | MATHERIALS AND METHODS

It was utilized on the experiments as substrate sugarcane blackstrap molasses, provided initially for the sugarcane industry with TRS (Sucrose, Glucose and Fructose) concentration of 600 grams per liter, which was conveniently diluted and posteriorly inverted for utilization on the fermentative essays. The fermentative medium was supplemented with Urea on concentration of 0.5 grams per liter (Bueno Netto, 1982; Krauter et al, 1987; Carvalho et al, 1990; Echegaray et al, 2000) and Monopotassium Phosphate with concentration of 1.17 grams per liter (Borzani et al, 1992). As fermentative agent was utilized the micro-organism *Saccharomyces cerevisiae*, provided as fresh pressed yeast by Itaiquara Alimentos S/A, sold on packings of 500 grams.

For the inversion of the sucrose on sugar blackstrap molasses was utilized Novo Nordisk Invertase Enzyme on the proportion of 1 gram for each 5000 grams of maximum sucrose possible and 5% of total volume of acetate buffer solution 1M pH 4.5. The solution was stirred for two hours at 50°C until complete inversion of sucrose. The medium was then sterilized at 121°C for 20 minutes. The solution was prepared on total volume of 1.42 liters and with concentration of TRS of 352 grams per liter.

The fermentative essays were realized on a two-liter fermenter. The inoculum was obtained suspending 100 grams of the pressed yeast on water until the volume of 0.56 liters. The inoculum was inserted on the fermenter and in sequence the substrate was also inserted until the full volume of the fermenter. On the batch essay the substrate was inserted all for once and on the fed-batch essay the substrate was inserted gradually for a centrifuge bomb at constant rate of 0.341 liters per hour for a period of 4.2 hours.

Samples were periodically withdrawn from the fermenter and were centrifuged on Falcon tubes at 5000 rpm for 10 minutes, separating the yeast on the bottom and the supernatant on the top of the tube. The supernatant was used to obtain: the residual TRS concentration by DNS Method (Samner, 1921) modified as shown in the work of Bergamasco et al, 2000; and the ethanol concentration, distilling 10 ml of supernatant and posteriorly injecting 1 μ l of the distilled on Varian 3300 gas chromatography, utilizing column Porapak Q with heating ramp of 30°C until 90°C with retention time of ten minutes.

The Equations from (1) to (6) were utilized to analyze the data obtained with the essays.

$$\text{Batch: } m_{Scons}(t) = (S_{feed} \cdot (V_f - V_0)) - (S(t) \cdot V_f) \quad (1)$$

$$\text{Fed-Batch: } m_{Scons}(t) = (S_{feed} \cdot F(t)) - (S(t) \cdot (V_0 + F(t) \cdot t)) \quad (2)$$

$$\text{Batch: } m_{Pprod}(t) = P(t) \cdot V_f \quad (3)$$

$$\text{Fed-Batch: } m_{Pprod}(t) = P(t) \cdot (V_0 + F(t) \cdot t) \quad (4)$$

$$m_{Scons}(t); m_{Pprod}(t) = \left(\frac{r_S}{V_f}; \frac{r_P}{V_f} \right) \cdot t + b \quad (5)$$

$$\eta_P(\%) = \left(\frac{r_P}{r_S \cdot 0.511} \right) \cdot 100 \quad (6)$$

3 I RESULTS AND DISCUSSION

The Figure (1) shows the results of variation of mass of TRS consumed and ethanol produced with the time, obtained by the Equations from (1) to (4), and the angular and linear coefficients adjusted according to Equation (5). The Figure (1) reveals production of ethanol associated at the consume of substrate, what matches with the concept proposed for Gaden Jr. (1955) for primary metabolites.

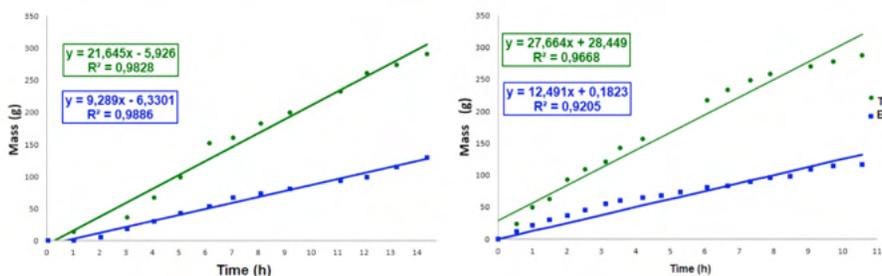


Figure 1. Variation of TRS Consumed and Ethanol Produced with the Time for the Batch Essay (at Left) and for the Fed-Batch Essay (at Right).

The Table (1) shows the results of the ethanol production rate obtained with Equation

(5) and yield in ethanol obtained with Equation (6).

State of Operation	Ethanol Production Rate (r_p) ($\text{g.l}^{-1}\text{h}^{-1}$)	Yield in Ethanol (η_p) (%)
Batch	4.64	84.0
Fed-Batch	6.25	88.4

Table 1. Productivity and Yield in Ethanol for Batch and Fed-Batch Essays.

The results on Table 1 shows that the fed-batch state presented greater ethanol production rate than the batch state, what was waited due to diminution of substrate inhibition on fed-batch state, giving more consistency at data obtained. The values of rate of production of ethanol on the literature obtained (Bueno Netto, 1982; Krauter et al, 1987; Carvalho et al, 1990; Borzani et al, 1992, Echegaray et al, 2000) utilizing approximately the same cell concentration gave an average of rate of $10 \text{ g.l}^{-1}\text{h}^{-1}$, but the essays were executed in the range of $150\text{-}200 \text{ g.l}^{-1}$ of TRS against the 250 g.l^{-1} utilized in this article, what shows that the higher concentration of TRS prejudiced partially the rate of fermentation. About the yield in ethanol, the fed-batch provided greater value than the batch essays, what is positive and not necessarily consensual on the literature. Comparing the results on the same other articles, executed without the inversion of the molasses, the yield in ethanol observed on these was around 78%, values lesser than observed on this article, what can indicate that the inversion of the molasses can have improved the performance about this parameter.

4 | CONCLUSION

The fermentation utilizing inverted sugarcane blackstrap molasses presents to be a promising technology to be used in sugarcane industry, mostly due to higher yields on ethanol achieved. The fed-batch state already widely used tends to be in fact more interesting for alcoholic fermentation. About the higher concentrations of TRS, although the rate of production of ethanol diminished, energetic economies on the distillery could compensate this effect, so more analysis would be necessary to evaluate the use of this higher concentrations of TRS on sugarcane industry.

REFERENCES

BERGAMASCO, R.; BASSETI, F.; MORAES, F. F.; ZANIN, G. M., **Characterization of Free and Immobilized Invertase Regarding Activity and Energy of Activation**. Brazilian Journal of Chemical Engineering (Impresss), Brazil, v.17, n.4-7, p. 873-880, 2000.

BORZANI, W.; GERAB, A.; DE LA HIGUERA, G. A.; PIRES, M. H.; PIPLOVIC, R.; **Batch Ethanol Fermentation of Molasses: A Correlation Between the Time Necessary to Complete the Fermentation and the Initial Concentrations of Sugar and Yeast Cells**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v.9, p.265-268, 1992.

BUENO NETTO, C. L., **Influência da Concentração Inicial de Células e do Tempo de Enchimento da Dorna no Processo Descontínuo Alimentado de Fermentação Alcoólica de Mosto de Melaço de Cana de Açúcar**. 1982. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.

CARVALHO, J. C. M.; AQUARONE, E.; SATO, S.; BRAZZACH M. L.; ALMEIDA, K. A.; BORZANI, W.; **Influence of Exponentially Decreasing Feeding Rates on Fed-Batch Ethanol Fermentation of Sugar Cane Blackstrap Molasses**. *Biotechnology Letters*, v.12, n.10, p.77-82, 1990.

ECHEGARAY, O. F.; CARVALHO, J. C. M.; FERNANDES, A. N. R.; SATO, S.; AQUARONE, E.; VITOLLO, M.; **Fed-Batch Culture of *Saccharomyces cerevisiae* in Sugar-Cane Blackstrap Molasses - Invertase Activity of Intact Cells in Ethanol Fermentation**. *Biomass and Bioenergy*, v.19, p.39-50, 2000.

GADEN Jr., E. L.; **Fermentation Kinetics and Productivity**. *Chemistry and Industry*, February, 12, p. 154-9, 1955.

KOHLHEEP, P, G. **Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil**. *Estud. av.*, São Paulo, v. 24, n. 68, p. 223-253, 2010.

KRAUTER, M.; AQUARONE, E.; SATO, S.; PEREGO Jr., L.; BORZANI, W.; **Influence of Linearly Decreasing Feeding Rates on Fed-Batch Ethanol Fermentation of Sugar-Cane Blackstrap Molasses**. *Biotechnology Letters*, v.9 n.9, p.647-650, 1987.

RFA – Renewable Fuels Association. **World Fuel Ethanol Production**. Disponível em: <<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454099103927-61e598f7-7643>>. Recuperado em 15 Mar 2018.

SUMNER, J. B. **Dinitrosalicylic Acid: A Reagent for the Estimation of Sugar in Normal and Diabetic Urine**. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 47, p. 5-9, 1921.

Data de aceite: 01/06/2022

Ana Claudia Chesca

University of Uberaba
Uberaba. MG

Flávio Araújo Pousa Paiva

University of Uberaba
Uberaba. MG

José Roberto Delalibera Finzer

University of Uberaba
Uberaba. MG

ABSTRACT: This work has as main objective the development of a special malt from a malt base type Pilsen. After hydration the Pilsen malt was subjected to the saccharification temperature for the conversion of the starch into sugars still inside the grain. The drying and roasting step was followed. In the roasting process the Maillard and caramelization reactions occurred, giving characteristic flavor, color and aroma. To analyze the results, beers were produced using 75% Pilsen malt and 25% roasted malt, which were compared to beer produced with 100% Pilsen malt. The first one showed intense coppery color, sweet aromas like of caramel and aromas of bread and biscuit and also sweet flavor that refers to the caramel and roasted sugar. A group of tasters sensorially analyzed the global difference between beer produced with Pilsen malt and the others produced with roasted malt, besides the acceptability of each one and a physical-chemical analysis of the alcoholic content was made in the

product. No differences were identified between the lots produced with roasted malt, and all had acceptability. The alcohol content was slightly higher in beer without roasted malts.

1 | INTRODUCTION

Initially, it is important to understand what is legally considered beer in Brazil. According to Brazilian legislation “Beer is the beverage obtained by the alcoholic fermentation of the brewer’s wort from barley malt and drinking water, by the action of yeast, with the addition of hops” (BRASIL, 2009). However, the same decree allows brewing wort to have up to 45% of adjuncts that replace barley malt, being brewer’s barley and other cereals suitable for human consumption, malted or unmalted, as well as starches and sugars of plant origin. In addition to the growth in beer production in volume, attention has been drawn to the large number of new craft breweries in the country. This is evidenced by the increasing granting of registrations to new factories and consequently products.

Malt is the product resulting from the controlled germination of any cereal (barley, rice, wheat, sorghum). The malt most used in beer is barley, however, it is not the only one, with wheat malt being the second most used (VENTURINI FILHO, 2010).

Malt provides beer with the main

characteristics that can be sensorially perceived by the consumer, such as color, flavor, aromas, body and viscosity, thus, it can be considered the protagonist in most popular styles today (MALLET, 2014).

The transformation of barley grain into malt takes place in malting, under controlled conditions of temperature, moisture and aeration, and interrupting germination as soon as it starts. The starch constituents present in the malted grain have smaller chains than in barley, making it less hard and more soluble, and having enzymes inside the grain that are inherent to the brewing process.

When selecting the malt for a formulation, the brewer must keep in mind all the sensation he wants the consumer to have and know how to achieve the desired parameters through combinations of several varieties of malts, which can result in a complex drink, or even using only one type of malt, having a simpler beer from the sensory point of view. In addition, the proportion of malt used in the production of the beverage will directly impact the alcohol content, as it increases the fermentation potential of the must (MALLET, 2014).

The varied flavors of caramelized and roasted malt are developed in changes in the process. The same barley that produces the special malt can be used to produce the base malt. The characteristic flavors and aromas of specialty malts come mainly from Maillard reactions (MALLET, 2014).

Some specialty malts require the use of specialized equipment. Rotating drums are recommended for the process, just as it is used for coffee. The heated rotating cylinder rotates at around 30 rpm, causing the material to mix evenly (MALLET, 2014).

The development of specialty malts is of great importance to the brewing industry, allowing new experiences to be brought to the consumer. So, it is up to the malting companies to develop a product that allows the repeatability of the formulations, and to seek innovations to meet the growing demand for new flavors and aromas. This work aimed to develop a special malt from the roasting of malt, to produce beer with roasted malt; to compare sensorially the beer produced with and without the roasted malt, to evaluate its acceptance and to compare its alcohol contents.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 Malt and beer preparation

Imported Pilsen malt, from the Castle Malting® brand, was used as a basis for the creation of special malts. For roasting the malt, a grain roaster was used, which uses a rotary drum system similar to that used in malt factories, but on a smaller scale. The beer production followed the normal production steps, three worts were produced with 75% Pilsen malt (1.5 kg) and 25% roasted malt (0.5 kg), 3.50 g of hops, which fermented at 18°C for 6 days, using 5.0 g of safale US-05® yeast from the Fermentis® brand, which has a neutral profile, so as not to interfere with the sensory analysis (COGHE et al., 2006).

For comparison purposes, a wort with 100% Pilsen malt (2.0 kg) and 3.50 g of hops was produced under the same production and fermentation conditions (COGHE et al., 2006). The two beers were aged at a temperature of 1°C for 5 days, and were bottled in glass bottles with 6 g/L of sugar to produce CO₂ and, consequently, carbonate the drink (PALMER, 2006).

2.2 Analyzes performed

The alcohol content by volume was determined using the method described by the Instituto Adolfo Lutz and the sensory analysis was performed using the discriminative method using a multiple comparison test and also using the affective method using an acceptance test with a hedonic scale. The physical-chemical and sensorial analyzes were carried out in the respective laboratories of the University of Uberaba_MG.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

10 roasting batches were carried out, each with an initial mass of wet malt of 500 g, having a final mass of roasted malt of approximately 250 g. Table 1 below presents the initial and final masses of each roasting stage.

Roasting	Wet malt mass (g)	Roasted malt mass (g)
1 ^a	500	252
2 ^a	500	250
3 ^a	500	254
4 ^a	500	256
5 ^a	500	248
6 ^a	500	254
7 ^a	500	252
8 ^a	500	248
9 ^a	500	249
10 ^a	500	253

Table 1: Initial and final masses of each roasting.

Source: Author (2019).

It is verified that the mass of evaporated water is close to the product obtained from the torrefaction. In Figure 1 below, there is an image of a sample of base malt, on the left, and roasted malt, on the right.



Figura 1. Image of the base and roasted malt.

Source: Author (2019).

The batches produced with roasted malt, on the left of Figure 2, had an intense copper color, sweet aromas such as caramel and bread aromas and also a sweet flavor that refers to caramel and roasted sugar. The beer produced only with Pilsen malt, on the right of Figure 2, presented a golden color, with a neutral aroma and flavor, characteristic of beers that do not use special malts.



Figure 2: On the left, beer produced with roasted malt, on the right, beer produced only with *Pilsen* malt.

Source: Author (2019).

The dark and light beers had the initial and final densities and average alcohol content shown in Table 2. It is possible to observe that the dark beer had a higher final

density than the light beer. This is because roasted malt provides non-fermentable sugars to the wort, which resulted in a lower average alcohol content and higher solids concentration.

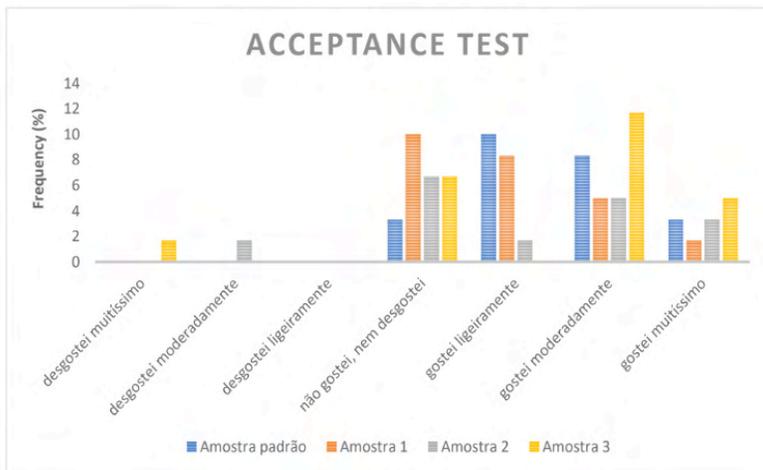
Beer	Initial density (g.cm ⁻³)	Final density (g.cm ⁻³)	Alcohol content (%v/v)
Dark	1,043	1,012	4,14
Clara	1,042	1,006	4,29

Table 2. Densities and average alcohol content of beers.

Source: Author (2019).

To perform the sensory analysis, the group of evaluators consisted mostly of female members (73.33%), aged between 26 and 35 (40%), complete higher education (73.33%), consumption, both alcoholic beverages in general and beer, greater than once a week (40%). Most had no contact with or knowledge of the beer production process (66.67%), none of the evaluators is allergic to food or drinks and among the comorbidities only hypertension was highlighted (6.67%). From the comparative sensory analysis, it was observed that it was possible to obtain a standardization of the roasting operation, as the evaluators did not point out significant differences between three samples of dark beer, while they reported a great difference with the light beer. With the affectivity test, it was noticed that the product had good acceptance, corresponding to the expectations of people who have the habit of consuming beer.

From Graph 1 of the response frequency distribution for each sample evaluated, it is possible to verify that more than 50% of the samples obtained a score greater than 5, and the hedonic scale is seven points, so the samples can be considered accepted. Knowing that 86.67% of the standard samples, 60% of Sample 1, 66.67% of Sample 2 and 66.67% of Sample 3 had acceptance scores greater than or equal to 5, so all samples were well accepted.



Graph 1: Distribution of response frequency for each sample.

Source: Author (2019).

4 | CONCLUSIONS

Through the comparative sensory analysis, it was observed that it was possible to obtain a standardization of the roasting process, as the evaluators did not point out significant differences between the three samples of dark beer, while they reported a great difference with the light beer. With the affectivity test, it is clear that the product has good acceptance, corresponding to the expectations of people who have the habit of consuming beer.

It is clear then that it is possible to produce roasted malt from commercial Pilsen malt, and not only from green malt. The beers produced with this malt had the characteristics of color, flavor and aroma within the expectation for a malt that undergoes Maillard reactions and caramelization in the industry, in addition to the slightly lower alcohol content.

REFERENCES

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União, Brasília, 4 de junho de 2009.

COGHE, Stefan; GHEERAERT, Bert; MICHIELS, Ann; DELVAUX, Freddy R. **Development of Maillard Reaction Related Characteristics During Malt Roasting**. Journal of the Institute of Brewing, Bélgica, v. 112, n. 2, p. 148-156, 2006.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglia -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

MALLET, John. **Malt**: A practical guide from field to brewhouse. 1. ed. USA: Brewers Publications, 2014.

PALMER, J. J. How to Brew: Everything You Need to Know to Brew Beer Right the First. 3. ed. Eua: Brewers Publications, 2006.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. **Bebidas alcoólicas**: Ciência e Tecnologia (Volume 1). 1. ed. São Paulo: Blucher, 2010.

ESTRATÉGIAS NO ESTABELECIMENTO DE ESPÉCIES FLORESTAIS

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 18/05/2022

Lindamir Hernandez Pastorini

Universidade Estadual de Maringá
Maringá – Paraná
<https://orcid.org/0000-0003-4679-4718>

Nara Alves Mendes Barella

Universidade Estadual de Maringá
Maringá – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/7060205489530241>

Caroline Barbeiro

Universidade Estadual de Maringá
Maringá – Paraná
<https://orcid.org/0000-0002-7351-4470>

Tatiane Martins da Silva

Universidade Estadual de Maringá
Maringá – Paraná
<https://orcid.org/0000-0003-0489-1720>

Taysi Pereira Firmino

Universidade Estadual de Maringá
Maringá – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6602794365209096>

RESUMO: O estabelecimento de espécies florestais depende do sucesso no processo de germinação, associado ao menor tempo de germinação e à capacidade de formar estruturas fotossintetizantes e sistema de raízes para obtenção de água e nutrientes. As características morfológicas das plântulas associadas às características ecológicas, capacidade

germinativa e às estratégias de alocação de biomassa raiz/parte aérea geram informações sobre a habilidade em se estabelecer em determinados ambientes. Assim, a análise morfofuncional das plântulas torna-se importante para compreender as funções das estruturas morfológicas nos processos de desenvolvimento e estabelecimento das plantas. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a germinação, emergência e características morfo métricas das espécies florestais *Cedrela fissilis* Vell. e *Poecilanthe parviflora* Benth. A partir do material botânico coletado avaliou-se a germinação sob temperatura de 25 °C e em condições de fotoperíodo de 12 horas (luz/escuro) e sob escuro contínuo. Avaliou-se também a emergência e as características morfo métricas das plântulas em condições de pleno sol e 80% de sombreamento. A luz não influenciou a germinação das espécies *C. fissilis* e *P. parviflora* em relação à porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação. O sombreamento afetou o crescimento de *C. fissilis* ocasionando maior comprimento da parte aérea, enquanto que as plântulas de *P. parviflora* apresentaram desempenho semelhante quando mantidas sob luz plena e sombreamento, com exceção do parâmetro massa seca das folhas, que foi menor nas plântulas mantidas sob sombreamento. Os resultados revelam que as características morfo funcionais das plântulas associadas à capacidade de germinação e às estratégias de alocação de biomassa raiz/parte aérea são importantes variáveis para o sucesso no estabelecimento das plântulas no ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Germinação, emergência,

massa seca, sombreamento.

STRATEGIES IN THE ESTABLISHMENT OF FOREST SPECIES

ABSTRACT: The establishment of forest species depends on the success of the germination process, associated with the shorter germination time and the ability to form photosynthetic structures and root systems to obtain water and nutrients. The morphological characteristics of the seedlings associated with the ecological characteristics, germination capacity and the strategies of allocation of root/shoot biomass generate information about the ability to establish themselves in certain environments. Thus, the morphofunctional analysis of seedlings becomes important to understand the functions of morphological structures in the processes of plant development and establishment. This work was carried out with the objective of evaluating the germination, emergence and morphometric characteristics of the forest species *Cedrela fissilis* Vell. and *Poecilanthe parviflora* Benth. The germination was evaluated at a temperature of 25 °C and under conditions of a 12-hour photoperiod (light/dark) and under continuous dark. The emergence and morphometric characteristics of the seedlings were also evaluated under full sun and 80% shading conditions. Light did not influence the germination of the species *C. fissilis* and *P. parviflora* in relation to the germination percentage and the germination speed index. The shading affected the growth of *C. fissilis* causing greater length of the shoot, while the seedlings of *P. parviflora* showed similar performance when kept under full light and shading, with the exception of the parameter dry mass of the leaves, which was smaller in the seedlings kept under shading. The results reveal that the morphofunctional characteristics of the seedlings associated with the germination capacity and the strategies of allocation of root/shoot biomass are important variables for the success of the establishment of the seedlings in the environment.

KEYWORDS: Germination, emergency, dry mass, shading.

1 | INTRODUÇÃO

As florestas tropicais são conhecidas por sua alta diversidade e interações bióticas e abióticas. No entanto, áreas florestais nativas perderam grande parcela da sua biodiversidade e da cobertura vegetal devido à pressão imobiliária, agricultura, pastagens entre outros fatores. Além disso, eventos climáticos extremos podem influenciar processos reprodutivos e o recrutamento e estabelecimento de espécies florestais.

Entre as florestas tropicais, as matas estacionais (deciduais e semideciduais) e suas espécies estão entre as mais ameaçadas (Scariot e Sevilha, 2000). Com isso, o estudo sobre o desenvolvimento inicial de espécies florestais, visando a proteção de florestas tropicais e a recuperação de áreas degradadas, pode contribuir com políticas ambientais, com o uso sustentável de espécies nativas e a difusão do conhecimento sobre a conservação e fisiologia destas espécies.

A obtenção de sementes é uma parte importante no processo de produção de mudas de essências nativas para reflorestamento, sendo que o período juvenil pode ser considerado o mais crítico do ciclo de vida de muitas espécies. Os resultados sobre a velocidade de

germinação de sementes, aliados aos dados de morfologia e desenvolvimento de plântulas são úteis para o trabalho em viveiros e em pesquisas sobre a regeneração de florestas.

De acordo com Souza (2009) a fase de plântula compreende o período entre o momento da germinação até a completa expansão do primeiro eófilo. Assim, os estudos sobre plântula têm merecido atenção dos pesquisadores, principalmente aqueles relacionados à sua morfologia e à germinação de sementes, pois o período de desenvolvimento inicial de uma planta é considerado crítico no ciclo de vida de muitas espécies vegetais, e um fracasso no processo adaptativo neste estágio pode levar a espécie à extinção (AMORODRIGUES e GOMEZ-POMPA, 1979).

Os fatores ambientais como clima, temperatura, incidência solar, características do solo entre outros afetam a dinâmica das florestas nativas e de fragmentos urbanos. A disponibilidade de luz em ambientes florestais é um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento das plantas. Em função da resposta das plantas à luz, as espécies podem ser agrupadas em dois grandes grupos: espécies pioneiras (heliófitas) que requerem radiação solar direta para a germinação e o crescimento satisfatório de suas plântulas, e espécies clímax (umbrófilas) que são tolerantes ao sombreamento inicial, podendo germinar, sobreviver e desenvolver-se sob dossel fechado, com pouca luz (SWAINE e WHITMORE, 1988).

A quantidade e a qualidade espectral da luz, disponíveis para a germinação de sementes são distintas nas diferentes situações da floresta tropical. A luz tanto pode promover quanto inibir a germinação, até mesmo em sementes da mesma espécie (ZAIA e TAKAKI, 1998). Experimentos de germinação em condições naturais têm mostrado que a luz difusa da floresta, filtrada pelo dossel, é inibidora para sementes fotossensíveis, pelo fato desta luz ser rica em vermelho-extremo (VE) (Smith, 1973). Dessa forma, a luz filtrada pelo dossel, apresentando baixa relação V/VE mantém baixo fotoequilíbrio de fitocromo, inibindo a germinação de sementes de plantas heliófilas quando se disseminam sob o dossel da floresta (VAZQUEZ-YANES e OROZCO-SEGOVIA, 1984; CASAL e SMITH, 1989).

A biomassa aérea e radicular são variáveis importantes na avaliação do desenvolvimento das plantas e na sua capacidade de aclimação a diferentes regimes de sombreamento e na tolerância a períodos secos. Para o estabelecimento de protocolos que permitam a utilização de espécies nativas em programas de recuperação de áreas degradadas, assim como para plantios comerciais, fazem-se necessários estudos de ecofisiologia em condições de campo, em condições controladas de laboratório e em condições semi-controladas em viveiros e casas de vegetação (Ramos et al., 2004).

Assim, estudos relacionados à emergência e das características morfofuncionais das plântulas possibilitam verificar as estratégias para o estabelecimento de plântulas nativas, sendo também importantes para a recuperação de áreas degradadas e manutenção dos ecossistemas florestais.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material vegetal

A coleta do material vegetal ocorreu no campus sede da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil. Foram coletados frutos das espécies arbóreas *Poecilanthe parviflora* Benth. (Fabaceae) e de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae).

Cedrela fissilis Vell., Meliaceae, é conhecida popularmente como cedro, ocorre do Rio Grande do Sul até Minas Gerais, principalmente nas florestas decíduas e pluvial atlântica. É uma planta decídua, heliófita, produzindo anualmente grande quantidade de sementes viáveis (LORENZI, 2000).

Poecilanthe parviflora Benth., Fabaceae, conhecida como coração negro, ocorre do Mato Grosso até o Rio Grande do Sul. É uma planta perenifólia, heliófita e característica da floresta semidecidual da bacia do Paraná. Encontrada no interior da floresta primária densa, mas cresce bem em áreas abertas (LORENZI, 2000).

Os frutos coletados foram levados ao laboratório de Fisiologia Vegetal da UEM para obtenção das sementes e posterior avaliação da germinação, emergência, características morfológicas e parâmetros biométricos.

2.2 Conteúdo de água e massa seca das sementes da semente

Para análise do conteúdo de água das sementes, inicialmente foi obtido a massa fresca de 100 sementes, separadas em quatro repetições com 25 sementes cada, e após estas foram mantidas em estufas de circulação de ar a 105 ± 3 °C por 24 horas de acordo com Brasil (2009). Após foi aferido a massa seca das sementes utilizando-se balança de precisão.

2.3 Bioensaios de germinação

Os experimentos para análise da germinação foram realizados em câmaras de germinação com temperatura e fotoperíodo controlados. As sementes distribuídas em placas de Petri contendo duas folhas de papel filtro, umedecidas com água destilada, sendo utilizadas amostras de 100 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 25 sementes de acordo com Oliveira et al (1989) e Garcia e Diniz (2003). Os testes foram realizados em temperatura de 25°C, sob fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo. Para o tratamento escuro contínuo as placas de Petri foram envolvidas em alumínio. As sementes permaneceram nestas condições e examinadas sob luz verde de segurança.

Como critério de germinação considerou-se a emissão da radícula, sendo que a avaliação da germinação ocorreu diariamente. Dos testes de germinação serão calculados a porcentagem de germinação (PG), o índice de velocidade de germinação (IVG) de acordo com Maguire (1962) e o tempo médio de germinação (TMG) segundo Ferreira e Borghetti, 2004.

2.4 Análise de emergência

Para o teste de emergência das plântulas foram empregadas 100 sementes em quatro repetições de 25 sementes. A semeadura foi realizada em bandejas de isopor contendo o substrato (areia + fertilizante orgânico Provaso® na proporção de 2:1). As bandejas foram mantidas na condição de pleno sol e de sombreamento a 80%. O registro da emergência das plântulas foi realizada diariamente até a expansão total do primeiro par de eófilos. Diante dos dados obtidos foi calculada a porcentagem de emergência (PE) e o tempo médio de emergência (TME) das plântulas de acordo com Vieira e Carvalho (1994). Todos os resultados foram ao teste “t”, utilizando software Statistica 7.0.

2.5 Avaliação dos parâmetros morfométricos

A partir da emergência das plântulas, 10 amostras de cada espécie foram coletadas e analisadas as características relacionadas aos cotilédones e eófilos e mensurados o comprimento da raiz, da parte aérea e o comprimento total da plântula (em mm), com o auxílio de um paquímetro digital. Para avaliar a biomassa das plântulas, estas foram colocadas em sacos de papel e mantidas em estufa de secagem e esterilização a 60°C por 48h e posteriormente obtida a massa seca com auxílio de balança analítica de precisão. A massa seca da raiz, da parte aérea, dos cotilédones, dos eófilos e a massa total da plântula (em mg) foram estimadas, representando assim a alocação de reserva nas diferentes partes da plântula. Todos os resultados foram submetidos ao teste “t”, utilizando software Statistica 7.0.

3 | RESULTADOS

3.1 Massa seca e conteúdo de água das sementes

As sementes de *C. fissilis* apresentaram, em média, massa seca de 0,78 g e o conteúdo de água das sementes foi de 11, 44%, enquanto as sementes de *P. parviflora* apresentaram média de massa seca igual a 7,28 g e conteúdo de água de 9,54%.

3.2 Germinação

Em relação à geminação de *C. fissilis* (Tabela 1), não houve diferença significativa entre as sementes mantidas sob fotoperíodo de 12 horas e o escuro contínuo para os parâmetros porcentagem de germinação (PG) e índice de velocidade de germinação (IVG). As sementes apresentaram 93% de PG e em média 2,6 sementes germinadas por dia, independente da condição de luz. Houve diferença significativa em relação ao TMG, quando comparamos as duas condições, sementes mantidas sob escuro contínuo germinaram em um menor tempo quando comparadas às mantidas sob fotoperíodo de 12 horas.

Sementes de *P. parviflora* não apresentaram diferença significativa para os

parâmetros PG, TMG e IVG, quando mantidas sob fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo (Tabela 1).

Parâmetros de germinação	PG (%)		TMG (dias)		IVG	
	Luz/escuro	Escuro contínuo	Luz/escuro	Escuro contínuo	Luz/escuro	Escuro contínuo
<i>C. fissilis</i>	92,00 a	95,00 a	09,45 a	08,58 b	2,48 a	2,75 a
<i>P. parviflora</i>	56,00 a	57,00 a	18,50 a	11,30 b	1,40 a	2,20 a

*Médias iguais não diferem pelo teste t, $p < 0,05$.

Tabela 1. Média da Porcentagem de germinação (PG), Tempo médio de germinação (TMG) e do Índice de velocidade de germinação (IVG) de *Cedrela fissilis* e *Poecilanthe parviflora* e sob fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo, mantidas sob temperatura de 25°C.

3.3 Emergência

As sementes de *C. fissilis* mantidas em casa de vegetação apresentaram um tempo médio de emergência de 17 dias, e 90% de germinação (Tabela 2), não havendo diferença significativa entre os tratamentos (pleno sol e 80% de sombreamento). Também não houve diferença na emergência de plântulas de *P. parviflora* em pleno sol e sombreamento, sendo que em média, a PE foi de 48% e o tempo médio para emergência foi de 46 dias, independente da condição de luz.

As plântulas de *C. fissilis* são fanerocotiledonares e apresentaram cotilédones foliáceos (Figura 1). Assim, de acordo com a classificação de Miquel (1987) e estudos realizados por Polli et al. (2020), as plântulas são fanero-epígeo-foliáceas (PEF).

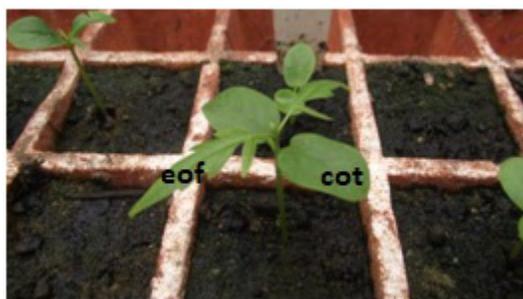


Figura 1. Plântula de *Cedrela fissilis*. eof=eófilo, cot=cotilédones foliáceos.

Variáveis de emergência	PE (%)		TME dias	
	pleno sol	sombreamento	pleno sol	sombreamento
<i>C. fissilis</i>	91,00 a*	89,00 a	17,86 a	16,81 a
<i>P. parviflora</i>	54,00 a	43,00 a	47,12 a	44,40 a

*Médias iguais não diferem pelo teste t , $p < 0,05$.

Tabela 2. Porcentagem de emergência (PE) e tempo médio de emergência (TME) de plântulas de *Cedrela fissilis* e *Poecilanthe parviflora* mantidas sob pleno sol e 80% de sombreamento.

As plântulas de *P. parviflora* são criptocotiledonares (Figura 2) e consideradas cripto-epigeo-reserva de acordo com o estudo realizado por Polli et al. (2020).



Figura 2. Plântula de *Poecilanthe parviflora*.

Plântulas de *C. fissilis* apresentaram maior altura (PA), menor comprimento da raiz (CR), menor massa seca da parte aérea (MSPA) e menor massa seca das folhas (MSF) quando mantidas em 80% de sombreamento. Não foi observada diferença significativa para as variáveis comprimento total da plântula (CT) e massa seca total (MST) para as plântulas sob pleno sol e sombreamento (Tabela 3).

Tratamento/ variáveis	PA (cm)	CR (cm)	CT (cm)	MSR (g)	MSPA (g)	MSF (g)	MST (g)
Pleno sol	5,42 b*	8,27a	13,69a	0,0055b	0,0267a	0,0088a	0,0323 a
Sombreamento	6,60 a	5,41 b	12,06a	0,011 a	0,0201 b	0,0026 b	0,0308 a

*Médias iguais não diferem pelo teste *t*, $p < 0,05$.

Tabela 3. Altura da parte aérea (PA), comprimento da raiz (CR), Comprimento Total (CT), Massa seca da raiz (MSR), Massa seca da parte aérea (MSPA), Massa seca das folhas (MSF), e Massa seca Total (MST) de plântulas de *Cedrela fissilis* mantidas em casa de vegetação sob luz plena e sob 80% de sombreamento.

Considerando as plântulas de *P. parviflora*, não se observou diferença significativa, quando estas foram mantidas sob pleno sol e sombreamento, para as variáveis analisadas, com exceção da massa seca das folhas (MSF) que foi maior para as plântulas em pleno sol. (Tabela 4).

Tratamentos/ Variáveis	PA (cm)	CR (cm)	CT (cm)	MSR (g)	MSPA (g)	MSF (g)	MST (g)	MSCOT (g)
Pleno sol	5,03 a*	7,97 a	14,88 a	0,0213 a	0,0722 a	0,029 a	0,276 a	0,161 a
Sombreamento	4,31 a	9,23 a	15,64 a	0,0158 a	0,0576 a	0,012 b	0,258 a	0,167 a

*Médias iguais não diferem pelo teste *t*, $p < 0,05$.

Tabela 4. Altura da parte aérea (PA), comprimento da raiz (CR), Comprimento Total (CT), Massa seca da raiz (MSR), Massa seca da parte aérea (MSPA), Massa seca das folhas (MSF), Massa seca Total (MST) e Massa seca dos cotilédones (MSCOT) de plântulas de *Poecilanthe parviflora* mantidas em casa de vegetação sob luz plena e sob 80% de sombreamento.

As plântulas de *P. parviflora* apresentaram diferenças morfológicas quando mantidas sob luz plena e sombreamento. As plântulas mantidas sob sombreamento apresentaram nítido estiolamento, como pode ser observado na Figura 3.



Figura 3. Plântulas de *P. parviflora*, mantidas em pleno sol (esquerda) e sombreamento (direita).

4 | DISCUSSÃO

O estabelecimento de espécies florestais depende do sucesso no processo de germinação, associado ao menor tempo de germinação, com maior vigor (maior índice de velocidade de germinação). A germinação é um processo complexo que depende de diversos fatores, como água, temperatura, luz, e composição de gases na atmosfera (CABRAL et al, 2003). A primeira etapa da germinação é a embebição, que constitui um processo físico, no qual sementes viáveis reativam o metabolismo, culminando no alongamento do eixo hipocótilo-radicular e a formação de uma nova planta.

Consideramos a semente germinada quando há a protusão da radícula e a partir desse momento, inicia um processo decisivo para o estabelecimento da plântula, no qual com a continuidade do alongamento da raiz e desenvolvimento do sistema radical, assim como o crescimento da parte aérea, torna possível à nova planta adquirir água e nutrientes minerais do ambiente onde se fixou e realizar fotossíntese. De acordo com Taiz et al. (2017) o estabelecimento da plântula se refere ao estágio que ocorre após a germinação da semente, com a produção das primeiras folhas fotossintetizantes e maior desenvolvimento do sistema de raízes. No entanto, características morfofuncionais associadas às sementes e à plântula podem influenciar a capacidade de estabelecimento e de respostas às variações ambientais.

Espécies que apresentam sementes com cotilédones foliáceos necessitam fotossintetizar para garantir a continuidade do crescimento, assim as condições de luminosidade podem influenciar o estabelecimento dessas plântulas. Além disso, a massa ou tamanho das sementes também pode sustentar o crescimento das plântulas por um

período maior, indicando uma possibilidade maior de sucesso no estabelecimento.

O estágio sucessional ou a tolerância ao sombreamento pode influenciar na aclimação das plantas à condição de luminosidade do ambiente. A espécie arbórea *C. fissilis* é considerada pioneira, enquanto *P. parviflora* é considerada clímax, o que ocasionou diferenças no desempenho das plântulas, quando mantidas sob pleno sol e sombreamento. As plântulas de *C. fissilis* apresentaram características de “fuga ao sombreamento”, com maior comprimento da parte aérea (altura) quando expostas a 80% de sombreamento. Além disso, o maior valor para as variáveis CR, MSPA e MSF observado em *C. fissilis* sob pleno sol também são indicativo do maior vigor das plântulas nessa condição de luminosidade. De acordo com Taiz e Zeiger (2013) a redução da razão luz vermelho/vermelho distante (R:FR) causa o alongamento do caule em resposta ao sombreamento. As plântulas de *P. parviflora* apresentaram maior massa seca das folhas, quando sob pleno sol, o que pode estar associado à alteração anatômica, com maior espessamento foliar, devido à maior intensidade de luz.

As plântulas de *C. fissilis* apresentaram cotilédones foliáceos, enquanto plântulas de *P. parviflora* apresentaram cotilédones de reserva. Segundo Melo et al. (2004) cotilédones foliáceos e fotossintetizantes estão associados a sementes com baixo conteúdo de reserva, enquanto cotilédones de reserva garantem energia e nutrientes para o desenvolvimento da plântula, enquanto a produção de fotoassimilados é limitada. Assim, a presença de cotilédones fotossintetizantes é uma estratégia importante para plântulas mantidas em condições de maior luminosidade, já que não contam com a reserva da semente para a continuidade do crescimento.

Com isso, a funcionalidade dos cotilédones pode estar associada à velocidade de germinação, uma vez que plântulas pioneiras, por apresentarem cotilédones fotossintetizantes, se desenvolvem mais rapidamente do que as que possuem cotilédones de reserva. Isto pode ser observado para *C. fissilis* em que o TMG foi de 8 a 9 dias e o TME entre 16 e 18 dias, enquanto que *P. parviflora* o TMG foi de 10 a 11 dias e o TME de 44 a 47 dias. Além dos cotilédones foliáceos, *C. fissilis* apresentou massa seca de sementes de 0,78g, o que caracteriza baixa reserva, assim a plântula necessita realizar fotossíntese para o seu estabelecimento. Já *P. parviflora* apresentou 7,28g de massa seca de sementes e espessura três vezes superior ao de *C. fissilis*, o que garante reserva para o estabelecimento inicial.

5 | CONCLUSÃO

A luz não afetou a PG e o IVG de sementes de *C. fissilis* e *P. parviflora*. No entanto, plântulas de cedro apresentaram características de “fuga ao sombreamento”, o que caracteriza uma planta pioneira, requerendo maior disponibilidade de luz para o crescimento, enquanto *P. parviflora* confirmou as características de espécie tolerante ao

sombreamento.

Os resultados revelam que as características morfofuncionais das plântulas associadas à capacidade de germinação e às estratégias de alocação de biomassa na raiz e parte aérea são importantes variáveis para o sucesso no estabelecimento das plântulas no ambiente.

REFERÊNCIAS

AMO-RODRIGUES, S; GOMEZ-POMPA. **Clave para plântulas y estados juveniles de espécies primárias de una selva alta perinnifolia en Veracruz, México.** Biotropica, v. 4, n.2, p. 58-108, 1979.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009.

CABRAL, E.L.; BARBOSA, D.C.A.; SIMABUKURO, E.A. **Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia áurea* (Manso) Benth. & Hook. F. ex. S. Moore.** Acta Botânica Brasilica, v.17, n.4, p.609-617, 2003.

CASAL, J.J.; SMITH, H. **The function, action and adaptive significance of phytochrome in light-grown plants.** Plant Cell and Environment, v.12, p.855-862, 1989.

FENNER, M. **Seed ecology.** New York: Chapman and Hall, 1985.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Arned, 2004.

GARCIA, Q.S.; DINIZ, I.S.S. **Comportamento germinativo de *Vellozia* da Serra do Cipó-MG.** Acta Botânica Brasilica, v.17, n.4, p. 487-484, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Vol.1. 3ªed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000.

MAGUIRE, J. D. **Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor.** Crop Science, v. 2, n. 2, p.176-77, 1962.

MELO, M.G.; MENDONÇA, M.S.; MENDES, A.M. **Análise morfológica de sementes, germinação e plântulas de jatobá (*Hymenaea intermedia* var. *adenothicha* (Ducke) Lee e Lang.- Leguminosae-caesalpinioideae).** Acta Amazônica, v.34, n.1, p.9-14, 2004.

MIQUEL, S. **Morphologie fonctionnelle de plantules d'espèces forestières du Gabon.** Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, v.9, p.101-121, 1987.

OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Propostas para padronização de metodologias em análise florestais.** Revista Brasileira de Sementes, v.11, n.123, p. 1-42, 1989.

RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; SOUZA-SILVA, J.C.; FRANCO, A.C. **Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento.** Acta Botânica Brasilica, v. 18, n. 2, p. 351-358, 2004.

SCARIOT, A.; SEVILHA, A. C. **Diversidade, estrutura e manejo de florestas decíduais e as estratégias para a conservação.** In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 51, Brasília. Anais Tópicos Atuais em Botânica. Brasília, p. 183-188, 2000.

SMITH, H. **Light quality and germination: ecological and applications.** pp. 219-231. In W. Heydecker (ed). Seed Ecology. Butterworths, London, 1973.

SOUZA, L.A. **Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação.** Ponta Grossa: TODAPALAVRA, 2009.

SWAINE, M.D.; WHITMORE, T.C. **On the definition of ecological species groups in tropical rain forests.** Vegetatio, v.75, p. 81-86, 1988.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 5ª ed. Porto Alegre, Artmed, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** 6ªed. Porto Alegre, Artmed, 2017.

VÁSQUES-YANES, C.; OROZEO-SEGOVIA, A. **Pattern of seed longevity and germination in the tropical rain forest.** Annual Review of Ecology and Systematics, v.24, p.69-87,1993.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: FUNEP, 1994.

ZAIA, J.E.; TAKAKI, M. **Estudo da germinação de sementes de espécies arbóreas pioneiras: *Tibouchina pulchra* Cogn. e *Tibouchina granulosa* Cogn. (Melastomataceae).** Acta Botânica Brasileira, v.12, n.3, p.221-229, 1998.

CAPÍTULO 16

A NEW SPECIES OF TAPACULO (RHINOCRYPTIDAE: SCYTALOPUS) FROM THE SOUTHERN END OF THE WORLD. NAVARINO ISLAND, CHILE

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 18/04/2022

Alejandro Correa Rueda

Evolutionary Biologist

Santiago, Chile

<http://orcid.org/0000-0003-2067-4611>

ABSTRACT: The *Scytalopus magellanicus* or language Yagan is “Tutu”, is a generalist Rhinocryptidae in the southern end of the world in Navarino Island, Cape Horn Chile as in other latitudes of the territory of Chile and Argentina. In this study we postulate that Magellanic Tapaculo in Navarino Island should be another specie of the genus *Scytalopus*. We found out that the plumage of the juvenile Magellanic Tapaculo is different from other specimen of the same species in other latitude in Chile and in Argentina. We propose a new taxonomic name of Magellanic Tapaculo of Navarino Island: *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo, (English), Churrín de Navarino (Spanish), Copriculo di Navarino (Italian), Navarinotapacul (Germany), Tapacú por Navarino (Português) or Mérulaxe du Navarino (French)].

KEYWORDS: New specie, *Scytalopus*, Tapaculo, Rhinocryptidae.

UMA NOVA ESPECIE DE TAPACÚ
(RHINOCRYPTIDAE: SCYTALOPUS)
DO SUL NO FIM DO MUNDO. ILHA
NAVARINO, CHILE

RESUMO: O *Scytalopus magellanicus* ou em linguagem yagano é o “Tutu”, um Rhinocryptidae geral da região sul do fim do mundo como em outras latitudes do território do Chile e Argentina. Nesse estudo postulamos que o Tapacú Magellanic da ilha Navarino deve ser uma outra especie do gênero *Scytalopus*. Achamos que a plumagem do Tapacú Magellanic juvenil, é diferente das outras aves da mesma especie de outras latitudes no Chile e na Argentina. Propomos um novo nome taxonômico como *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo (inglês), Churrín de Navarino (español), Copriculo di Navarino (Itália), Navarinotapacul (Alemão), Tapacú por Navarino (português) ou Mérulaxe du Navarino (francês)].

PALAVRAS-CHAVE: Nova espécie, *Scytalopus*, Tapacú, Rhinocryptidae.

UNA NUOVA SPECIE DI TAPACULO
(RHINOCRYPTIDAE: SCYTALOPUS)
DELL'ESTREMO SUD NEL MONDO.
ISOLA DI NAVARINO, CILE

ESTRATTO: Lo *Scytalopus magellanicus* o lingua Yagan chiamato “Tutu”, è un Rhinocryptidae generalista che abita all’ estremità meridionale del mondo nell’ isola di Navarino, Capo Horn Cile così come in altre latitudini del territorio del Cile e dell’ Argentina. In questo studio postuliamo che il Tapaculo Magellanico dell’isola di Navarino dovrebbe essere classificato come un’altra

specie del genere *Scytalopus*. Abbiamo scoperto che il piumaggio del giovane Tapaculo Magellanico è diverso da un altro esemplare della stessa specie ed altre latitudini in Cile e dell' Argentina. Proponiamo un nuovo nome tassonomico di Tapaculo Magellanico dell'isola di Navarino: *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo, (inglese), Churrín de Navarino (spagnolo), Copriculo di Navarino (italiano), Navarintapacul (tedesco), Tapacú por Navarino (porthogese) o Mérulaxe du Navarino (francese)].

PAROLE CHIAVE: Nuova specie, *Scytalopus*, Tapaculo, Rhinocryptidae.

UNA NOVA ESPÈCIE DE TAPACUL (RHINOCRYPTIDAE: SCYTALOPUS) A L'EXTREM DEL SUD DEL MÓN. L'ILLA DE NAVARINO, XILE

RESUM: El *Scytalopus magellanicus* o llengua Yagan o Tutu, és un Rhinocryptidae generalista que habita tant a l'extrem sud del món a l'lla Navarino, Cap d'Hornos Xile, com en altres latituds del territori de Xile i Argentina. En aquest estudi postulem que el Magellanic Tapaculo a l'lla Navarino hauria de ser una altra espècie del gènere *Scytalopus*. Descobrim que el plomatge del juvenil de Magellanic Tapaculo és diferent del d'altres exemplars de la mateixa espècie a altres latituds de Xile. Proposem un nou nom taxonòmic del Magellanic Tapaculo de la l'lla Navarino: *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo, (anglès), Copriculo di Navarino (italià) Churrín de Navarino (espanyol), Navarintapacul (alemany), Tapacú per Navarino (português Navarí (francès)].

PARAULES CLAU: Nova espècie, *Scytalopus*, Tapaculo, Rhinocryptidae.

EINE NEUE ART VON TAPACULO (RHINOCRYPTIDAE: SCYTALOPUS) IN DER FERNEN SÜDLICHEN WELT. DAS EILAND NAVARINO, CHILE

ZUSAMMENFASSUNG: *Scytalopus magellanicus*, auch Yagán-Zunge oder "Tutu" genannt, ist eine generalistische Rhinocryptidae, die sowohl an der Südspitze der Welt bei Insel Navarino, Kap Hoorn Chile, als auch in anderen Breitengraden des chilenischen und argentinischen Hoheitsgebiets vorkommt. In dieser Studie postulieren wir, dass der Magellan-Tapaculo auf Islen Navarino als eine weitere Art der Gattung *Scytalopus* klassifiziert werden sollte. Wir haben festgestellt, dass sich das Gefieder des jungen Magellan-Tapaculo von dem anderer Exemplare der gleichen Art in anderen Breitengraden Chiles unterscheidet. Wir schlagen einen neuen taxonomischen Namen für den Magellan-Tapaculo von der Insel Navarino vor: *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo, (Englisch), Copriculo di Navarino (Italienisch) Churrín de Navarino (Spanisch), Navarintapacul (Deutsch), Tapacú por Navarino (Portugiesisch) oder Mérulaxe du Navarino (Französisch)].

SCHLÜSSELWÖRTER: Neue Spezies, *Scytalopus*, Tapaculo, Rhinocryptidae.

UNE NOUVELLE ESPÈCE DE TAPACULO (RHINOCRYPTIDAE : SCYTALOPUS) DANS L'EXTREME SUD DU MONDE. ÎLE NAVARINO, CHILI

RÉSUMÉ: *Scytalopus magellanicus* ou langue de Yagán ou "Tutu", est un Rhinocryptidae généraliste qui habite aussi bien la pointe sud du monde à Isla Navarino, Cap Horn Chili, que dans d'autres latitudes du territoire du Chili et de l'Argentine. Dans cette étude, nous postulons que le Tapaculo de Magellan sur Isla Navarino devrait être classé comme une autre

espèce du genre *Scytalopus*. Nous avons constaté que le plumage du Tapaculo de Magellan juvénile est différent de celui d'autres spécimens de la même espèce sous d'autres latitudes du Chili. Nous proposons un nouveau nom taxonomique pour le Tapaculo de Magellan de l'île de Navarino: *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo, (anglais), Copriculo di Navarino (italien) Churrín de Navarino (espagnol), Navarinotapacul (allemand), Tapacú por Navarino (portugais) ou Mérulaxe du Navarino (français)].

MOTS CLÉS: Nouvelle espèce, *Scytalopus*, Tapaculo, Rhinocryptidae.

UNA NUEVA ESPECIE DE TAPACULO (RHINOCRYPTIDAE: SCYTALOPUS) EN EL EXTREMO DEL SUR DEL MUNDO. ISLA NAVARINO, CHILE

RESUMEN: El *Scytalopus magellanicus* o lengua Yagán ó "Tutu", es un Rhinocryptidae generalista que habita tanto en el extremo sur del mundo en Isla Navarino, Cabo de Hornos Chile, como en otras latitudes del territorio de Chile y Argentina. En este estudio postulamos que el Magellanic Tapaculo en Isla Navarino debería catalogarse como otra especie del género *Scytalopus*. Descubrimos que el plumaje del juvenil de Magellanic Tapaculo es diferente al de otros ejemplares de la misma especie en otras latitudes de Chile. Proponemos un nuevo nombre taxonómico del Magellanic Tapaculo de la Isla Navarino: *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo, (inglés), Copriculo di Navarino (italiano) Churrín de Navarino (español), Navarinotapacul (alemán), Tapacú por Navarino (português) o Mérulaxe du Navarino (francés)].

PALABRAS CLAVE: Nueva especie, *Scytalopus*, Tapaculo, Rhinocryptidae.

The *Scytalopus magellanicus* or language Yagán is "Tutu" (Rozzi *et al.* 2003) is a generalist Rhinocryptidae in the southern end of the world (Correa & Rozzi, 2003). This species of *Scytalopus* genus is dispersed in Chile and Argentina (Narozky *et al.* 1993). The plumage of this adult bird is generally slate gray (Krabbe, & Schulenberg, 2003). In the typical juvenile state the plumage varies between brown-cinnamon color and shades of gray and plumage with dark brown spots (Picture 2) (Fjeldsa & Krabbe, 1990).

The study was conducted in the summer of 2002 to 2009 (Correa 2012-2013), through the distribution range of the Magellanic Tapaculo in Chile (Figure 1): juvenile individuals of Magellanic Tapaculo were observed and captured in several localities over a period of seven years (from 2002 to 2009) and in alternating summer seasons in different localities in central and southern Chile (Figure 1): Farellones 33° 20' S; 70° 19' W; Lo Valdés (33° 52' S; 69° 58' W); Curacautín (38° 21' S; 71° 54' W); Chiloé (42° 04' S; 74° 00' W); Lagos de Todos los Santos (41° 05' S; 72° 06' W), Puerto Tranquilo (46° 08' S; 72° 19' W) and Puerto Williams, Cape de Horn (54° 56' S; 67° 36' W). In Puerto Williams and Cape horn the dominant vegetation that make up the different ecosystems covering large extensions of areas bordering tall grass vegetation and subantarctic forests of ñirre (*Nothofagus antarctica*) with scrub (Pisano, 1977) (Picture 3). Fifteen specimens of juvenile of Magellanic Tapaculo were caught in different localities of Chile: (n = 6) in the Navarino Island (Puerto Williams, Cape Horn), in Farellones (n = 2); Lo Valdés (n = 1); Curacautín (n = 1); Chiloé (n =

3); Lagos de Todos Los Santos (n= 1) and Puerto Tranquilo (n= 1) (Table1). The plumage coloring patterns were recorded using reference collections of feathers from different parts of the body collected by the author previously captured specimens in different sites. A comparison was made of the phenotype coloration of the plumage of the juvenile Magellanic Tapaculo specimens from Isla Navarino (Picture 1) with other juvenile specimens observed in other localities (Picture 2, typical phenotype of Magellanic in juvenal state) (Table 1) and compared with analysis of by means of a conglomerate analysis (standardized metric distance over 100) with the program Bootstrap SYSTAT. Among the juvenile individuals of Navarino island and the individuals of the other localities a distance analysis of 0.95 of phenotypic discordance in the color of the plumage was detected (Figure 2).

We concluded in this study that the phenotype of the coloration of the plumage in various regions of the body differed significantly between specimens of juvenile of Isla Navarino (Picture 1) and the others typical juvenile specimens of Magellanic Tapaculo observed in other places in Chile (Picture 2). Probably because of having a poor similarity in plumage coloration between specimens of Isla Navarino and juvenile specimens in other places of Chile (Figure 2), the specimens of Magellanic Tapaculo of Isla Navarino (Picture 1) should be considered a new species of the genus *Scytalopus*, we postulate and propose a new taxonomic name as: *Scytalopus antarcticum* [Navarino Tapaculo, (English), Churrín de Navarino (Spanish), Tapacú por Navarino (Português), Copriculo di Navarino (Italian), Navarintapacul (Germany) o Mérulaxe du Navarino (French)] (Correa *et al.* 2012).

In addition the status of Magellanic Tapaculo is very endangered in Navarino Island (Correa, 2021; Correa, 2022), the observation of this specie of genus *Scytalopus* of Navarino Island was realized during 2002. Up to 2018 and at least 16 years ago, has not returned to see any species of the Magellanic Tapaculo in the Park Omora in Puerto Williams. We also invite other researchers to do the respective DNA analysis to incorporate this new specie to the molecular phylogenetic tree of the genus *Scytalopus* and confirm this important discovery.

AUTHORIZATIONS/ ACKNOWLEDGMENTS

The author is responsible for the entire content of the work. The author thanks three anonymous reviewers for correcting this work. To R. Rozzi and F. Massardo by the logistic support in the Biological Station of Omora Park in Puerto Williams for several seasons. To M. Garbarino for the translation from Portuguese. To D. Asperó for English correction and Donata Rossi for the translation from Italian and help me in the field work in: Farellones, Lo Valdés, Chiloé Island, Curacautín and Lago de Todos Los Santos.

REFERENCIAS

ARAYA, B. & CHESTER, S. 1993. **The Birds of Chile**. Field Guide. Latour, Santiago. Chile.

- BORNSCHEIN, M. R., REINERT, B. L & TEIXEIRA, D. M. 1995. **Un novo *Formicariidae* do Sul do Brasil (*Aves Passeriformes*)**. Instituto Iguacu de Pesquisa e Preservação Ambiental, Rio de Janeiro. Brasil.
- BULLOCK, D. S. 1935. **Las aves de la Isla de la Mocha**. Revista Chilena de Historia Natural, 39: 232-253. Chile,
- CANEVARI, M., CANEVARI, P., CARRIZO, G. R., HARRIS, G., MATA, J. R. & STRANECK, R. J. 1991. **Nueva Guía de las Aves Argentinas**. Vol. 1-2. Fundación Acindar. Buenos Aires. Argentina.
- CHEBEZ, J. C., REY, N. R., BARBASKAZ, M. & DI GIACOMO, A. G. 1999. **Las Aves de los Parques Nacionales de la Argentina**. Literature of Latinoamérica, Buenos Aires. Argentina.
- COFRÉ, H. L. 1999. **Patrones de rarezas del bosque templado de Chile: implicancias para su conservación**. Boletín Chileno de Ornitología, Vol. 6: 8-16.
- CORY, C. B. & HELLMAYR, C. E. 1924. **Catalogue of Birds of The Americas**. Publications of the Field Museum of Natural History (Zoological series), Vol. 13(3): 369 p.
- COUVE, E. & VIDAL-OJEDA, C. 1999. **Where to watch birds in Torres del Paine National Park, Chile**. An identification Guide. Punta Arenas, Chile.
- CLARK, R. 1986. **Aves de Tierra del Fuego y Cabo de Hornos**. Guía de Campo. Buenos aires. Argentina.
- CORREA, A., ARMESTO, J.J., SCHLATTER, R., ROZZI, R. & TORRES-MURA, J.C. 1990. **La dieta del Chucao (*Scelorchilus rubecula*), un passeriforme terrícola endémico del bosque templado húmedo de Sudamérica austral**. Revista Chilena de Historia Natural, 63: 197-202.
- CORREA, A. 2009. **Biological similarities between Chilean Tapaculos**. VDM Verlag Muller Aktiengesellschaft & Co. Kg. Germany.
- CORREA, A. & FIGUEROA, J. A. 2001. **Observaciones sobre la reproducción de tres rinocriptidos del bosque templado de Chiloé, Chile**. Boletín Chileno de Ornitología, Vol. 8: 18-21.
- CORREA, A. & FIGUEROA, J. A. 2003. **Observations of aggressiveness and territoriality among species of Rhinocryptidae in a rainforest fragment in southern Chile**. Neotropical Ornithology, 14: 121-125.
- CORREA, A. & ROZZI, R. 2003. ***Scytalopus magellanicus*: un Rinocriptido generalista en el sur del mundo**. (ed. VII Congreso Chileno de Ornitología Neotropical y VII Neotropical ornithologist Congress). Libro de programa y resúmenes. Puyehue, Chile.
- CORREA, A., ROSSI, D. & ASPERÓ, D. 2012. **Phenotype differences in the juvenile plumage of *Scytalopus magellanicus* (Gmelin) from Isla Navarino, Chile**. 7th International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics, Cappadocia, Turkey. Organized for Informatics Institute (HIBIT 2012) and by Informatics Institute, Middle East Technical University, Ankara, Turkey. April 19-22. P. 42. Abstract Booklet.

CORREA, A. 2012-2013. **Divergència en el plomatge juvenil del “Churrín” (*Scytalopus magellanicus*, Gmelin) d’isla Navarino, Xile**. Butlletí de la Institució Catalana D’Història Natural. Barcelona. España. Vol 77: 165-168.

CORREA, A. 2021. **Observações do Churrín Magalânica (*Scytalopus magellanicus*, Fam. Rhinocryptidae) no extremo sul do mundo, Cabo de Hornos, Chile**. Zoologia e Meio Ambiente. Copyright ©Atena Editora. ISBN 978-65-5706-755-0. DOI 10.22533/at.ed.550210902. Ponta Grossa, Paraná, Brasil. Capítulo 5: 56-65.

CORREA, A. 2022. **Deriva natural de las especies del genero *Scytalopus* Rhinocryptidae: Aves, Passeriformes) en funcion de su Umwelt**. Produção Científica en Ciências Biológicas. Copyright ©Atena Editora. ISBN 978-65-258-0021-9. DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.219223003>. Ponta Grossa, Paraná, Brasil. Capítulo 17:177-187.

DE LA PEÑA, M. R. 1989. **Guía de las Aves Argentinas**. Vol. 6. Literature of Latinoamérica, Buenos aires. Argentina

DE SANTO, T. L., WILLSON, M. F, SIEVING, K. E. & ARMESTO, J.J. 2002. **Nesting biology of Tapaculos (Rhinocryptidae) in fragmented in south-temperate rainforests of Chile**. The Condor, 104 (3): 482-495.

FIGUEROA, R. A., BRAVO, C., CORALES, E.; LOPÉZ, R. & ALVARADO, S. 2000. **Avifauna del Santuario de la Naturaleza los Huemules del Niblinto, región del Bío-Bío, Chile**. Boletín Chileno de Ornitología, 7: 2-12.

FJELDSÅ, J. & KRABBE, N. 1990. **Birds of the High Andes**. Apollo Books & Zoological Museum, Svendborg. Dinamarca.

FRAGA, R. & NAROKZY, S. 1985. **Nidificación de las aves argentinas (*Formicariidae* a *Cinclidae*)**. Asociación Ornitológica del Plata. Buenos Aires.

HELLMAYR, C. E. 1932. **The Birds of Chile**. Publications of the Field Museum (Zoological series). 308, pt. 19. 472 p.

JOHNSON, A. W. 1967. **The Birds of Chile and Adjacent Regions of Argentina, Bolivia and Perú**. Vol. 2. Platt. Establecimientos Gráficos, Buenos Aires. Argentina.

KRABBE, N. & SCHULENBERG, T. S. 1997. **Species limits and natural history of *Scytalopus Tapaculos* (Rhinocryptidae), with descriptions of the Ecuadorian taxa, including three new species**. Studies in Neotropical Ornithology Honoring Ted Parker. Ornithological Monographs. Vol. 48: 46-88.

KRABBE, N. & SCHULENBERG, T. S. 2003. **Broadbills to Tapaculos**. In: DEL HOYO, J., ELLIOT, A. & CHRISTIE, D. **Handbook of the Birds of the World**. Vol.8. Lynx Edicions. Barcelona. Spain. p. 748-787.

NAROKZY, S. & YZURIETA, D. 1993. **Birds of Argentina and Uruguay**. A Field Guide. Vázquez Massini Editores. Buenos Aires. Argentina.

PEFAUR, J.E. & HUMPHREY, P.S. 1995. **Prediction of species richness of birds on Austral South American Islands**. Revista de Ecología Latinoamericana. Vol. 2(1-3): 23-35.

PISANO, E. 1977. **Fitogeografía de Fuego-Patagonia Chilena. Comunidades vegetales entre las latitudes 52 y 56° S**. Anales del Instituto de la Patagonia, 8: 121-250.

RIDGELEY, R. S. & TUDOR, G. 1994. **The Birds of South America. The Suboscine Passerines**. University of Texas, Austin, USA.

RIVEROS, G. & VILLEGAS, N. 1994. **Análisis taxonómico de las subespecies de *Scytalopus magellanicus* (Fam. Rhinocryptidae aves) a través de sus cantos**. Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso. 22:91-101.

ROZZI, R. & COLABORADORES. 2003. **Guía Multi-étnica de Aves de los bosques templados de Sudamérica Austral**. Ed. Fantástico Sur. 141 pp.

SHORT, L. 1969. **Observations on three sympatric species of Tapaculos (Rhinocryptidae) in Argentina**. IBIS. 111: 239-240.

STOTZ, D.F, FITZPATRICK, J.W, PARKER, T.A & MOSKOVITZ, D.K. 1996. **Neotropical Birds, Ecology and Conservation**. University of Chicago. Chicago and London.

STRANECK, R. & CARRIZO, G. 1990. **Canto de las Aves Patagónicas. Mar- Mesetas-Bosques**. Literatura de Latín América. Buenos Aires.

VIGIL, C. 1977. **Aves Argentinas y Sudamericanas**. 2a Edición. Ed. Atlántida. Buenos Aires. Argentina.

VUILLEIMEUR, F. 1985. **Forest birds of Patagonia: ecological, geography, speciation, endemism, and faunal history**. In Neotropical Ornithology. Ornithological Mono-graphs, 36: 255-304



Picture 1: photographic record of juvenile specimen of *S. magellanicus* (New specie of *Scytalopus* genus: *Scytalopus antarcticum*) in Omora Park, Puerto Williams, Navarino Island, Chile (photography by the author 2002).

Picture 2: photographic record of typical juvenile specimen of *S. magellanicus* in other places of Chile and Argentina.



Photo by Ramon Luis Alvarado, Ushuaia, Argentina.



Photo by Francisco Vera.Coyhaique, Chile



Photo by Ricardo Anibal Rivero. San Martin de Los Andes, Argentina.



Photo by Rodrigo Calderón Castillo. Parque Alerce Andino, Región de Los Lagos, Chile.

n= 15 specimen		n = 20 phenotype characters					
Traits		Locations					
Plumage/ <i>S. magellanicus</i> Juvenile	IN (A)	FA (B)	LV (B)	CU (B)	CH (B)	LS (B)	PT (B)
Anterior crown	1	5	5	5	5	5	5
Shoulders	2	2	2	2	2	2	2
Nape	1	5	5	5	5	5	5
Back	2	5	5	5	5	5	5
Tail	2	8	8	8	8	8	8
Chest	3	2	2	2	2	2	2
Throat	1	2	2	2	2	2	2
Beack	4	6	6	6	6	6	6
Tarsus	4	7	7	7	7	7	7
Metatarsus	4	7	7	7	7	7	7
Finger falanges	4	7	7	7	7	7	7
Wings	2	2	2	2	2	2	2
Belly	1	2	2	2	2	2	2
Posterior crown	1	2	2	2	2	2	2
Head	1	2	2	2	2	2	2
Subcaudal feathers	2	2	2	2	2	2	2
Primary feather	2	2	2	2	2	2	2
Flank feather	2	2	2	2	2	2	2
Interior feather	2	2	2	2	2	2	2
Body feather	5	9	9	9	9	9	9
1 = light gray		IN= Navarino Island					
2= grayish brown		FA= Farellones					
3= mottled grayish brown		LV= Lo Valdes					
4= yellowish orange		CU = Curacautin					
5= cinnamon coffee		CH= Chiloé					
6= dark gray		PT= Puerto Tranquilo					
7= greyish yellow		B = described by other authors.					
8= dark brown bars		A= described by the author.					
9= barred with dark brown							

Table 1: Plumage phenotype of juvenile specimens of *S. magellanicus* studied in the Navarino island (n=6) in comparison with bibliographic data and data collections by the author (n =9) of samples in other places in Chile.

Source = Darwin, (1845). Araya & Chester (1993), Bornschein *et al.*, (1998), Bullock (1935), Canevari *et al.* 1991, Chebez *et al.* (1999), Cofré (1999), Correa & Figueroa (2002, 2003), Correa & Rozzi (2003), Correa *et al.* (2012), Cory & Hellmayr (1924), Couve *et al.* (1999), De Santo *et al.* (2002), Gould, 1859; Reynolds (1932), Fjeldså & Krabbe (1990), Fraga & Narozky (1985), Goodall *et al.* (1946); Johnson, (1965), Short (1969), Philips *et al.* (1970), Meyer de Schauensee (1982), Hellmayr (1932), Johnson (1967), Araya & Millie (1985), Narozky *et al.* (1987); Correa *et al.*(1990), Sabag (1993), Ridgley & Tudor (1994), Arctander & Fjeldså (1994), Rozzi *et al.* (1996 (a)), Rozzi *et al.* (1996 (b)), Krabbe & Schulenberg (1997), Stotz *et al.* (1996), Straneck & Carrizo (1990), Vigil (1977), Vuillumier (1985), Woods *et al.* (1997), Figueroa *et al.* (2000), De la Peña *et al.* (1998), De Santo *et al.* (2002), Venegas & Siefeld (1998). Correa *et al.* (2012), Correa, unpublished field notes.

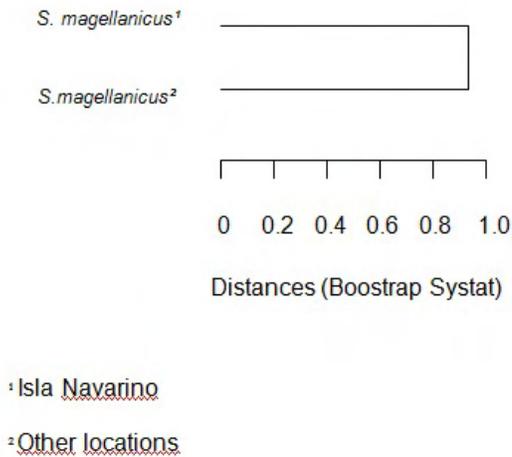


Figure 2: Divergence in the juvenile plumage of the churrín (*Scytalopus magellanicus*¹) of Navarino island and species of the other location in Chile. The phenotype of plumage is very different as other specimens of Magellanic Tapacú in other places in Chile (*Scytalopus magellanicus*²).



Picture 3: photographic record of the predominant tree species (*N. antarctica*) and habitat of new specie of *S. magellanicus* in Omora Park, Puerto Williams, Navarino Island, Cape Horn, Chile.

A NEW SPECIES OF SPINUS (AVES: PASSERIFORMES). THE ORIGIN OF NEW SPECIES IN CAPTIVITY

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 16/05/2022

Alejandro Correa Rueda

PhD Evolutionary Biologist

Retired of Museu de Zoologia de Barcelona
Barcelona, Spain

<http://orcid.org/0000-0003-2067-4611>

ABSTRACT: Here we discuss the viability of two species belonging two different genera of the family Fringillidae, namely: *Serinus canaria domestica* and *Spinus barbatus*. Phenotypic and behavioural traits indicate strong similarities between these groups. This couple of passerines of different genera P_o, have successfully reared three hybrid chicks under artificial conditions which in turn successfully reproduced with hybrid members of the same generation. These observations clearly show that copulation and reproduction between closely related species of different genera can give rise to other species. Evidence of the possibility of hybridization between different species found on remote continents could demonstrate that genera of the same family can produce new species in intersection of Umwelt with human forcing ex situ and the understanding of biological signals from these birds have been fundamental to the success of the origin of this new species. In this study, the origin of a new species called *Spinus canarina* of the Spinus genus is presented.

KEYWORDS: Genus, Hybrids, Signals,

Backcrossing, Lineage, New specie, Merkwelt, Wirkwelt, Biosemiotic.

UMA NOVA ESPÉCIE DE SPINUS (AVES: PASSERIFORMES). A ORIGEM DE UMA NOVA ESPÉCIE EM CATIVEIRO

RESUMO: Aqui foi discutida a viabilidade das duas espécies pertencentes a dois gêneros diferentes da família Fringillidae, ou seja, o Fringillidae: *Serinus canaria domestica* e *Spinus barbatus*. Os traços fenotípicos e comportamentais indicam fortes semelhanças entre estes dois grupos. Essa dupla de passeriformes de diferentes gêneros P_o criou com sucesso três pintinhos híbridos em condições artificiais que, por sua vez, reproduziram-se com sucesso com membros híbridos da mesma geração. Estas observações mostram claramente que a cópula e a reprodução entre espécies estreitamente relacionadas de diferentes gêneros pode dar origem a outras espécies. Evidências da possibilidade de hibridação entre diferentes espécies encontradas em continentes remotos, poderiam demonstrar que gêneros da mesma família podem produzir novas espécies em uma intersecção Umwelt com a participação humana ex situ. A compreensão dos sinais biológicos destas aves têm sido fundamentais para o sucesso da origem desta nova espécie. Nesse estudo, foi apresentada a origem de uma nova espécie chamada *Spinus canarina* do gênero Spinus.

PALAVRAS-CHAVE: Gênero, Híbridos, Sinais, Retrocruzamento, Linhagem, Novas espécies, Merkwelt, Wirkwelt, Biossemiótica.

UNA NOVA ESPÈCIE DE SPINUS (AVES: PASSERIFORMES). L'ORIGEN D'UNA NOVA ESPÈCIE A CAUTIVERIO

RESUM: Aquí es discuteix la viabilitat de dues espècies pertanyents a dos gèneres diferents de la família Fringillidae, concretament: *Serinus canària domestica* i *Spinus barbatus*. Trets fenotípics i conductuals indiquen grans similituds entre aquests grups. Aquesta parella de passeriformes de diferents gèneres P_o, han criat amb èxit tres pollets híbrids en condicions artificials que al seu torn es van reproduir reeixidament amb membres híbrids de la mateixa generació. Aquestes observacions mostren clarament que la copulació i la reproducció entre espècies estretament relacionades de diferents gèneres poden donar origen a altres espècies. Prova de la possibilitat d'hibridació entre diferents espècies, que es troben a continents remots i podria demostrar que els gèneres de la mateixa família poden produir noves espècies en una intersecció d'umwelt amb forçament humà ex situ i l'entesa dels senyals biològics d'aquestes aus han estat fonamentals per a lèxit de l'origen d'aquesta nova espècie. En aquest estudi: l'origen d'aquesta nova espècie denominada *Spinus canarina* del genero Spinus és presentada.

PARAULES CLAU: Gènere, Híbrids, Senyals, Retrocruce, Llinatge, Nova espècie, Merkwelt, Wirkwelt, Biosemiòtica.

UNA NUEVA ESPECIE DE SPINUS (AVES: PASSERIFORMES). EL ORIGEN DE UNA NUEVA ESPECIE EN CAUTIVERIO

RESUMEN: Aquí se discute la viabilidad de dos especies pertenecientes a dos géneros diferentes de la familia Fringillidae, a saber: *Serinus canaria domestica* y *Spinus barbatus*. Rasgos fenotípicos y conductuales indican grandes similitudes entre estos grupos. Esta pareja de passeriformes de diferentes géneros P_o, han criado con éxito tres polluelos híbridos en condiciones artificiales que a su vez se reprodujeron exitosamente con miembros híbridos de la misma generación. Estas observaciones muestran claramente que la copulación y la reproducción entre especies estrechamente relacionadas de diferentes géneros pueden dar origen a otras especies. Prueba de la posibilidad de hibridación entre diferentes especies que se encuentran en continentes remotos podría demostrar que los géneros de la misma familia pueden producir nuevas especies en una intersección de umwelt con forzamiento humano ex situ y el entendimiento de las señales biológicas de estas aves han sido fundamentales para el éxito del origen de esta nueva especie. En este estudio: el origen de una nueva especie denominada *Spinus canarina* del genero Spinus es presentada.

PALABRAS CLAVE: Genero, Híbridos, Señales, Retrocruce, Linaje, Nueva especie, Merkwelt, Wirkwelt, Biosemiótica.

EINE NEUE SPEZIE VON SPINUS (VÖGEL: SPERLINGSVÖGEL). DIE ENTSTEHUNG EINER NEUEN SPEZIE IN GEFANGENSCHAFT

RÉSUMÉ: Nous discutons ici de la viabilité de deux espèces appartenant à deux genres différents de la famille des Fringillidae, à savoir: *Serinus canaria domestica* et *Spinus barbatus*. Les traits phénotypiques et comportementaux indiquent de fortes similitudes entre ces groupes. Ce couple de passereaux de genres différents P_o a réussi à élever dans des conditions artificielles trois poussins hybrides qui se sont à leur tour reproduits avec succès avec

des membres hybrides de la même génération. Ces observations montrent clairement que la copulation et la reproduction entre des espèces étroitement apparentées de genres différents peuvent donner naissance à d'autres espèces. La preuve de la possibilité d'hybridation entre différentes espèces trouvées sur des continents éloignés pourrait démontrer que des genres de la même famille peuvent produire de nouvelles espèces à l'intersection de l'Umwelt et du forçage humain ex situ et la compréhension des signaux biologiques de ces oiseaux ont été fondamentaux pour le succès de l'origine de cette nouvelle espèce. Dans cette étude, nous montrons l'origine d'une nouvelle espèce appelée ***Spinus canarina*** du genre *Spinus*.

MOTS CLÉS: Genre, Hybrides, Signaux, Rétrocroisement, Lignée, Nouvelles espèces, Merkwelt, Wirkwelt, Biosémiotique.

UNE NOUVELLE ESPÈCE DE SPINUS (OISEAUX: PASSEREAUX). L'ORIGINE D'UNE NOUVELLE ESPÈCE EN CAPTIVITÉ

ZUSAMMENFASSUNG: Hier diskutieren wir die Lebensfähigkeit von zwei Spezies, die zu zwei verschiedenen Gattungen der Familie Fringillidae gehören, nämlich: ***Serinus canaria domestica*** und ***Spinus barbatus***. Phänotypische und verhaltensbezogene Merkmale weisen auf starke Ähnlichkeiten zwischen diesen Gruppen hin. Dieses Paar von Sperlingsvögeln verschiedener Gattungen P_0 hat unter künstlichen Bedingungen erfolgreich drei Hybridküken aufgezogen, die sich wiederum erfolgreich mit Hybridmitgliedern derselben Generation fortpflanzten. Diese Beobachtungen zeigen deutlich, dass Kopulation und Fortpflanzung zwischen eng verwandten Spezies verschiedener Gattungen zur Entstehung weiterer Spezies führen können. Der Nachweis der Möglichkeit einer Hybridisierung zwischen verschiedenen Spezies, die auf weit entfernten Kontinenten vorkommen, könnte zeigen, dass Gattungen derselben Familie neue Spezies hervorbringen können, und zwar an einem Schnittpunkt von Umwelt und menschlichem Zwang ex situ. In dieser Studie wird der Ursprung einer neuen Spezies namens ***Spinus canarina*** aus der Gattung *Spinus* vorgestellt.

SCHLÜSSELWÖRTER: Gattung, Hybriden, Signale, Rückkreuzung, Abstammung, neue Spezies, Merkwelt, Wirkwelt, Biosemiotik.

UNA NUOVA SPECIE DI SPINUS (UCCELLI: PASSERIFORMI). L'ORIGINE DI UNA NUOVA SPECIE IN CATTIVITÀ

SOMMARIO: In questa sede discutiamo la vitalità di due specie appartenenti a due diversi generi della famiglia Fringillidae, ossia: ***Serinus canaria domestica*** e ***Spinus barbatus***. I tratti fenotipici e comportamentali indicano forti somiglianze tra questi gruppi. Questa coppia di passeriformi di generi diversi P_0 ha allevato con successo tre pulcini ibridi in condizioni artificiali, che a loro volta si sono riprodotti con successo con membri ibridi della stessa generazione. Queste osservazioni dimostrano chiaramente che la copulazione e la riproduzione tra specie strettamente imparentate di generi diversi può dare origine ad altre specie. L'evidenza della possibilità di ibridazione tra specie diverse trovate in continenti remoti potrebbe dimostrare che generi della stessa famiglia possono produrre nuove specie in un'intersezione umwelt con la forzatura umana ex situ e la comprensione dei segnali biologici di questi uccelli sono stati fondamentali per il successo dell'origine di questa nuova specie. In questo studio vengono presentate le origini di una nuova specie ***Spinus canarina*** del genere *Spinus*.

PAROLE CHIAVI: Genere, Ibridi, Segnali, Backcrossing, Lignaggio, Nuove specie, Merkwelt, Wirkwelt, Biosemiotica.

Here we assess the communicational behaviour, sexual signaling and breeding success of inter-species hybrids between different genus of passeriformes kept in captivity (Stresemann, 1923; Duncker, 1927), *Spinus barbatus* (male) X *Serinus canaria domestica* (female) (P.). Our conclusions will be based on work done in the summer period, between September 2015 and January 2016, in Santiago, Chile (the extensive study was previously done by the same authors, see in more detail at: Diaz *et al.* 2018 and Correa, 2021). As part of a sequence of iterated back-crossing breeding (Duncker, 1927; Correa, 2021) of Mendelian law (Mendel, 1860). We bred a male Canary *S.c. domestica* with two females' hybrids [F1 of subspecies of *S.c. domestica* with savage Black-chinned-Siskin *S. barbatus*, both of which belong to different genus of the Fringillidae family]. The home (heim) or the funktionskreis (Uexküll, 1921) and the Umwelten can merge giving rise to total Umwelten (Lewis, 2020) where the back-cross species breeding and corresponding observations of the merkwelt and wirkwelt of the birds, were carried out in a 4.45 m x 1.60 m room (glassed balcony, over the street level) (Diaz *et al.* 2018; Correa, 2021). We took care to keep the biotic and abiotic factors under control; specifically, incoming natural light, ambient vegetation and temperature. On the other hand, we fed the individuals appropriately and provided them with plenty of clean water to drink and get clean. In sum, the individuals were kept in a healthy umwelt ex-situ where the species will be interacted with each other by means of merkraum and wirkraum (Uexküll, 1921) (Fig. 2 and Fig. 3) (Tønnessen, 2011; Correa, 2015; Correa, 2017; Lewis, 2020; Correa, 2021). These female hybrids, the existence of which is, incidentally, unviable according to some literature, have successfully raised three independent offspring hybrid individuals (n=12) in artificial conditions (see photos of the new hybrid generations in the appendix below) and one more generation of hybrids in other natural umwelt in the year 2019 and umgebung (Uexküll, 1921) (unpublished field data). The results show that sister female's hybrids are indeed viable and can in fact produce dynasties of hybrids (Correa, 2021; Diaz *et al.*, 2018) (Fig 1). On the other hand, the phenotypic traits of the plumage gave the ratio 1:1 (Correa 2021). The offspring were bred naturally by their parents and had an illness-free upbringing. None of the offspring presented malformations either. None of them died in captivity; the breeding success rate of the experiment is therefore 100% (Diaz *et al.* 2018; Correa, 2021). Preliminary results and observations show that the new offspring of hybrids had better reflexes, mobility and very fast manoeuvres than the subspecies *S.c. domestica* (Correa, 2021). They also presented better adaptability to the environment and more resilience to low temperatures, as well as, greater ability to quickly corporal movement on flight (read the research of Correa, 2021). We conjecture that these behavioural traits were transmitted down from the hybrids mothers P1, given that there is a closer similarity between the aforementioned traits to traits of these birds rather than of the

savage species ***S. barbatus*** (Correa, 2021). The hybrids' vocalization were quite similar to those of their parents, even the hybrids males' birdcall was similar to ***S.c. domestica***, which has more variability than the savage species ***S. barbatus*** repertoire (Correa, 2021). In addition, the breeding behaviour, the effectual signal (Wirkmal) and perceptual signal (Merkmal) (Uexküll, 1921) of sexual identity and which make up its new umwelt (Uexküll, 1921; Birkhead, 2003) and a new functional circle or funktionskreis, works successfully in their reproductive behaviour, the courtship's vocal repertoire of ***S.c.domestica***, and the fertile F1 females get a positive perceptual image of the ***S.c.domestica*** male (merkbild), as the male produces an effective image of attraction (werkbild) (Uexküll, 1921) for the two fertile F1 hybrid females. The submission signs of merkmal and wirkmal (Uexküll, 1921) triggered the copulation positioning of the hybrids females F1 have been faithfully passed down. By means of his vocalizations and his persecution at the females, the male ***S.c.domestica*** successfully managed to attract the hybrid females and thereby to force and triggered them into estrus and copulation. The phenotypes in a large percentage have been acquired in the hybrids by inheritance from the female hybrid F1 [***S. barbatus*** X ***S. c. domestica*** (P_o)] with a high incidence of phenotypic traits of ***S. barbatus*** (which seems to be dominant for different traits, Correa, 2021, Diaz *et al.* 2018). Communication, body language, the congruence-conservation and the world of perceptual signal (merkwelt) and effectual signal (wirkwelt) of the functional circle (funktionskreis) (Uexküll, 1921; Uexküll, 1928; Maturana & Varela, 2009; Muñoz, 2015; Correa, 2021), and the intersection of umwelten ex-situ in captivity (Fig. 2 and 3) (Uexküll & Kriszat, 1934; Tønnessen, 2011; Ferreira *et al.* 2013; Correa, 2017; Lewis, 2020; Correa, 2021) have been crucial factors in achieving the breeding success in captivity between individuals belonging to genus naturally living in very different non-communicated umwelt in nature. We propose that, in this case, we are dealing with a new species, namely: ***Spinus canarina***, common english name: **Little-Green-Siskin**. In Spanish common name: **Jilguero verdecillo** is the product of a speciation by hybridation in captivity ex situ (Correa, 2016) (intersection of umwelt with help human forcing) (Fig. 2 and 3). We hope which this modest research and the origin of this new species will encourage other researchers to learn more about this new species originated in captivity and take into account biosemiotics and shared meaning (Lewis, 2020) in the animals and in general of the organisms signals.

AUTHORIZATIONS/ ACKNOWLEDGMENTS

The author is responsible for the entire content of the work. The author thanks four anonymous reviewers.

REFERENCIAS

BIRKHEAD T. 2003. **The red Canary**. Weidenfeld & Nicolson, London. UK.

- CORREA, 2015. **Una Nueva especie de Fringillidae (Aves: passeriformes)**. Programa y Libro de Resúmenes. México XVI Congreso para el estudio y Conservación de las aves de México. Las aves del Cielo XIV CECAM. Reserva de la Biosfera El Cielo Gómez Farías, Tamaulipas a México. P. 114.
- CORREA, A. 2016. **Breeding success between species belonging to genus *Serinus* and *Carduelis* (Aves: Passeriformes): The origin of a new species in captivity**. In: Jana Švorcová & Andres Kurismaa (Ed.), XVI Annual Gatherings in Biosemiotics (4-8 July 2016, Prague, Czech Republic. Faculty of Sciences, Charles University.
- CORREA, A. 2017. **Reproductive success among different genus of Fringillidae (Avian)**. OmniScriptum GmbH & Co. KG, Heinrich-Böcking-Str. 6-8, 66121, Saarbrücken, Germany. Edited by Lambert Academic Publishing. ISBN: 978-3-330-31962-2.
- CORREA. 2021. **Reproductive success between two different genera of Fringillidae: *Spinus barbatus* vs *Serinus canaria domestica* (Passeriformes)**. Zoologia e Meio Ambiente. Capítulo 7: 69-81. DOI 10.22533/at.ed.550210902. ISBN 978-65-5706-755-0. Copyright © Atena Editora. Ponta Grossa, Brasil.
- DIAZ, L., V.A. CORREA & J. NUÑEZ. 2018. **Molecular evidences of Hybridization between *Serinus canaria domestica* (Linnaeus, 1758) and *Spinus barbatus* (Molina, 1782) (Aves: Fringillidae)**. Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. 112: 29-34.
- DUNCKER HA. 1927. **Bastarde von Kapuzeinzeisig und weissen Kanarievögel**. Vogel ferner länder. 67-74.
- FERREIRA, M.I.A & M.G. CALDAS. 2013. **The concept of Umwelt Overlap and it application to cooperative action in multi-agent systems**. Biosemiotics. 6, 497-514.
- LEWIS, A. 2020. **Total Umwelten create shared meaning the emergent properties of animal groups as a result of social signaling**. Biosemiotics. 13. <https://doi.org/10.1007/s12304-020-09395-8>.
- MATURANA. H & F. VARELA. 2009. **El árbol del conocimiento: las bases biológicas del entendimiento humano**. Santiago de Chile : Universitaria, 2009. 172 p. 19ª ed. URI: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/119932>. ISBN: 9789561119789
- MENDEL G. 1865. **Experiments in Plants Hybridization**. Naturforschenden Vereins, Brno, Czech Republic. 21-34.
- MUÑOZ PEREZ, E. 2015. **El Aporte de Jakob von Uexküll a Los conceptos fundamentales de la metafísica**. Mundo, finitud, soledad (1929-1930) de Martin Heidegger. Diánoia vol.60, N° 75. Ciudad de México. Versión impresa ISSN 0185-2450
- STRESEMANN, E. 1923. **Die Vogelbilder des Nürnberger Lazarus Röting**. in: Verhandlungen der Ornithologischen Gesellschaft Bayerns. Deutschland. Band 15, Heft 3, S. 308-315
- TØNNESEN M. 2011. **Umwelt transition and Uexküllian phenomenology**. An ecosemiotic analysis of Nowegian wolf management. Dissertationes Semioticae Universitates Tartuensis, Estonia. Tartu University Press. P. 45.
- UEXKÜLL, J. V. 1921. **Umwelt und innenleben der tiere**. (2 Aufl.) Ed Berlin. Springer.). 224 pp.

UEXKÜLL, J. 1928. **Theoretische Biologie**. Springer Verlag, Berlin.

UEXKÜLL, J. V. & KRISZAT, G. 1934. **Streifzüge durch die Umwelten von Tieren und Menschen. Ein Bilderbuch unsichtbarer Welten**. (Sammlung: Verständliche Wissenschaft, Bd. 21.) Berlin: J. Springer. 102 pp.

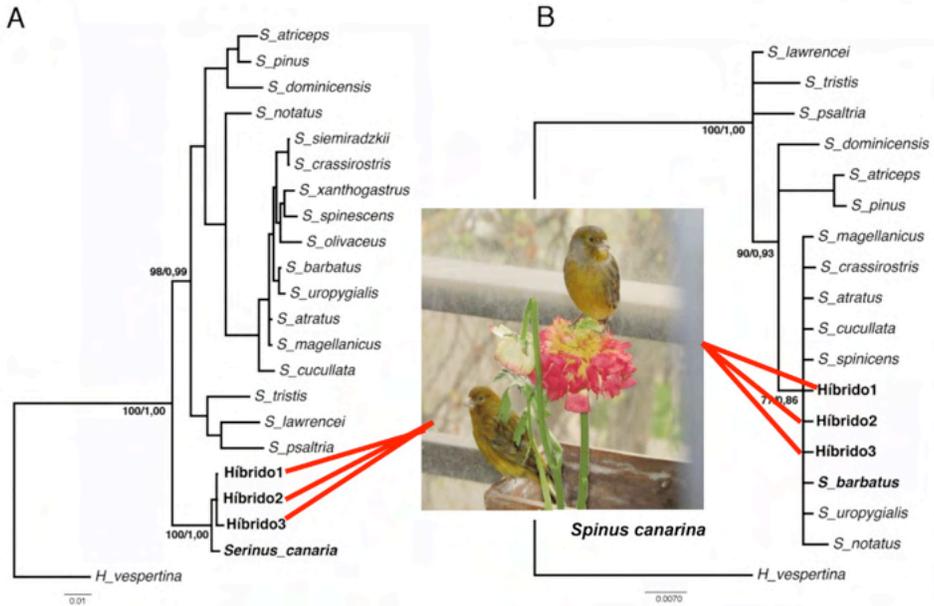


Figure 1: **Spinus canarina**, common name: Little-Green-Siskin or Jilguero Verdecillo (Hybrid 1,2,3 are new specie of *Spinus*). View source: Diaz, Correa & Nuñez, 2018.

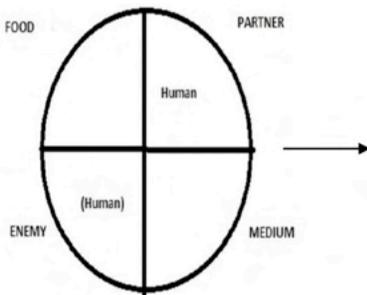


Fig.2

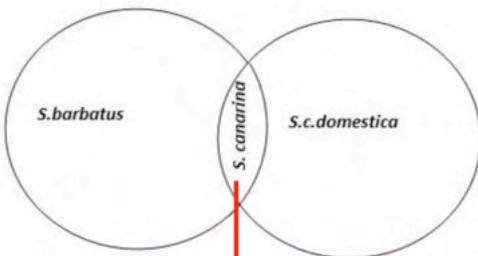


Fig. 3



Spinus canarina

Figure 2 and 3: Umwelt transition *Spinus* vs *Serinus* the origin of a new specie: **Spinus canarina** in captivity (Source: Tønnessen, 2011; Correa, 2017). Umwelt intersection and Umwelt overlapping make up an Total Umwelten “sheared meaning” (Ferreira *et al.*, 2013; Lewis, 2020) (in Fig. 2).

APPENDIX

Photos: of P1 with generation F1.



Male *S.c. domestica* yellow black bars on the back (P1 male) with 2 hybrid F2 and female hybrid P1 in the right.



Female one F1 hybrid fertile.



Female two F1 hybrid fertile.



Female F1 hybrid.



Female F1 hybrid.



Female F1 hybrid.



Female F1 hybrid.



Female F1 hybrid fertile.



Hybrid F1 and Male *S. barbatus* (P.).

Photos of generation F2



Two pics of hybrid male.



Two pics Hybrid male and female.



Hibryd male (song).



Hibryd male.



Two pics Hybrid male and female.

Photos of generation F3



Two pics of hybrids females and males.



New offspring F3 and three pics of hybrids males and females.



Hybrid female.



Hybrid male.



Hybrid male.



Hybrid male and female.



Hybrid female.



Hybrid male.



Hybrid male.



Hybrid male and female.



Two hybrids female and male.



Hybrid female.



Hybrid male.



Hybrid male.



Hybrid male.



Hybrid females.

CURRÍCULO DO ESTADO DE SÃO PAULO: RELAÇÃO DO TEMA SAÚDE COM O PERFIL DE MORBIMORTALIDADE DE ESCOLARES

Data de aceite: 01/06/2022

Data de submissão: 10/05/2022

Isadora Neiro Oliveira

Bacharel de Educação Física na Faculdade de Ciência e Tecnologia UNESP, Campus de Presidente Prudente/SP
<http://lattes.cnpq.br/9219186380512803>

Luiz Rogério Romero

Professor do Departamento Educação Física na Faculdade de Ciência e Tecnologia UNESP Campus de Presidente Prudente/SP
<http://lattes.cnpq.br/5234660343892450>

RESUMO: A pesquisa pretende estudar a Proposta Curricular do Estado de São Paulo e os indicadores de morbimortalidade de escolares. Objetivo: Comparar os temas de saúde abordados na Proposta Curricular do Estado de São Paulo e o perfil de morbimortalidade em idade escolar de diferentes municípios/regiões de saúde. Metodologia: Será utilizado o modelo de pesquisa tipo documental. Destaca-se a utilização de dados secundários a partir da identificação de prevalência de morbimortalidade dos municípios investigados. Outros dados secundários utilizados serão provenientes do Índice de Desenvolvimento Humano Municipal. Resultados: Como ponto de partida foi realizado levantamento de informações referente a saúde no Currículo Escolar para a disciplina Educação Física do Ensino Médio. Verificou-se que a abordagem saúde está contemplada

nos eixos temáticos Corpo, Saúde e Beleza; Lazer e Trabalho, Contemporaneidade e Ginástica, com enfoque na saúde individual. Foi realizado aproximação desses conteúdos com a prevalência de morbimortalidade de diferentes regiões e municípios do estado de São Paulo.

PALAVRAS-CHAVE: Educação física, saúde coletiva, currículo, morbimortalidade.

SÃO PAULO STATE CURRICULUM: RELATIONSHIP OF THE HEALTH THEME WITH THE MORBIMORTALITY PROFILE OF SCHOOLCHILDREN

ABSTRACT: The research intends to study the Curricular Proposal of the State of São Paulo and the indicators of morbimortality of schoolchildren. Objective: To compare the health topics addressed in the Curricular Proposal of the State of São Paulo and the morbimortality profile of school age in different municipalities / health regions. Methodology: The document type research model will be used. We highlight the use of secondary data from the identification of morbidity and mortality prevalence of the municipalities investigated. Other secondary data used will come from the Municipal Human Development Index. Results: As a starting point, information was collected regarding health in the School Curriculum for the Physical Education of High School. It was verified that the health approach is contemplated in the thematic axes Body, Health and Beauty; Leisure and Work, focusing on individual health. It was carried out an approximation of these contents with the prevalence of morbimortality of different regions and municipalities of the state of São Paulo.

KEYWORDS: Physical education, collective health, curriculum, morbidity and mortality.

1 | INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a definição de Saúde é “o completo estado de bem-estar físico, mental e social, e não simplesmente a ausência de enfermidade” (OMS apud SEGRE & FERRAZ, 1997). Tal conceito tem uma profunda relação com o desenvolvimento e expressa a associação entre qualidade de vida e saúde da população. A Saúde é um direito fundamental que deve ser assegurado sem distinção de religião, raça ou condição socioeconômica.

É nesse cenário que este estudo se instala e tem a finalidade de comparar os temas de saúde abordados na Proposta Curricular do Estado de São Paulo para a disciplina de Educação Física no Ensino Médio e o perfil de morbimortalidade em idade escolar de diferentes municípios/regiões de saúde.

Nos últimos anos, notou-se o aumento da morbimortalidade na população adolescente, considerada a faixa etária com menos risco de adoecimento e morte. Os adolescentes representam cerca de 20% da população do Brasil, o que equivale a 38 milhões de pessoas. É uma etapa da vida onde se adquire conhecimento sobre transformações biológicas, fisiológicas e emocionais que se associam ao seu papel social. Essas alterações acontecem durante a segunda década da vida do púbere, que apresenta maior vulnerabilidade da saúde, sobretudo com relação a comportamentos associados ao tabagismo, ingestão de álcool e drogas, relações sexuais sem proteção, dietas da moda e comportamento sedentário. Este panorama compõe o perfil de morbidade e mortalidade entre os jovens, sendo um fator de risco para o acometimento de doenças que podem se estender para a vida adulta.

O perfil de morbidade hospitalar e mortalidade dos adolescentes estão associados a agravantes denominados como “causas evitáveis”, que tem relação com acidentes de trânsito, violência e uso indiscriminado de substâncias psicoativas.

As causas externas afetam significativamente a vida dos jovens, alteram o seu desenvolvimento e podem deixar marcas físicas e emocionais, intervindo no convívio social e familiar. Segundo Ciampo e Ciampo, (2011) o fato tem relação com a rápida urbanização, migração interna, diferenças sociais, violência que acomete todas as faixas etárias, especialmente homens por ter uma maior exposição ao tabagismo, drogas, álcool, inserção no mercado informal e participação em atividades ilícitas. Estima-se ainda que para as próximas décadas que a mortalidade de jovens por causas externas tenha aumento em aproximadamente em 40%, principalmente por acidentes de trânsito e condições socioeconômicas.

As lesões são reconhecidas como a principal causa de morte entre jovens com idade entre 15 a 19 anos. No ano de 2004 no Brasil, as mortes causadas por lesões

representaram 69,5% e em 2005, jovens com idade entre 10 a 19 anos representaram 9,4% das internações ocasionadas por causas externas (CIAMPO e CIAMPO, 2011). A maior parte dos acidentes acometem o sexo masculino, e aconteceram em locais públicos (47,7%), na escola (31,1%) e em casa (21,1%).

De acordo com o Ministério da Saúde, estabeleceu-se a seguinte classificação estratégica:

“Acidentes domésticos (quedas, queimaduras, intoxicações, afogamentos e outras lesões) e acidentes extradomiciliares (acidentes de trânsito e de trabalho, afogamentos, intoxicações e outras lesões); e violência domésticas (maus-tratos físicos, abuso sexual e psicológico, negligência e abandono) e violência extradomiciliar (exploração do trabalho infanto-juvenil e exploração sexual, além de outras originadas na escola, na comunidade, nos conflitos com a polícia, especialmente caracterizados pelas agressões físicas e homicídios, bem como a violência auto infligidas, como a tentativa de suicídio).”

2 | FATORES PREJUDICIAIS À SAÚDE DO ADOLESCENTE

2.1 Doenças Respiratórias e o Tabagismo

As doenças respiratórias são responsáveis por um grande número de adoecimento e morte em adultos e crianças. De acordo com Natali (2005), é importante citar os efeitos do tabagismo como fator de risco. O uso do cigarro é a principal causa de morte evitável. As doenças relacionadas com o tabagismo custam bilhões de dólares a cada ano, atribuindo um pesado custo econômico para os países, em termos da assistência médica direta e com a perda de produtividade.

A Pesquisa Nacional em Saúde Escolar (PeNSE), de 2015 mostrou que 18,4% dos escolares do 9º ano do ensino fundamental já experimentou do cigarro. O indicador de experimentação de cigarro para os meninos (19,4%) foi maior comparado às meninas (17,4%). Em relação à dependência administrativa da escola, os alunos de escolas públicas (19,4%) referiram experimentar com mais intensidade do que estudantes de escolas privadas (12,6%).

A asma é uma doença inflamatória crônica cuja manifestação dos sintomas começa antes de cinco anos de idade, e vem preocupando pelo aumento da prevalência de sintomatologia e a persistência da mortalidade associadas à morbidade. A PeNSE 2015 relatou que o percentual de escolares que tiveram chiado no peito era de 22,4%. Estes sintomas apresentaram-se na forma de chiados no peito, e sua manifestação foi maior entre escolares do sexo feminino (25,4%) do que entre os do sexo masculino (19,2%). Não houve registro de diferenças nas ocorrências de sintomas de asma entre alunos das escolas públicas e privadas. O maior percentual de chiado no peito ocorreu nas Regiões Sudeste (24,1%) e Sul (23,6%). Os Estados de São Paulo (29,4%) e do Rio Grande do Sul (29,4%) apresentaram os maiores percentuais de meninas que relataram chiado no peito.

Mudanças climáticas e condições de vida desfavoráveis são fatores que contribuem para a ocorrência de doenças respiratórias.

2.2 Violência no Trânsito

Entre adolescentes, acidentes por quedas representam metade do número de internações na região sul e sudeste, enquanto lesões provenientes de acidente de trânsito teve maior proporção no sudeste (20%) e nordeste (19%). Não usar o cinto de segurança, dirigir veículo antes da idade permitida, assim como o transporte em veículos conduzidos por pessoas que ingeriram bebida alcoólica, expõe os adolescentes aos acidentes e risco de morte.

O PeNSE 2015, traz dados de adolescentes que nunca ou raramente usaram cinto de segurança no banco da frente ou no banco de trás, 33,6% dos escolares entrevistados. Observou-se que 35,7% das meninas e 31,3% dos meninos nunca ou raramente usaram cinto de segurança. Entre os alunos da escola privada, o percentual foi de 37,1%, maior do que o registrado para os estudantes das escolas públicas (32,9%).

A direção de veículo motorizado antes da idade permitida pela legislação foi declarada por 32,4% dos escolares, na sua maioria, na faixa etária de 13 a 15 anos. A proporção de meninos que declararam dirigir veículos motorizados (45,2%) foi mais que duas vezes superior à das alunas (20,3%). O percentual entre os alunos de escolas públicas foi maior (33,9%) do que entre os de escolas privadas (23,6%). Os dias em que acontece um maior número de casos são aos finais de semana, originário do consumo de álcool e/ou drogas. (PENSE 2015).

2.3 Consumo do Álcool

A propagação do consumo de bebidas alcoólicas e drogas está relacionada aos eventos de criminalidade entre adolescentes. O primeiro contato do adolescente com o álcool é aproximadamente aos 13 e 14 anos, no caso de substâncias ilícitas é entre 14 a 16 anos. A ingestão precoce do álcool tem relação a problemas de saúde na idade adulta, aumentando o risco de se tornar consumidor em excesso ao longo da vida. O consumo de bebida alcoólica na adolescência se associa ao insucesso escolar, violências, acidentes, e outros comportamentos de risco como tabagismo, uso de drogas ilícitas e sexo desprotegido.

O PeNSE de 2015 indicou que 55,5% dos escolares do 9º ano do ensino fundamental responderam positivamente a experimentação de a uma lata de cerveja, uma taça de vinho ou uma dose de cachaça ou uísque, sendo mais comum entre os alunos de escolas públicas (56,2%) do que entre os das escolas privadas (51,2%). O indicador de experimentação do álcool foi de (25,1%) com as meninas, consumo atual superior ao observado para os meninos (22,5%).

Fazer uso de drogas de maneira indiscriminada pode levar à dependência física e/ou psicológica, levando o jovem a uma maior vulnerabilidade a situações de riscos, sobretudo

a violência física. A violência não causa somente danos físicos, ela interfere no aspecto emocional, moral e espiritual.

2.4 Atendimento no Pronto-Socorro

De acordo com o autor, o Programa de Saúde do Adolescente – PROSAD, baseado no Ministério da Saúde (2003), vem relatando a necessidade de uma política nacional integrada para pessoas entre 10 a 20 anos, visando à melhora na qualidade de vida trabalhando com a prevenção e redução da morbimortalidade. As ações do programa são norteadas pelo princípio de integralidade das ações de saúde, sendo necessária a multidisciplinaridade das questões que a envolvem, e na integração intersetorial e interinstitucional respeitando as diretrizes do SUS. É interessante identificar os agravos para que possa ser realizado projetos educativos como medidas de prevenção e controle. Questões que envolvam saúde de jovens adolescentes tem relação com a violência, acidentes de trânsito e o uso de drogas envolvem em maior número indivíduos do sexo masculino. As mulheres estão mais vulneráveis a sofrerem violência sexual.

Segundo Martins e Andrade (2005), os fatores que levaram os adolescentes a procurarem atendimento no pronto socorro foram quedas (33,9%), eventos de intenção indeterminada (31,8%), acidentes causados por forças mecânicas inanimadas (15,5%) – especialmente por penetração de corpo estranho em orifício natural (4,6%) ou através da pele (3,2%) – e acidentes de transporte (7,0%). Acidentes por fatores externos foram as principais causas de óbitos nessa população, sendo acidentes de transporte (44,4%), afogamento (16,7%) e aspiração de conteúdo gástrico (11,1%).

A região do corpo que foi mais afetada por algum tipo de lesão foi à cabeça/pescoço. Traumatismos superficiais e fraturas foram às causas predominantes entre os indivíduos internados. Já nos casos de óbito, o traumatismo intracraniano foi a principal causa de lesões. A maior porcentagem dos atendimentos feitos pelos serviços de emergências é com estudantes (92,52%), significando que a maior partes dos jovens se encontram em atividade escolar, tornando-se uma situação favorável para o processo de conscientização para a prevenção à exposição aos agravos de saúde, trazendo a importância da educação para que seja o embasamento no combate à violência. No estudo de Ciampo et al. (2012) os adolescentes relataram ter recebido previamente orientações sobre a prevenção de danos, as informações foram obtidas através de unidades básicas de saúde (39,1%), passada pelos familiares em casa (25%), por meio das mídias (18,4%) e na escola (17,4%).

3 | PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Para a realização da pesquisa, foi utilizado o modelo de estudo tipo documental. Investigações em fontes documentais “consiste em identificar, verificar e apreciar os documentos com uma finalidade específica” (SOUZA, 2011). A verificação da presença da temática Saúde foi feita por meio da análise do Caderno do Professor de Educação Física

(SÃO PAULO, 2014), observando-se conteúdos como textos, figuras, questões, gráficos, experimentos e pesquisas propostas relacionadas ao tema Saúde.

Nessa análise foram verificados os dois volumes correspondentes a cada semestre do Caderno do Professor da disciplina de Educação Física, contemplando os todos os anos do Ensino Médio. No total foram analisados seis Cadernos. Destaca-se a utilização de dados secundários a partir da identificação de prevalência de morbimortalidade dos municípios investigados (DATASUS). Outros dados secundários utilizados são provenientes do Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDH-M).

Foram escolhidas as séries do Ensino Médio para estudo, considerando que já estão finalizando o ensino básico, e precisam ter discernimento sobre questões que envolvam Saúde, como prevenção de doenças, na manutenção da Saúde, entre outros. O professor deve orientar os alunos, buscando formar indivíduos autônomos e participativos para que tenham uma concepção crítica dos conteúdos e contribuam significativamente perante a sociedade.

4 | RESULTADOS

4.1 A Educação Física

Em vários momentos, as Políticas Públicas já ressaltaram a relevância da abordagem do tema Saúde entre os conteúdos da Educação Básica.

De acordo com os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCNs) do Ensino Médio, 2000:

[...] Uma Educação Física atenta aos problemas do presente não poderá deixar de eleger, como uma das suas orientações centrais, a da educação para a Saúde. Se pretende prestar serviços à educação social dos alunos e contribuir para uma vida produtiva, criativa e bem sucedida, a Educação Física encontra, na orientação pela educação da Saúde, um meio de concretização das suas pretensões. (BRASIL, 2000, p. 34)

A Educação Física referente ao tema Saúde apresenta o modelo biomédico, na maior parte dos conteúdos aparecem questões biológicas e fisiológicas. O PCN busca vincular um conceito de Saúde que ultrapasse o modelo biológico e informativo. São consideradas diversas abordagens que compõe o panorama da Saúde, abrangendo pontos referentes ao estilo de vida, demandas sociais, históricos e ambientais.

A escola possui as condições necessárias para transmitir informações sobre saúde, através de ações de educação e promoção da saúde. A educação física escolar é um elemento da área da saúde e um importante meio para a promoção da saúde.

Os conhecimentos apresentados sobre saúde na escola trazem informações sobre aspectos biológicos do corpo, descrição de doenças e suas causas e hábitos saudáveis. O tema saúde disseminado pela mídia sobre a atividade física ter relação com a fuga do

sedentarismo, de se movimentar e ser ativo. É interessante que se compreenda o tema saúde de uma forma mais abrangente, não excluindo as questões biológicas, mas trazendo os determinantes sociais. Dessa forma, indica-se aproximação dos ideais de saúde coletiva, levando em consideração os fatores externos e não somente a prática de exercícios.

4.2 A Proposta Curricular do Estado de São Paulo

Na Proposta Curricular do Estado de São Paulo, a tema saúde é abordada nos eixos temáticos, sendo eles “Corpo, saúde e beleza”, “Lazer e trabalho”, “Ginastica” e “Contemporaneidade”.

4.3 Dados Demográficos e Epidemiológicos

O estudo tem como um dos objetivos, analisar o perfil de morbimortalidade em idade escolar de diferentes municípios/regiões de saúde. Foi escolhida a região de Presidente Prudente – SP. Foi elaborado um quadro para expor o número de indivíduos com idades de 15 a 19 anos do sexo masculino, sexo feminino, o total de adolescentes e porcentagem e população total residente dos municípios da região de saúde de Presidente Prudente.

Município	Masculino	Feminino	Total de Jovens	%	Total de Habitantes
Dracena	1.528	1.491	3.019	6.81	44.309
Junqueirópolis	768	604	1.372	6.86	19.973
Tupi Paulista	470	440	910	6.32	14.390
Álvares Machado	1.015	943	1.958	8.23	23.777
Presidente Prudente	7.988	7.567	15.555	7.48	207.725
Santo Anastácio	790	833	1.623	7.64	21.225
Iepê	298	287	585	7.44	7.856
Rancharia	1.124	1.137	2.261	7.75	29.137
Presidente Epitácio	1.675	1.601	3.276	8.01	40.890
Presidente Venceslau	1.381	1.259	2.640	6.86	38.440
Rosana	837	831	1.668	8.81	18.920
Teodoro Sampaio	855	848	1.703	8.03	21.202

QUADRO 1. População Residente de 15 a 19 anos (2009).

Fonte: IBGE, Censos e Estimativas (2009).

O Quadro 2 representa o percentual de mortalidade segundo grupo de causas – CID10.

Município	I. Algumas Doenças Infecciosas e Parasitárias	IX. Doenças do Aparelho Circulatório	XX. Causas Externas de Morb. e Mort.	Demais Causas Definidas	Total
Dracena	-	-	100	-	100
Junqueirópolis	-	-	100	-	100
Tupi Paulista	-	-	100	-	100
Álvares Machado	-	-	100	-	100
Presidente Prudente	-	-	100	-	100
Santo Anastácio	-	-	-	100	100
Iepê	-	-	-	-	-
Rancharia	100	-	-	-	100
Presidente Epitácio	-	20	80	-	100
Presidente Vencelau	-	-	-	100	100
Rosana	-	-	-	-	-
Teodoro Sampaio	-	-	-	-	-

QUADRO 2. Mortalidade Proporcional (%) de 15 a 19 anos Segundo Grupo de Causas - CID10.

Fonte: SIM. Situação de bases de dados nacional em 14/12/2009.

Em relação à mortalidade, ao analisar o quadro é possível observar que a maior causa de mortes entre adolescentes de 15 a 19 anos se deve a causas externas de morbidade e mortalidade, seguido de demais causas definidas, doenças infecciosas e parasitárias, e doenças do aparelho circulatório.

Foi organizado um quadro que representa a distribuição percentual das internações de adolescentes de 15 a 19 anos por grupo de causas CID10.

Capítulo CID/ Município	Drac	Junq	Tupi P.	Alv. M	Pres. P	Sant. A	Iepê	Ranch	Pres. E	Pres. V	Rosan	Teod. S	% Total
I.Algumas doenças infecciosas e parasitárias	5,3	2,6	5,6	1,8	1,1	13,3	-	6,4	1,2	10,1	2,7	3,2	4,4
II.Neoplasias (tumores)	-	0,9	1,4	1,8	2,0	1,1	-	-	-	0,5	1,4	-	0,75
III.Doenças sangue órgãos hemat e transt imunitár	-	1,7	2,8	2,7	1,1	-	2,6	1,7	0,4	-	-	-	1,08
IV.Doenças endócrinas nutricionais e metabólicas	0,5	-	1,4	-	1,1	0,6	5,1	2,5	1,2	-	-	0,5	1,07
V.Transtornos mentais e comportamentais	6,2	2,6	-	-	5,4	1,7	5,1	5,5	2,4	1,5	2,0	1,1	2,50
VI.Doenças do sistema nervoso	-	-	-	1,8	1,4	1,1	5,1	0,8	-	0,5	0,7	1,6	1,08
VII.Doenças do olho e anexos	-	1,7	-	0,9	-	1,1	2,6	-	0,4	-	-	-	0,55
VIII.Doenças do ouvido e da apófise mastóide	-	-	-	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,05
IX.Doenças do aparelho circulatório	1,4	-	-	-	1,4	1,7	-	2,1	0,8	1,5	-	0,5	0,78
X.Doenças do aparelho respiratório	11,0	20,5	8,3	2,7	6,0	21,5	15,4	16,5	12,2	17,7	4,1	18,3	12,85
XI.Doenças do parelho digestivo	8,1	7,7	23,6	8,1	6,5	6,6	2,6	6,8	8,6	5,1	6,8	3,8	11,31
XII.Doenças da pele e do tecido subcutâneo	0,5	0,9	-	3,6	3,4	1,1	-	1,7	1,6	-	2,0	1,1	1,32
XIII.Doenças sist. Osteomuscular e tec conjuntivo	0,5	-	1,4	2,7	1,1	0,6	-	0,8	0,8	0,5	2,0	1,1	0,95
XIV.Doenças do aparelho geniturinário	11,5	12,0	13,9	16,2	9,9	13,8	20,5	11,0	9,8	12,6	6,1	16,7	12,83
XV.Gravidez parto e puerpério	46,9	40,2	27,8	45,0	46,7	25,4	38,5	28,4	42,9	38,9	62,2	41,9	40,4
XVI.Algumas afec originadas no período perinatal	0,5	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	0,5	0,09
XVII.Malf cong deformid e anomalias cromossômicas	0,5	-	4,2	2,7	0,2	-	-	-	0,8	0,5	1,4	1,6	0,99
XVIII.Sint sinais e achad anorm ex clín. e laborat	-	3,4	5,6	-	0,6	1,7	-	1,7	-	0,5	-	1,1	1,21
XIX.Lesões enven e alg out conseq. causas externas	7,2	5,1	4,2	8,1	9,9	6,6	2,6	11,4	14,3	9,6	2,7	7,0	10,64
XXI.Contatos com serviços de saúde	-	0,9	-	1,8	1,7	2,2	-	2,5	2,0	0,5	6,1	-	1,47
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

QUADRO 3. Distribuição Percentual das Internações por Grupo de Causas de 15 a 19 anos – CID10 (2009).

Fonte: SIH/SUS. Situação de bases de dados nacional em 03/05/2010.

5 | DISCUSSÃO

A proposta aborda temas pertinentes à realidade do jovem escolar, porém, quando relacionamos as causas de mortalidade e morbidade nos municípios/região de saúde de Presidente Prudente, uma parte não é trabalhada na disciplina de educação física.

A respeito dos índices da região, os conteúdos que se aproximam da realidade local são óbitos por causas externas de morbidade e mortalidade, identificando os fatores de risco ligados a elas; os efeitos prejudiciais das bebidas alcoólicas como aumentar os riscos do indivíduo se envolver em acidentes de trânsito, provocando mortes ou ferimentos graves em passageiros e pedestres; o aumento dos riscos de homicídios, suicídios, quedas, afogamentos e outros tipos de violência e acidentes; e problemas de saúde como doenças cardiovasculares, respiratórias e neurológicas, além de aumentar a incidência de vários tipos de câncer.

De acordo com a PENSE 2015, os adolescentes quando questionados sobre a frequência com que os colegas da escola esculacharam, zoaram, mangaram, intimidaram ou caçoaram tanto que o aluno ficou magoado, incomodado, aborrecido, ofendido ou humilhado, 7,4% dos escolares brasileiros afirmaram que na maior parte do tempo ou sempre se sentiram humilhados por provocações. Os indicadores foram próximos para os estudantes do sexo masculino (7,6%) e feminino (7,2%).

Entre os alunos das escolas públicas, o percentual foi de 7,6% e entre os das escolas privadas, 6,5%. Do total de escolares entrevistados, 53,4% responderam nenhuma vez, e 39,2%, raramente ou às vezes se sentiram humilhados por provocações feitas pelos colegas.

A Região Sudeste apresentou o maior percentual (8,3%) de escolares que declararam sofrer constrangimento ou humilhação na maior parte do tempo ou sempre. O Estado de São Paulo (9,0%) foi o estado com maior percentual (PENSE, 2015). Os principais motivos das provocações são a aparência do corpo (15,6%) e aparência do rosto (10,9%).

6 | CONSIDERAÇÕES

Ter conhecimento sobre o perfil de morbidade entre os adolescentes é de grande importância, para propiciar contribuições a serem adotadas como medidas preventivas a partir de implementações de políticas públicas na área da saúde. Esse fato configura um problema de ampla proporção por envolver diferentes fatores, e para encarar o fato é preciso coordenar e sistematizar esforços de diversos setores governamentais, segmentos sociais e da população em geral. A promoção da saúde se configura em uma ação política e social visando à adoção de hábitos saudáveis sendo eles individuais e coletivos, e também na criação de espaços seguros e adequados para a população.

A Política de Promoção da Saúde tem a finalidade de originar uma melhor qualidade de vida, sendo ela física, emocional, psicológica e social e conta com o fortalecimento de

ações comunitárias. É importante identificar o órgão responsável em priorizar medidas preventivas de saúde, quando se tem investimento em prevenções primárias, menor será o custo com o atendimento às vítimas, com o propósito de reduzir a morbimortalidade por acidentes e violência e contribuir para a qualidade de vida da população.

Compreende-se que a temática Saúde pode estar presente em outras disciplinas, assim como é sugerido na proposta curricular, fazendo a inter-relação entre os conteúdos nas diferentes disciplinas. Os temas inter-relacionados são importantes para reforçar e resignificar os conteúdos tornando-os mais significativos ao aprendizado dos alunos. Futuros estudos sobre a temática Saúde na Proposta Curricular do Estado de São Paulo poderão analisar todas as disciplinas para verificar a presença do conteúdo em questão e se adequam a realidade próxima aos alunos, e a maneira em que são abordados.

Os conteúdos relacionados à Saúde presentes no Caderno do Professor são assuntos importantes e necessários e a dinâmica sugerida para o desenvolvimento do conteúdo é interessante, porém os conteúdos poderiam ser complementados, com temas importantes que estão presente no dia-a-dia, como é o caso, por exemplo, da automedicação, prevenção de lesões, correção postural e primeiros socorros. É necessário que os professores conheçam a realidade trabalhada para dar ênfases nos assuntos mais próximos dos alunos, tornando o aprendizado mais prazeroso e significativo.

REFERÊNCIAS

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Projeto educação e promoção da Saúde no contexto escolar: o contributo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária para o uso racional de medicamentos.** Caderno do professor/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2007. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/educacao-e-pesquisa/publicacoes-sobre-educacao-e-pesquisa/caderno-do-professor-promocao-da-saude-no-contexto-escolar.pdf>> Acesso em: 10/05/2022.

BRASIL. Secretaria de Políticas de Saúde – Ministério da Saúde. **Política Nacional de Redução da Morbimortalidade por Acidentes e Violência.** Rev Saúde Pública 2000;34(4):427-30 427. Disponível em: <www.fsp.usp.br/rsp>

BRASIL. **Parâmetros Curriculares Nacionais Ensino Médio. Parte II Linguagens, Códigos e suas Tecnologias.** 2000, P. 34-35. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/seb/arquivos/pdf/14_24.pdf> Acesso em: 25/11/2016

BRASIL. **Parâmetros Curriculares Nacionais: Saúde.** VOL. 10.4 Disponível em: <<http://portal.mec.gov.br/seb/arquivos/pdf/saude.pdf>> Acesso em: 27/11/2016

CIAMPO, L. A.; FERRAZ, I. S.; TAZIMA, M.; BACHETTE, L. G.; ISHIKAWA, C.; PAIXÃO, R. Características epidemiológicas e clínicas de lesões entre os adolescentes atendidos em um serviço de emergência na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo. **Sao Paulo Medical Journal, Versão impressa ISSN 1516-3180. Sao Paulo Med. J. vol.130 no.1 São Paulo 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-31802012000100005>>**

CIAMPO, L. A.; CIAMPO, I. R. L. Perfil de morbidade e hospitalização entre adolescentes da região de Ribeirão Preto/SP. **Medicina (Ribeirão Preto)** 2011;44(2): 195-201. Disponível em: <<http://www.fmrp.usp.br/revista>>

CLARO, L. B. L.; MARCH, C.; MASCARENHAS, M. T. M.; CASTRO, I. A.B.; ROSA, M. L. G. Adolescentes e suas relações com serviços de saúde: estudo transversal em escolares de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro**, 22(8):1565-1574, ago, 2006

CORREA, A. P. R.; MEDEIROS, T.; YAMAGUCHI, M. U.; CORTEZ, L. E. R. Morbidade e mortalidade de adolescentes que utilizam dos serviços de urgência e emergência em maringá. **VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar UNICESUMAR – Centro Universitário Cesumar Editora CESUMAR Maringá – Paraná – Brasil**

DATASUS – **Tecnologia de Informação a serviço do SUS. Cadernos de Informações de Saúde – São Paulo**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/tabdata/cadernos/sp.htm>>. Acesso em 11/11/2016

FERREIRA, H. S.; OLIVEIRA, B. N.; SAMPAIO, J. J. C. Análise da percepção dos professores de educação física acerca da interface entre a saúde e a educação física escolar: conceitos e metodologias. **Rev. Bras. Ciênc. Esporte**, Florianópolis, v. 35, n. 3, p. 673-685, jul./set. 2013

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE)** 2015. Rio de Janeiro; 2016. Disponível em: <<http://biblioteca.ibge.gov.br/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=297870>> Acesso em: 10/10/2016

LACERDA, C. S.; PAIANO, R. Educação física no Ensino Médio Ensino e primeiros socorros: o conhecimento de alunos e professores. **VII Jornada de Iniciação Científica – 2011**. Disponível em: <http://www.mackenzie.com.br/fileadmin/Pesquisa/pibic/publicacoes/2011/pdf/edf/camila_sousa.pdf> Acesso em:12/08/2016

MARTINS, C. B. G.; ANDRADE, S. M. Causas externas entre menores de 15 anos em cidade do Sul do Brasil: atendimentos em pronto-socorro, internações e óbitos. **Rev Bras Epidemiol** 2005; 8(2): 194-204

NATALI, R. M. T.; SANTOS, D. S. P. S.; FONSECA, A. M. C.; FILOMENO, G. C. M.; FIGUEIREDO, A. H. A.; TERRIVEL, P. M.; MASSONI, K. M.; BRAGA, A. L. F. Perfil de internações hospitalares por doenças respiratórias em crianças e adolescentes da cidade de São Paulo, 2000-2004. **Rev Paul Pediatr** 2011;29(4):584-90.

SÃO PAULO (ESTADO). **Caderno do Professor: educação física, Ensino Médio**. Secretaria da Educação, São Paulo, 2014.

SÃO PAULO (ESTADO). **Currículo do Estado de São Paulo. Linguagens, Códigos e suas Tecnologias. Ensino Fundamental – ciclo II e Ensino Médio**. 2014.

SOUZA, J. de; KANTORSKI, L. P.; LUIS, M. A. V. ANÁLISE DOCUMENTAL E OBSERVAÇÃO PARTICIPANTE NA PESQUISA EM SAÚDE MENTAL. **Revista Baiana de Enfermagem**, [S. l.], v. 25, n. 2, 2012. DOI: 10.18471/rbe.v25i2.5252. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/enfermagem/article/view/5252>. Acesso em: 10 maio. 2022.

SOBRE A ORGANIZADORA

DANIELA REIS JOAQUIM DE FREITAS - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2000), com mestrado em Biologia Celular e Molecular (2002), doutorado em Ciências (2006) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Durante o mestrado e o doutorado trabalhou diretamente com biologia celular e molecular e bioquímica, na clonagem e expressão de genes do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Também trabalhou com morte celular e estresse oxidativo no carrapato. Fez pós-doutorado na área de Ciências Médicas - Farmacologia (2007) na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Atualmente é professora e líder do Grupo de Estudos em Microbiologia e Parasitologia (NUEMP) no Departamento de Parasitologia e Microbiologia, e membro do Núcleo de Pesquisa em Prevenção e Controle de Infecções em Serviços de Saúde (NUPCISS) na Universidade Federal do Piauí. É docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem (PPGEnf-UFPI). Tem experiência nas áreas de Biologia Celular e Molecular, Imunologia, Parasitologia, Microbiologia e Farmacologia Experimental e tem linhas de pesquisa em Controle de Infecções em Serviços de Saúde, Infecções comunitárias e Educação em Saúde.

ÍNDICE REMISSIVO

A

- Açúcares redutores totais 122
- Análise sensorial 34, 36, 37, 39, 44, 45
- Anticorpos monoclonais 1, 3
- Antígenos plaquetários humanos 6, 8, 10, 14
- Atividade antibacteriana 101, 105
- Atividades anticancerígenas 80

B

- Backcrossing 158, 161
- Biodisponibilidade 73, 74
- Bioestimuladores de colágeno 47
- Biofortificação 72, 73, 74, 75, 76, 77
- Biorremediação 92, 94, 99, 104
- Biosurfactantes 101, 103, 104
- Bracelete de Mel 62

C

- Características morfométricas 134
- Cicatrização 30, 62
- Cosmético 34, 36, 37, 39, 40, 44, 45, 51
- Costões rochosos 79, 80, 81, 87

D

- Descoloração 92, 94, 95, 96, 97, 98, 99
- Doença falciforme 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
- Doenças infecciosas 13, 111, 112, 178, 179

E

- Educação física 171, 172, 175, 176, 180, 182
- Efluentes têxteis 92, 93
- Espécies florestais 134, 135, 142
- Estudos de associação genética 7

F

Fermentação alcoólica 122, 123, 126

Fisiopatologia 6, 29, 30, 31, 33

Fringillidae 158, 159, 160, 161, 163

Fungos 3, 4, 92, 94, 97, 111, 112, 113, 114, 116, 117, 118, 120, 121

G

Germinação 134, 136, 137, 138, 139, 142, 143, 144, 145

H

Hemoglobina S 17, 19, 26

Hipomelanose 29, 31

I

Imunodiagnóstico 2

Intercorrência 47

M

Magellanic Tapaculo 146, 147, 148, 149

Malt base type Pilsen 127

Massa seca 134, 135, 137, 138, 140, 141, 143

Melaleuca armillaris 61, 62, 63, 65, 66, 67, 69, 70

Mel rico 122, 123

Merkwelt 158, 159, 160, 161, 162

Micoses 112, 113, 114, 115, 118

Micronutrientes 73, 74, 75, 76, 77

Morbimortalidade 17, 19, 171, 172, 175, 176, 177, 181

N

Nanotecnologia 34, 36, 44, 45

P

Paracoccidioidomicose 1, 2, 115, 119

Patógenos avícolas 101

Periodontite 7

Pleurotus ostreatus 92, 93, 94, 95, 98, 99, 100

Produtos naturais marinhos 80, 81, 87

Proposta curricular 171, 172, 177, 181

Q

Quilombolas 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28

R

Rhinocryptidae 146, 147, 148, 150, 151, 152

Roasted malt 127, 128, 129, 130, 131, 132

S

Saccharification temperature 127

Saúde coletiva 27, 171, 177

Saúde estética 47, 48, 49, 55

Scytalopus 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 154, 157

Soforolipídios 101, 102, 103, 104, 105, 106

T

Tratamento de feridas 62

V

Valor nutricional 73, 75, 76

Vitiligo 29, 30, 31, 32, 33



PRODUÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS 2

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br


Ano 2022



PRODUÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS 2

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br


Ano 2022