Análise espacial por geoprocessamento da dengue e o clima na cidade de Jataí - GO[1]

Jean Carlos Feltrin
Bolsista PIBIC – Universidade Federal de Goiás/Câmpus Jataí
jeanfeltrin@yahoo.com.br
José Ricardo Rodrigues Rocha
Mestrando – Universidade Federal de Goiás/Câmpus Jataí
joserocha90@hotmail.com
Zilda de Fátima Mariano
Profa. Dra. – Universidade Federal de Goiás/Câmpus Jataí
zildadefatimamariano@gmail.com

Resumo

A dengue está presente na vida dos brasileiros há muito tempo, compreender as condições propícias onde esse inseto vive é fundamental para um combate mais eficaz. As cidades têm crescido deforma não organizada deixando muitos serviços públicos longe desses locais, refletindo diferenciações entre a área periférica e o centro urbano afetando no surgimento do *Aedes aegypti*. O presente trabalho teve como objetivo analisar os casos de dengue utilizando o SIG. Desta forma a coleta de dados de umidade e temperatura do ar foi por meio dos termohigrômetros (Modelo HT–500 e HT–4000) e precipitação pluvial com os pluviógrafos (modelo P300), os dados dengue foram cedidos pela Vigilância Epidemiológica Municipal de Jataí e o para espacialização dos dados (climático e casos de dengue) foi utilizado o SIG, Surfer® e ArcGis® no período de agosto de 2012 a junho de 2013. Verificou-se que a temperaturas médias maiores ocorreram no mês de outubro no P1 de 28,5°C, P4 (28,9°C) e P7 (28,0°C) e em dezembro o P4 (28,5°C). As temperaturas médias menores ocorreram em junho no P3 (20,1°C), P5 (20,5°C) e P6 (20,9°C). Os maiores casos de dengue foram registrados nos bairros Centro (143), Vila Fátima (141), Setor Jacutinga (114), Dom Abel (101). No ponto P4, a umidade relativa média do ar foi 68%, e a temperatura média de 25,9°C, a precipitação pluvial variou de 1322 a 1760 mm no período. A precipitação pluvial ocorreu em quase todos os meses, exceto nos mês de agosto condições favoráveis para o surgimento da doença.

Palavras chave: temperatura do ar, umidade relativa do ar, SIG

Summary

Dengue is present in the lives of Brazilians have long to understand the conditions in which this insect lives is fundamental to better combat. Cities have grown deforms unorganized leaving many public services away from those places, that reflect differences between the urban center and the outlying area affecting the emergence of *Aedes aegypti*. This study aimed to analyze the cases of dengue using GIS. Thus data collection humidity and air temperature was through termohigrômetros (Model HT-500 and HT-4000) on 7 points and rainfall with rain gauges (model P300), the data were provided by Vigilância Epidemiológica Municipal de Jataí and for spatial data (climate and dengue cases) was used GIS, Surfer ® and ArcGIS ®,

[1] Revisado pela orientadora

Agradecimento a equipe da Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Jataí pelos dados cedidos da dengue
Agradecimento aos colaboradores (locais cedidos para instalação dos pontos de coleta).

n. from August 2012 to June 2013. It was found that the highest mean temperatures were recorded in October at 28.5 ° C of P1, P4 (28.9 ° C) and P7 (28.0 ° C) and P4 in December (28.5 ° C). The average temperatures recorded were lower at P3 in June (20.1 ° C), P5 (20.5 ° C) and P6 (20.9 ° C). The highest dengue cases were reported in neighborhoods Centre with 143 cases, Vila Fatima (141), Setor Jacutinga (114), Dom Abel (101). In the city center, the point P4, the average relative humidity of the air was 68%, and the average temperature of 25.9 ° C, rainfall ranged from 1322 to 1760 mm in the period. Rainfall occurred in almost every month, except in August, these conditions are favorable for the appearance of dengue in the city.

Keywords: air temperature, relative humidity, GIS

Introdução

O crescimento desorganizado dos centros urbanos agravou os problemas ambientais e consequentemente trouxeram implicações de saúde na população em destaque à Dengue, ela tem sido cada vez mais presente nas vidas dos brasileiros.

Os centros urbanos hoje em dia sofrem com problemas ambientais graves, tais como lixo sem tratamento adequado, ausência de galerias fluviais, enxurradas e mudança climática.

> Como característica cada vez mais marcante das cidades, fatores como a elevada densidade demográfica, a concentração de áreas construídas, a pavimentação asfáltica do solo e as áreas industriais podem provocar alterações no clima local, essencialmente nos valores de temperatura do ar (LOMBARDO, 1985, p. 27).

De acordo com Ayoade (2006, p.300);

> [...] o clima urbano é bastante distinto, por suas características, do clima das áreas rurais circundantes. Nas áreas urbanas, altera-se a composição química da atmosfera. As propriedades térmicas e hidrológicas da superfície terrestre, assim como seus parâmetros aerodinâmicos são modificados pelos processos de urbanização e industrialização.

O crescimento das cidades em ritmo acelerado e o consumo excessivo tiveram como consequência mudanças climáticas e ambientais, que possibilitou que o *Aedes aegypti* se reproduz em locais onde não havia e agravando regiões onde já era um problema.

A dengue tem como meio natural se proliferar em ambientes de climas tropicais (quentes e úmidos), segundo Souza R. (2008) aponta que a umidade relativa do ar acima de

70%, proporciona condições de reprodução mais rapidamente do *Aedes aegypti*, onde a temperatura elevada de 28,0°C também é um fator que contribui para o seu aparecimento.

As geotecnologias há muito, já estão presentes em algumas pesquisas, Carvalho et al. (2000) baseado em Bretas e Bessa (1996) descrevem alguns programas de SIG's utilizados nas experiências brasileiras em saúde: Map Info, Epi-Map, IDRISI, ArcInfo, ArcView, MapMaker, ARCLINK, Dbase IV, Excel, FoxPro, EpiInfo e programas brasileiros: TABWIN, SPRING. Assim o conhecimento dos agravos à saúde pública vem sendo estudados através dos Sistemas de Informações Geográficas (SIG), que surge como uma ferramenta no auxílio nas áreas de saúde pública e saúde ambiental.

De acordo com Leite (2008, p. 13) "as novas tecnologias de informação e de tratamento de dados espaciais digitais ganham importância por se tornarem instrumentos que possibilitam além da informação espacializada, uma maior precisão, acessibilidade e velocidade na obtenção e processamento dos dados".

Assim o mapeamento das doenças é fundamental diante de uma epidemia, onde Carvalho et al. (2000, p. 19) aponta que "a análise da distribuição espacial de agravos possibilita determinar padrões da situação de saúde e de uma área, evidenciar disparidades espaciais que levam a delimitação de áreas de risco para mortalidade ou incidência de eventos mórbidos".

Uso de softwares como o ARCGIS para a espacialização é uma ferramenta para a elaboração de diagnóstico para a vigilância já que muitas das epidemias possuem um padrão geográfico.

Objetivo

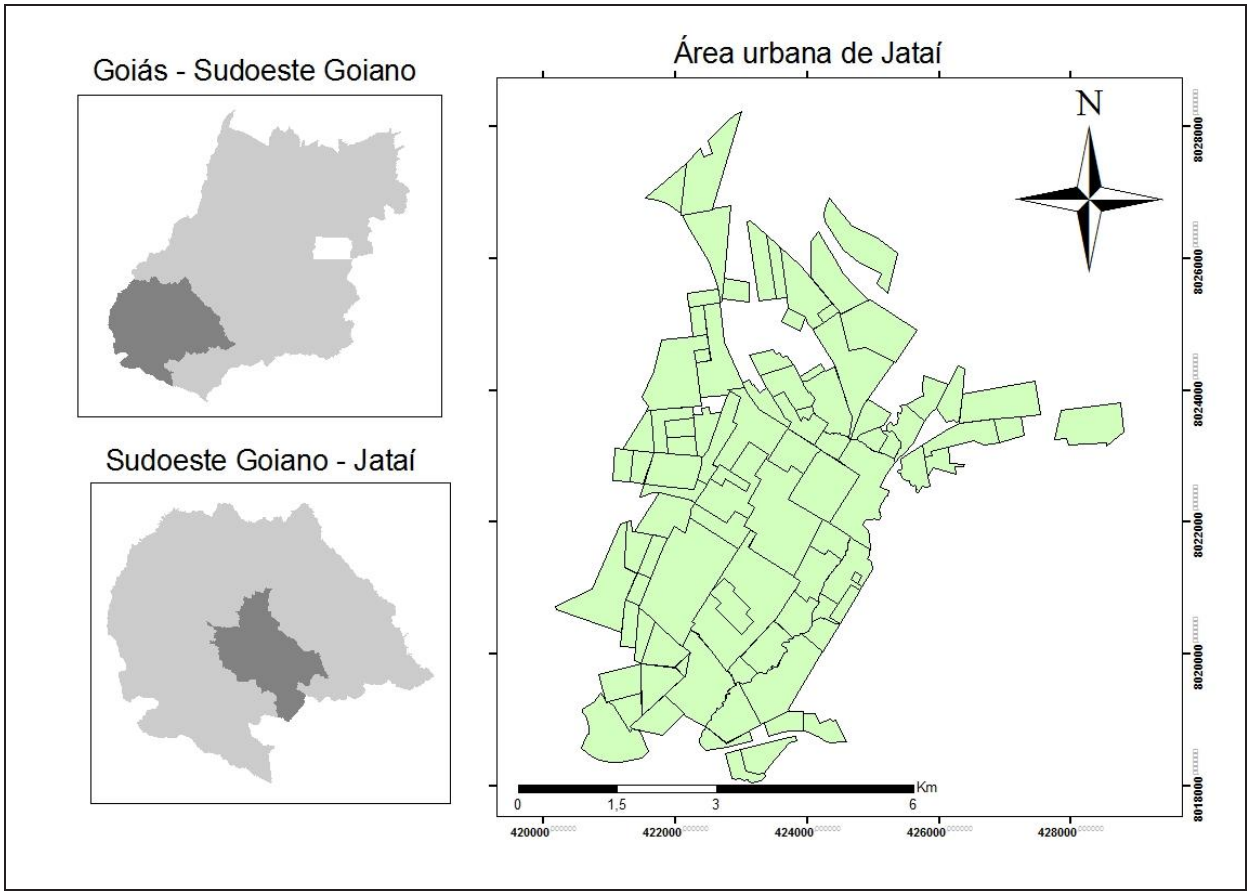
O objetivo do presente trabalho é analisar a variabilidade climática (precipitação pluvial, temperatura do ar e umidade relativa do ar) relacionando com o número de casos de dengue através de SIG's, na cidade de Jataí – GO, no período de agosto de 2012 a junho de 2013.

Metodologia

A cidade de Jataí situa na microrregião do Sudoeste Goiano (Mapa 1), de acordo com Mariano e Scopel (2001) a região de Jataí possui um índice pluviométrico médio de 1630 mm, assim as características climáticas da região propiciam o surgimento do vetor da dengue, o Aedes aegypti. Assim, caracteriza-se por um clima quente e úmido com índices

pluviométricos altos, sendo características que propicia o surgimento do vetor da dengue, o *Aedes aegypt* (COSTA, 2001).

Mapa 1- Localização da área de estudo



Organizador: FELTRIN, J. C. (2013).

Mensalmente os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram coletadas pelos termohigrômetros (modelo HT–500 e HT–4000), dispostos nos pontos Casa A (P1), Centro Tecnológico Sucan (P2), Campus Jataí (P3), Centro Sucan (P4), Clube dos Militares (P5), Clube dos Sargentos (P6) e Estação Meteorológica (P7) e os dados de precipitação pluvial foram coletados nos pluviógrafos (modelo P 300) nos pontos P2, P3, P6 e P7, (Foto 1 A e B e Tabela 1).

Foto 1 A- Termohigrômetros



Foto 1 B - Pluviógrafo



Organização: FELTRIN, J. C. (2013)

Tabela 1- Localização dos pontos de instalação dos aparelhos

Ponto	Localidade	Termohigrômetro	Pluviógrafo/Pluviômetro
P1	Casa A	**X**	**X**
P2	Centro Tecnológico Sucan	**X**	**X**
P3	UFG Campus Jataí/Unidade Riachuelo	**X**	**X**
P4	Centro Sucan	**X**	**X**
P5	Clube dos Militares	**X**	
P6	Clube dos Sargentos	**X**	**X**
P7	Estação Meteorológica (INMET)	**X**	**X**

Fonte: Laboratório de Climatologia, UFG/Câmpus Jataí
Organização: FELTRIN, J. C. (2013)

Esses dados de temperatura e umidade do ar e precipitação pluvial foram retirados dos aparelhos por conexão USB, descarregados no Netbook e armazenados planilha eletrônica de cálculos.

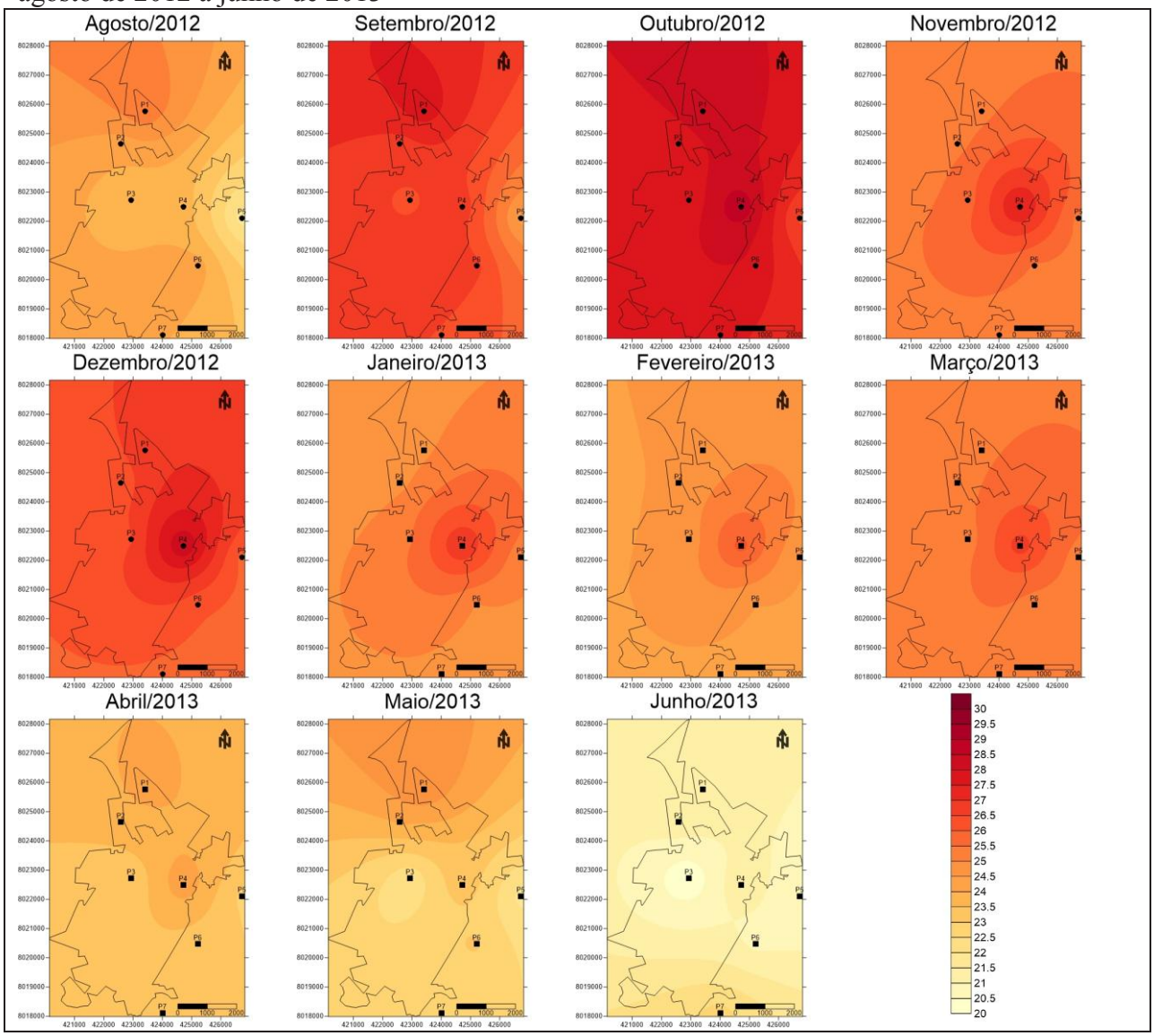
Os números de casos de confirmados de dengue por bairros e sexo foram fornecidos pela Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Jataí.

Os dados armazenados de temperatura do ar, umidade do ar e precipitação pluvial, foram espacializados em SIG como no software Surfer®, assim como os casos de dengue no programa ArcGis®10.1, sob o número de registro EFL913687012.

RESULTADOS

Durante o período de análise as temperaturas médias em Jataí variaram de 20,1 a 28,9 °C, sendo que a menor temperatura ocorreu no mês de inverno (junho) na localidade P3, sendo que o ambiente propicia essas menores temperaturas, pois possui bastante arborização, devido uma área de preservação próxima Parque Ecológico Samuel Graham, também possui pouco fluxo de pessoas e carros. Já a maior temperatura média ocorreu no mês de outubro na localidade P4, sendo que o local tem grande concentração de comércios, paralela da avenida principal da cidade onde tem intenso fluxo de veículos e pessoas (Figura 2).

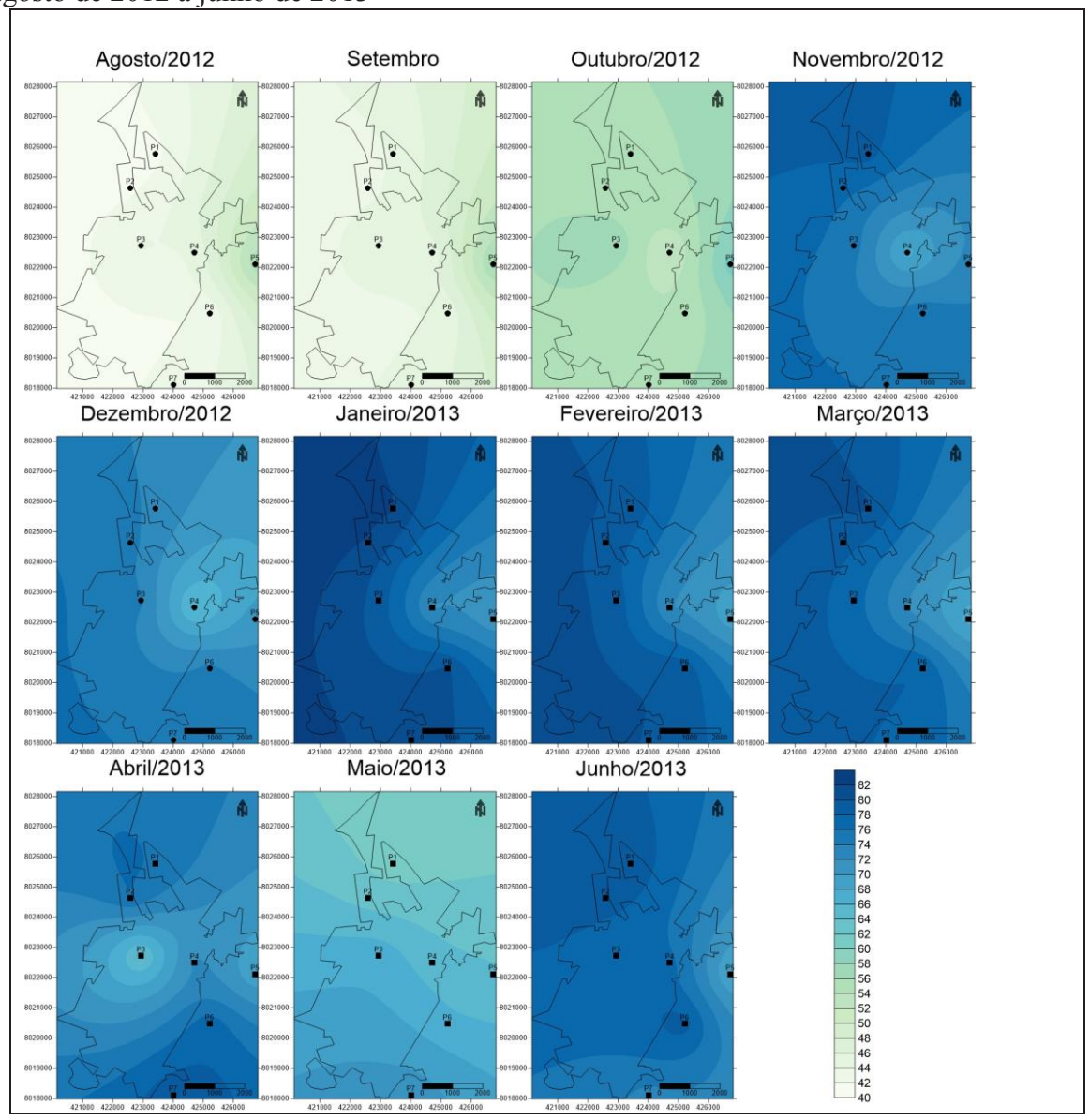
Figura 2 - Espacialização da temperatura do ar (ºC) mensal em Jataí-GO, no período de agosto de 2012 a junho de 2013



Organizado: ROCHA, J. R. (2013)

A umidade relativa do ar média no período variou entre 41 a 82%, onde o maior valor médio registrado foi no ponto P2 em janeiro com 82% e o mais baixo foi no P7 com 41% em agosto, (Figura 3).

Figura 3 – Espacialização da umidade relativa do ar (%) mensal em Jataí-GO, no período de agosto de 2012 a junho de 2013



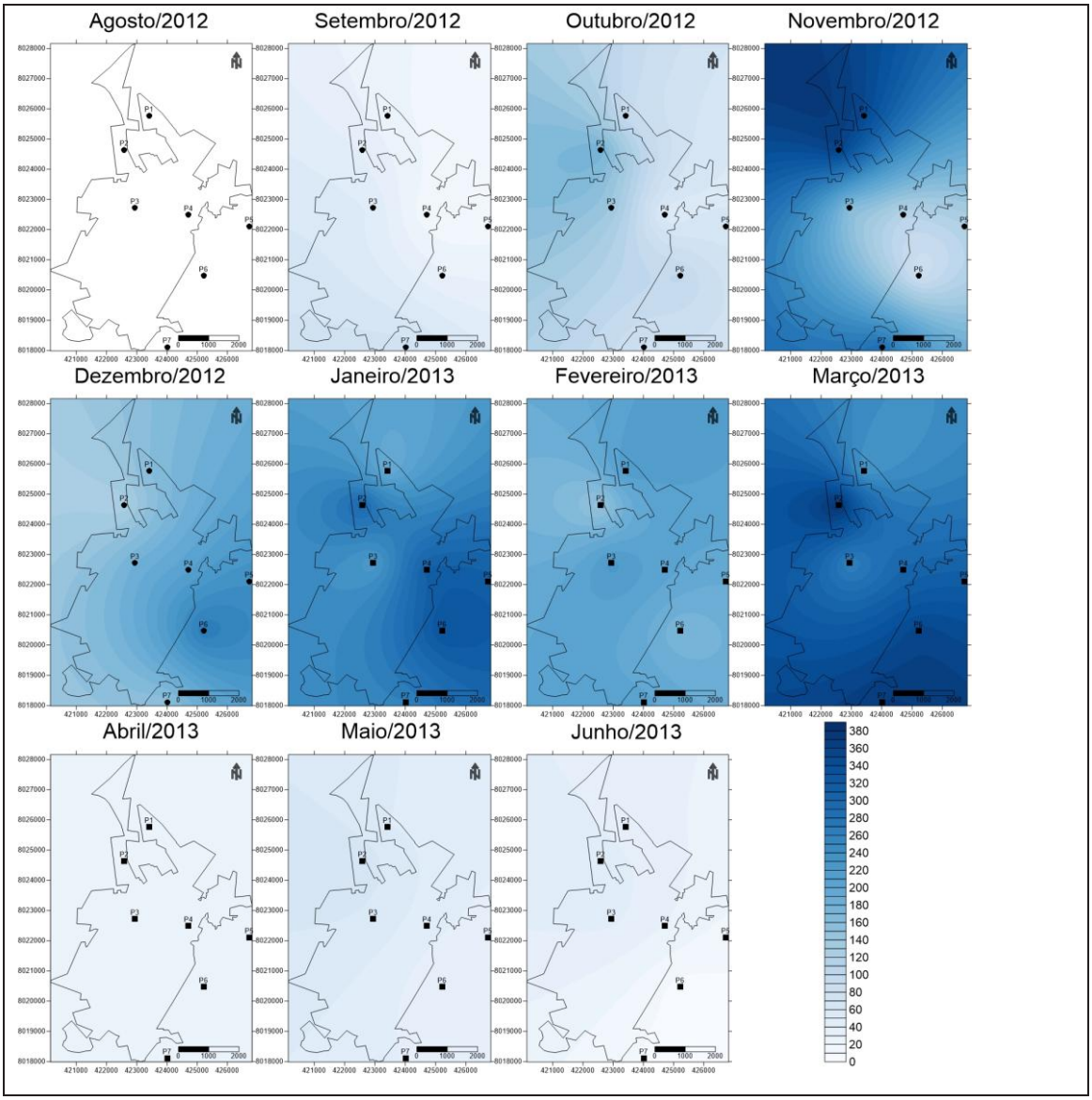
Organizador: ROCHA, J. R. (2013)

A precipitação pluvial total do período variou entre 1322 a 1760 mm entre os pontos de coleta, onde o maior valor ocorreu no P2 e a menor valor no P4.

A distribuição da precipitação pluvial durante os meses oscilou entre 0 a 383 mm, onde o mês de março teve o maior valor, nas localidades P1 (383 mm), seguido pelo P7 (371 mm), P6 (355 mm), P4 (301mm), P3 (359 mm) e P1 (231 mm), assim março teve os maiores índices pluviométricos e não foi o mês que teve os maiores casos de dengue (Figura 4), pois este aconteceu em abril (671 casos), fato confirmado pelas pesquisas de Silva (2007) de que a

reprodução da dengue não ocorre nos primeiros meses de precipitação pluvial, podendo ocorrer o surgimento da doença após o período chuvoso.

Figura 4 – Espacialização da precipitação pluvial (mm) mensal em Jataí-GO, no período de agosto de 2012 a junho de 2013



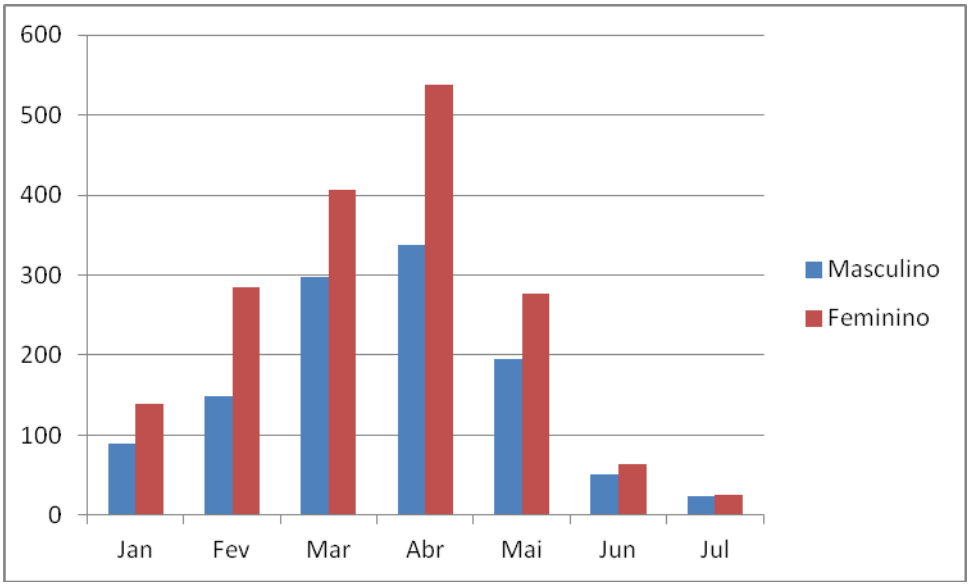
Organizador: ROCHA, J. R. (2013)

Os números de casos de dengue no período de análise, Jataí teve no total de 2027 casos de dengue confirmados, sendo abril com o maior valor (671), seguido por março (509), maio (358), fevereiro (297), janeiro (135), dezembro (19), junho (13), novembro (11), julho (5), agosto (3), outubro (2) e setembro (1), (Figura 4 e 5). Entre os meses de novembro a abril é o período chuvoso da região isso propicia uma umidade relativa do ar elevada (Figura 3), a água proveniente da chuva pode parar e acumular de diferentes formas e locais propiciando ambiente de reprodução do mosquito da dengue. Se observarmos a quantidade de casos, de

novembro a abril, notamos uma grande elevação, novembro (11), dezembro (19), janeiro (135), fevereiro (297), maio (358), março (509), abril (671). Nesse período as condições climáticas temperatura do ar e chuva são propicias para a proliferação da dengue que ocasiona maior umidade e água parada, confirmando os registros.

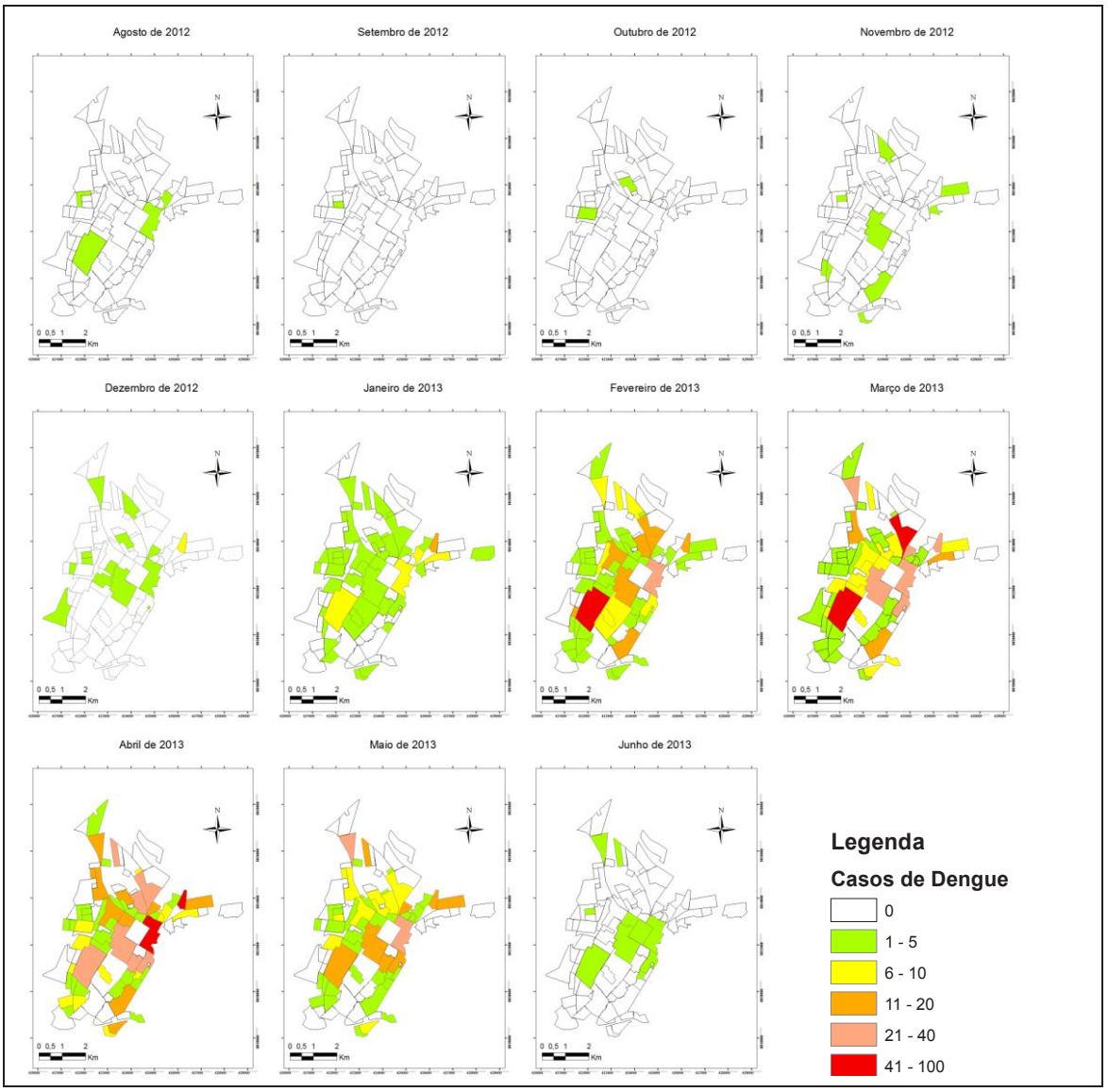
Os números de casos de dengue por sexo revelam que as mulheres são mais contaminadas do que os homens. As mulheres apresentaram um total de 1708 casos e os homens 1119 casos (Gráfico 1). Segundo Souza J. (2007) coloca que o local de transmissão da dengue é intradomicílio e extradomicílio, para isso acontecer as pessoas tem que estarem dentro de casa ou próximas, em razão das atividades domésticas estarem ainda mais ligadas ao sexo feminino elas estão mais sujeitas a contraírem a doença.

Grafico 1 - Total de casos de dengue por sexo no perio de agosto 2012 a junho de 2013 em Jataí



Fonte: Vigilância Epidemiológica Municipal de Jataí
Organizador: FELTRIN, J. C. (2013)

Figura 4 – Espacialização dos casos de dengue mensal em Jataí-GO, no período de agosto de 2012 a janeiro de 2013



Organizador: FELTRIN, J. C. (2013)

CONCLUSÕES

Conclui-se que:

a) A relação entre a variação térmica entre os pontos e o número de casos de dengue, no mês de junho de 2013, foram registrados os menores casos de dengue, totalizando 13 casos confirmados, sendo que o mês tem as temperaturas mais baixas, onde todos os pontos registraram temperaturas próxima a 20°C, confirmando o estudo feito pois este coloca que as temperaturas mais propícias para a dengue é próximo dos 28°C;

b) Os meses com valores de precipitação pluvial alta, tivemos aumento de casos de dengue, devido que a umidade estava com valores muito médios de 70%, e a temperatura do ar média em 25°C.

c) Pode-se dizer que a temperatura e a umidade na cidade de Jataí contribuem muito para elevar os casos de dengue, uma vez que as mesmas juntas proporcionam melhores condições para a o aparecimento da dengue, conforme confirmado por Souza R. (2008), reforçando a existência da relação de chuvas, umidade e temperatura do ar e os casos de dengue.

d) Os bairros que apresentaram os maiores números de casos acima de 100 foram, Centro (143 casos), Vila Fátima (141 casos), Setor Jacutinga (114 casos), Dom Abel (101casos) e os menores com menos de 5 casos foram Setor Colinas (5), Jardim America e Fernandes (5), Setor Sul (5), Por do Sol (5), Dom Benedito (5), Primavera (4), Jardim Floresta (4), Setor Industrial (3), Espaminombas II (2), Alto das Rosas (2), Três Marias (2), Santa Maria II (2), Residencial das Brisas (2), Residencial Sitio de Recreio Alvorada (2), Setor Cordeiro (2), Residencial Bandeirantes (2), Condomínio Barcelona (2), Morada do Sol (1), Setor Aibire (1).

REFERÊNCIAS

AYOADE, J. O. **Introdução à climatologia para os trópicos**. 11 ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2006.

CARVALHO, M. S.; PINA, M. de F; SANTOS, S. **Conceitos básicos de Sistemas de Informação Geográfica e Cartografia aplicados à saúde**. Brasília: OPAS, 2000. Disponível em: < http://www.bvsde.paho.org/cursode/fulltext/Livro_cartog_SIG_saude.pdf >. Acesso em: 07 set. 2013.

COSTA, M. A. R. **A ocorrência do Aedes Aegypti na região noroeste do Paraná**: um estudo sobre a epidemia da dengue em Paranavaí - 1999, na perspectiva da geografia médica. 2001. 214 f. (Mestrado em Geografia) Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista. Presidente Prudente: FCT/UNESP, 2001.

LEITE, S. C. C. **Sistema de informações geográficas para o monitoramento da hipertensão arterial no programa saúde da família (PSF)**. 2008. 66 f. Monografia (Trabalho final de curso de Tecnologia em Geoprocessamento) Centro Federal de Educação Tecnológica da Paraíba – CEFET-PB. João Pessoa, 2008.

LOMBARDO, M. A. **Ilha de calor nas metrópoles:** o exemplo de São Paulo. São Paulo: Hucitec, 1985.

MARIANO, Z. F.; SCOPEL, I. **Períodos de deficiências e excedentes hídricos na região de Jataí/GO**. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 12, REUNIÃO LATINO-AMERICANO
DE AGROMETEOROLOGIA 3, **Anais...** Fortaleza-CE: SBAGRO, 2001. p. 333 a 334.

SOUZA, J. MARIANO, Z. de F. SCOPEL, I. A influência do clima urbano na proliferação do mosquito *Aedes aegypti* em Jataí (GO) na perspectiva da geografia médica. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, Uberlândia, v. 2. n. 5, p. 33-46, 2007. Disponível em: <www.hygeia.ig.ufu.br/>. Acesso em: 25 jun. 2013.

SOUZA, R. R. A propósito de um mapeamento da epidemia de dengue na cidade de Cuiabá, MT. **Revista Geográfica Acadêmica,** Goiânia, v.2 n.1, p. 73-87, 2008. Disponível em: < http://rga.ggf.br/index.php?journal=rga&page=article&op=viewFile&path%5B%5D=20&path%5B%5D=21>. Acesso em: 23 dez. 2012.

Índice de perfuração de luvas de procedimento/cirúrgica utilizadas por trabalhadores do expurgo de um Centro de Material e Esterilização

Júnnia Pires de Amorim Trindade[1]; Anaclara Ferreira Veiga Tipple[2]
Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás
Endereço eletrônico: junniatrindade@gmail.com; anaclara@fen.ufg.br

Resumo: Os trabalhadores de Centro de Material e Esterilização (CME) estão constantemente expostos ao risco biológico, pelo manuseio de secreções orgânicas, especialmente durante a limpeza manual de artigos. O uso dos equipamentos de proteção individual (EPI) durante o processo de limpeza torna-se fundamental para minimizar o risco de contato direto da pele e mucosas com matéria orgânica. O objetivo do estudo foi identificar a incidência de perfurações em luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe de enfermagem durante a realização da limpeza de artigos. Trata-se de um estudo transversal, descritivo e quantitativo realizado em um CME de um hospital de ensino de grande porte em Goiânia – GO no período de outubro a novembro de 2012. Foram avaliadas 300 luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe responsável pela limpeza manual de artigos no expurgo (grupo A), 100 luvas de procedimento e 100 cirúrgicas novas (grupo B) e 3 pares de luvas nitrílicas utilizadas por acadêmicos de enfermagem (grupo C). Entre as luvas do grupo A, 135 (45,0%) estavam perfuradas. O maior percentual de perfuração foi localizado nas luvas utilizadas na mão esquerda, apresentando 70 (51,5%) perfurações. O tempo de utilização influenciou no índice de perfuração das luvas. Não foram encontradas perfurações no grupo B. No grupo C, foram identificadas 4 perfurações de um total de 288 horas de uso. Verificamos que as luvas cirúrgicas/procedimento são inadequadas para o processo de limpeza manual de artigos, constituindo uma barreira ineficaz na segurança dos trabalhadores, que são usualmente expostos ao risco de contaminação por agentes biológicos.

Palavras-chave: Enfermagem; Exposição a agentes biológicos; Risco ocupacional; Equipamentos de Proteção; Saúde do trabalhador.

1. Acadêmica do 10º período de graduação da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás (FEN/UFG).

2. Enfermeira. Doutora. Enfermeira. Doutora. Professora Associada da FEN/UFG, Pesquisadora NEPIH e CNPq

Revisado pelo orientador

1. INTRODUÇÃO

Os acidentes do trabalho são os agravos à saúde do trabalhador mais documentados em todo mundo, mesmo levando em conta a subnotificação ou sub-registro do acidente, sabe-se que o risco biológico é o mais comum entre os profissionais de saúde (SARQUIS, 2008; MONTEIRO 2009).

Risco biológico é a possibilidade de contato com material biológico, como sangue ou outros fluidos orgânicos, que são potencialmente capazes de transmitir agentes biológicos patogênicos causadores de danos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2006).

Um estudo de revisão da literatura realizado por Tarantola et al (2006), identificou que três vírus (HBV, HCV e HIV) são responsáveis pela maioria dos casos de infecção ocupacional descritos na literatura devido a sua prevalência em pacientes e da gravidade das infecções que causam, porém os autores identificaram nos estudos analisados o total de 60 agentes patogênicos associados ao risco ocupacional.

Nesse sentido, os acidentes com material biológico são um grande problema entre os trabalhadores da área da saúde, que podem ser expostos por inoculação percutânea, através de agulhas ou objetos cortantes, além do contato direto com pele íntegra, não íntegra e mucosas (BRASIL, 2010).

O Centro de Material e Esterilização (CME) é definido como uma unidade funcional destinado ao processamento de produtos para saúde (PPS) dos serviços de saúde, onde são realizadas as seguintes etapas: limpeza, acondicionamento, esterilização, guarda e distribuição dos artigos (SOBECC, 2013; BRASIL, 2012).

A limpeza do artigo após seu uso remove a matéria orgânica e reduz a carga microbiana do material, sendo esta a etapa mais importante do processamento (PINTO et al, 2013).

Segundo a SOBECC (2013), a limpeza pode ser manual ou automatizada. A manual é executada com solução detergente e fricção com escovas de cerdas firmes e macias, seguida de água corrente ou sob pressão, possuindo grandes limitações, como a falta de uniformidade de execução pelos diferentes profissionais, baixa produtividade e os riscos ocupacionais biológicos e químicos.

Os trabalhadores de Centro de Material e Esterilização (CME) estão constantemente expostos ao risco biológico, pelo manuseio de secreções orgânicas, ao lavar e manusear artigos contaminados (TIPPLE, 2007). Risco que é potencializado quando a limpeza é feita de forma manual, método bastante usual em nosso país (APECIH, 2004).

O manuseio de artigos contaminados por material biológico requer a adoção de medidas de segurança pelos profissionais, sendo que o uso do EPI durante o processo de limpeza torna-se fundamental à medida que minimiza o risco de contato direto da pele e mucosas com qualquer material contaminado (TIPLLE et al, 2004; KAZUKO, 2011). Segundo a SOBECC (2013), os EPI recomendados para a limpeza manual de artigos são: luvas nitrílicas ou butílicas de cano longo, avental impermeável de manga longa, gorro, proteção de face ou máscara e óculos de proteção, botas plásticas ou impermeáveis.

Estudos verificaram que grande parte dos trabalhadores do CME de Goiânia – Goiás, não usavam os EPI recomendados para limpeza manual dos artigos quando ocorreram acidentes em que mãos e dedos foram atingidos, observando ainda que os trabalhadores do expurgo utilizavam luvas de procedimento durante a limpeza dos artigos (TIPPLE et al, 2004, 2008).

Um estudo que avaliou os acidentes com material biológico ocorridos no expurgo de um centro de material e esterilização verificou que apesar dos trabalhadores referirem ter recebido orientações sobre o uso correto de EPI, 103 (92,8%) não souberam citar quais os EPI recomendados para o trabalho em expurgo, e entre os 33 que se acidentaram, 31 (93,9%) não usavam os EPI recomendados. A maioria dos acidentes ocorreu com instrumentos perfurocortantes durante o processo de lavagem manual atingindo, predominantemente, membros superiores (Tipple et al, 2004).

Outro estudo realizado por Canalli et al (2010), verificou a ocorrência de um acidente com estudante de enfermagem durante a lavagem de artigos, identificando ainda que o estudante não utilizava as luvas grossas de borracha indicadas para a tarefa. O uso de luvas grossas não impede o acidente, mas reduz a possibilidade de lesões superficiais, comuns durante o processo de limpeza manual dos artigos, reduzindo, consequentemente o risco de contaminação por agentes biológicos (TIPPLE et al, 2003).

Os EPI resultam, por vezes, em incômodo devido à redução da sensação tátil, aumento da temperatura corpórea e dificuldade de movimentos, exigindo perseverança e reconhecimento dos benefícios do uso (CRUZ, 2009).

Nesse sentido, a realização desse estudo contribui para a compreensão da extensão do risco biológico para os trabalhadores de enfermagem que realizam a limpeza manual de artigos contaminados com secreção orgânica. Visando ampliar o escopo de conhecimentos que justificam o uso de luvas grossas e contribuir para a discussão em torno dessa prática que é muito comum, principalmente em nossa região.

2. OBJETIVO

- Identificar a incidência de perfurações em luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe de enfermagem durante a realização da limpeza de artigos.

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Trata-se de um estudo transversal, descritivo e quantitativo realizado em um Centro de Material e Esterilização de um hospital de ensino de grande porte em Goiânia – GO.

O CME da instituição é centralizado, ou seja, a unidade de processamento de produtos para saúde atende a mais de um serviço de saúde do mesmo gestor e acontece na mesma unidade (BRASIL, 2012), sendo subdividida em três grandes áreas separadas por uma barreira física. São elas, a área suja, composta pelo expurgo e a área limpa, composta pelo preparo, dobradura, esterilização e a área responsável pela guarda e distribuição de artigos. Além dessas, ainda possui o setor de desinfecção química que atende a demanda de todo o hospital.

Procedimento de obtenção das luvas

Foram avaliadas luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe responsável pela limpeza manual de artigos no expurgo de um Centro de Material e Esterilização (CME) de um hospital escola de Goiânia, Goiás. A coleta foi realizada nos meses de outubro a novembro de 2012 e foram avaliados os seguintes grupos de luvas:

- Grupo A: Luvas em uso pelos trabalhadores para a limpeza manual dos artigos. Para definição da amostra foi realizado um cálculo amostral baseado no consumo mensal de luvas do expurgo, com intervalo de confiança de 10%, que indicou uma amostra de 280 luvas e foram analisadas 300 luvas.
- Grupo B: 100 luvas de procedimento e 100 luvas cirúrgicas da mesma marca e tamanho
- Grupo C: Seis luvas nitrílicas grossas utilizadas por acadêmicos do 4º período do curso de graduação em enfermagem, durante o período do estudo. As luvas nitrílicas não são descartáveis e após cada uso são processadas para reuso.

A coleta foi realizada nos finais de turno de trabalho das 12:00 às 14:00 e das 17:00 às 20:00 em dias alternados e totalizou 25 vezes de acesso à unidade de expurgo do hospital. O

expurgo, local do estudo, possuía grandes janelas de vidro dividindo a parede lateral com um corredor de acesso que permitia a visualização da unidade externamente, desse local o pesquisador observava o término das atividades para paramentar-se e entrar na unidade. Momento que solicitava a disponibilização das luvas.

Foi verificado que, a maior parte dos trabalhadores utilizava mais de uma luva em cada mão que variou de duas a quatro. Sendo assim, solicitou-se que ao retirar a luva, o trabalhador depositasse as mesmas em sacos plásticos identificados de acordo com a ordem de retirada. Foi considerada a mais externa como a de "número 1" e assim, sucessivamente.

Os sacos de coleta das luvas também foram identificados como direito e esquerdo correspondente à mão de utilização das luvas e tempo de utilização de cada luva, considerando a possibilidade de troca das mais externas.

O índice de perfuração foi avaliado por inspeção visual e para facilitar a visualização dos pontos de perfuração foi utilizada a solução de azul de metileno na concentração de 1,0 ml em 1000 ml de água. Os volumes para o preenchimento das luvas foram estabelecidos após testagem prévia dos diferentes tamanhos de luvas, considerando como limite dois centímetros abaixo da abertura da luva.

Foram contabilizados como perfurações todos os pontos onde houve o vazamento de água após aplicação de leve compressão, primeiramente da palma e posteriormente os dedos um a um. Foi adotado esse procedimento considerando o estudo realizado por MACHADO et al (2008) avaliou a eficácia dos testes empregados na detecção de perfurações em luvas cirúrgicas, revelando que o teste de inspeção visual pelo vazamento de água após compressão foi o que detectou maior número de perfurações. As luvas coletadas eram analisadas no expurgo do CME após o turno de trabalho.

Procedimento para avaliação das luvas

As luvas de procedimento/cirúrgicas foram identificadas de acordo com o tempo e ordem de utilização, lote e tamanho.

Após o término do processo de limpeza foram realizadas as etapas seguintes para as luvas do grupo A, no expurgo do Centro de Material e Esterilização:

- Paramentação adequada do pesquisador para o acesso á área de expurgo (capote, avental impermeável, máscara e óculos, sapato fechado e luvas grossas de borracha);

- Coleta das luvas em sacos para resíduos infectantes, identificados de acordo com a ordem de utilização, o tempo de utilização e a mão em que foi utilizada (direita ou esquerda);

- Pré-enxágue das luvas em água corrente;

- Diluição de azul de metileno na concentração de 1,0 ml em 1000 ml de água;

- Preenchimento das luvas com o volume respectivo ao tamanho.

- Aplicação de leve compressão da palma e posteriormente dos dedos um a um.

- Preenchimento do roteiro de coleta que contemplava os itens: tipo da luva (cirúrgica ou procedimento), lote, data, hora de início e término da utilização da luva e figura ilustrativa das mãos para marcação dos pontos de perfuração.

- Esvaziamento das luvas e descarte recipiente para resíduo infectante (saco branco leitoso com o símbolo de infectante).

As luvas dos grupos B e C foram submetidas aos mesmos procedimentos descritos acima, sendo as cirúrgicas e de procedimento descartadas em recipientes para lixo comum. Para a avaliação das luvas nitrílicas foi considerado o tempo de uso pelo aluno nos respectivos dias de atividade prática. Todos os dias durante o período de estudo em que houve atividade prática as luvas foram avaliadas. As luvas eram solicitadas aos alunos e após a avaliação aquelas que estavam integras eram lavadas e armazenas para próximo uso e as perfuradas eram substituídas por novos pares da mesma marca e tamanho.

Os dados foram processados no programa SPSS – *Statistical Package for the Social Sciencies,* versão 19.0. Para comparação entre os dois grupos foi utilizado o teste X^2 e os valores $p > 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

Durante o período de realização do estudo observamos que todos os trabalhadores utilizavam luvas de procedimento/cirúrgicas para o processo de limpeza manual dos artigos. As luvas avaliadas foram utilizadas por diferentes trabalhadores que atuavam no CME que em 75 oportunidades disponibilizaram suas luvas para análise, sendo que um mesmo trabalhador disponibilizou suas luvas mais de uma vez. A figura 1 mostra detalhes da obtenção das luvas.

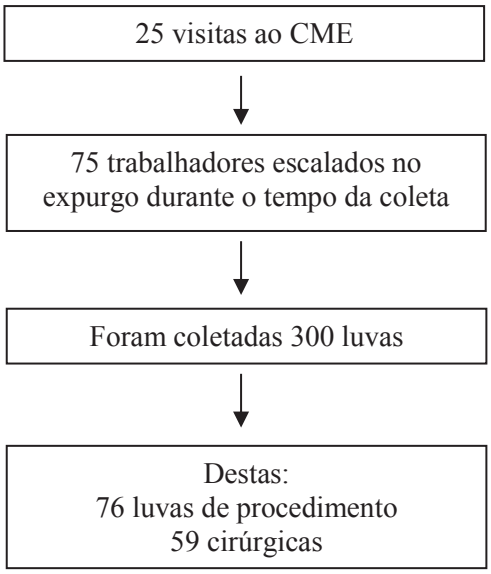


Figura 1 – Detalhamento do modo de obtenção de luvas de procedimentos/ cirúrgicas utilizadas por trabalhadores da unidade de expurgo em um Centro de Material e Esterilização e analisadas quanto ao índice de perfuração. Goiânia – GO, 2012

Foram avaliadas 300 luvas do grupo A, dessas 135 (45,0%) estavam perfuradas. Entre as luvas do grupo B (100 luvas de procedimento e 100 luvas cirúrgicas da mesma marca e tamanho das luvas do grupo A), não foram encontradas perfurações.

Com relação às luvas do grupo C, das seis luvas novas colocadas em uso no início das atividades práticas dos alunos, três permaneceram íntegras até o último dia do último grupo de prática, totalizando 288 horas de uso (17.280 min). As demais apresentaram perfurações e foram substituídas, sendo que a primeira perfuração ocorreu após 6 (2,08%) horas de uso. O total de luvas avaliadas foi de 12, pois houve caso de perfuração em luva já substituída.

A tabela 1 mostra os índices de perfuração das luvas de acordo com o tipo.

Tabela 1. Frequência das luvas de procedimento/cirúrgica (n=300) perfuradas durante o processo de limpeza manual de artigos no expurgo de um Centro de Material e Esterilização de um Hospital de ensino. Goiânia – GO, 2012

Tipo de Luva	**Índice de Perfuração**							
	Sim		**Não**		**Total**		**X²**	***p***
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**		
Procedimento	76	44,2	96	55,8	172	42,5	0,108	0,743
Cirúrgica	59	46,1	69	53,9	128	57,5	0,108	0,743
Total	135	45,0	165	55,0	300	100,0	0,108	0,743

Entre as luvas avaliadas no grupo A, 172 (57,3%) eram de procedimento e 128 (42,9%) cirúrgicas e não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Do total de luvas perfuradas (136 /45,2%), o maior percentual de perfuração foi identificado nas luvas utilizadas na mão esquerda comparado à direita, que apresentaram respectivamente, 70 (51,5%) e 66 (48,5%) e x^2 0,310 e p 0,577, não tendo relevância estatística.

Não foram encontrados perfurações na região do dorso da luva, todas foram localizadas na face interna das mãos. Os locais com os maiores índices de perfuração foram polegar 62 (42,5%), palma 49 (32,6%) e dedo indicador com 48 (32,0%), conforme demonstra a Tabela 2.

Tabela 2 – Caracterização das luvas de procedimento/cirúrgicas perfuradas (N=135) durante o procedimento de limpeza manual de artigos realizada por trabalhadores da área de expurgo de um Centro de Material e Esterilização. Goiânia - GO, 2012

Locais de perfuração em luvas cirúrgicas/procedimento	Direita		Esquerda		Total	
	n	%	n	%	n	%
Face posterior						
Polegar	24	15,8	38	25,7	62	42,5
Indicador	21	13,8	27	18,2	48	32,0
Médio	16	10,5	17	11,5	33	28,5
Anelar	16	10,5	12	8,1	28	18,6
Dedo mínimo	7	4,6	6	4,1	13	8,7
Face anterior	0	0	0	0	0	0
Palma da mão	25	16,4	24	16,2	49	32,6
Punho	3	2,0	4	2,7	7	4,7

Do total de luvas analisadas do grupo A, verificou-se que em 17 (22,6%) oportunidades os trabalhadores usavam pares de luvas simples e 58 (77,4%) usavam luvas sobrepostas. Nas oportunidades em que os trabalhadores utilizavam luvas simples, em 13 (76,4%) as luvas estavam perfuradas.

Nas oportunidades em que os trabalhadores utilizavam luvas sobrepostas, em 12 (20,6%) observou-se perfurações apenas nas luvas externas e em 34 (58,6%) nas luvas externas e internas. Em dois (3,4%) casos, a luva externa estava íntegra e as luvas subsequentes (internas) perfuradas.

A tabela 4 distribui as perfurações encontradas conforme o tempo de uso das luvas, sendo que o menor tempo de duração foi de 60min e o maior de mais de 181min. Houve

relevância estatística entre o número de perfurações e o tempo de utilização das luvas ($p < 0,05$), demonstrando que, quanto maior o tempo de uso, maior o número de perfurações.

Tabela 4. Distribuição da ocorrência de perfuração (N=135) conforme o tempo de utilização da luva de procedimento/cirúrgica utilizadas por trabalhadores do expurgo após a limpeza manual de artigos. Goiânia - GO, 2012

Tempo de utilização das luvas	Luvas perfuradas				X^2	*p*
	Sim		Não			
	N	%	N	%		
Até 60min	31	23,0	50	30,3	2,030	0,154
61 a 120min	38	28,1	62	37,6	2,970	0,085
121 a 180min	48	35,6	37	22,4	6,305	**0,012**
Mais de 181min	18	13,3	16	9,7	0,977	0,323
TOTAL	135	45,0	165	55,0	8,538	**0,031**

5. DISCUSSÃO

Os trabalhadores da área de CME, local do estudo, utilizavam luvas de procedimento e/ou cirúrgica para a lavagem manual dos artigos, sendo comum a sobreposição das luvas cirúrgicas sobre as de procedimento, entretanto quando comparados o índice de perfuração não observamos diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), portanto para a lavagem dos artigos manualmente, ambas não oferecem segurança ao trabalhador e são contraindicadas para a atividade (BRASIL, 2012; SOBECC, 2013). Vale destacar que os EPI são recomendados de acordo com o risco de exposição envolvido (BRASIL, 2005) e para limpeza manual são indicadas luvas nitrílicas ou butílicas, que conferem maior proteção ao trabalhador (SOBECC, 2013).

A SOBECC (2013) recomenda ainda que a indicação de limpeza manual deve se restringir apenas a materiais delicados que não suportam o uso de métodos automatizados, uma vez que os riscos ao trabalhador são potencializados quando a limpeza é realizada manualmente. Além disso, a limpeza automatizada possibilita a reprodutividade do processo, controle dos parâmetros e minimiza os riscos ocupacionais.

O estudo demonstrou que do total de 300 luvas analisadas, 45,0% estavam perfuradas. Não foram encontrados na literatura estudos semelhantes, porém estudos realizados com luvas estéreis durante procedimentos cirúrgicos demonstraram índices menores e variáveis de

perfuração de 11,9% a 16,3% (SOLDÁ et al, 2009; MURTA et al, 2000; SERRATINE et al, 2007)

No grupo B, constituído de luvas novas, não constatamos perfurações, corroborando com um estudo realizado por SERRATINE et al, (2007) que não identificou perfuração em 40 pares de luvas novas de um grupo controle. Em contrapartida, outros estudos demonstraram haver perfurações (1,0% e 1,7%) decorrentes do processo de fabricação de luvas, respectivamente (LOPES et al, 2009; MURTA et al, 2000).

Avaliações de luvas em procedimentos cirúrgicos evidenciaram maior incidência de perfuração na mão esquerda (MURTA, et al, 2000; SERRATINE, 2007) o que coincide com os achados desse estudo e que corresponde à mão que o trabalhador segura o artigo para a limpeza manual, e os locais de perfuração mais frequentes contribuem para essa análise, polegar (42,5%), palma (32,6%) e indicador (32,0%).

Ao analisar as perfurações conforme o tempo de utilização das luvas verificou-se que houve diferença significativa, quanto maior o tempo de uso maior o índice de perfuração ($p < 0,05$). Resultado semelhante foi observado em outros estudos com luvas cirúrgicas que constataram que o tempo de utilização interfere com a manutenção da integridade das luvas de látex, sendo que o número de perfurações é significativamente maior após duas horas de uso (MISTELI et al, 2009; LOPES, 2009).

Quanto à utilização de luvas múltiplas observada nesse estudo foi interessante observar que o maior índice perfuração ocorreu concomitantemente nas luvas internas e externas. Não encontramos estudos semelhantes ao nosso, mas existem estudos que demonstram a eficácia da utilização de duas luvas em diminuir o risco de contato com sangue e secreções em procedimentos cirúrgicos, pois as perfurações costumam ocorrer com maior frequência apenas na luva externa (LARS et al, 2000; MISTELI et al, 2009). Thomas et al (2001) estudando a frequência de perfurações em 66 procedimentos cirúrgicos, concluiu que em 82% dos casos quando a luva exterior é perfurada, a luva interior protegerá a mão do profissional.

Outro estudo realizado por Na'aya et al (2009) em que foram analisados 1.120 luvas, dos quais 240 pares eram conjuntos duplos e 880 simples, concluiu que apenas 2,3% tinham perfurações em ambas as luvas externas e internas do grupo de luvas duplas. Por conseguinte, houve um risco significativamente maior para a exposição de pele de sangue nos conjuntos individuais de luvas ($p < 0,01$).

Dessa forma, para a limpeza manual de artigos observou-se nesse estudo, que a sobreposição das não contribuiu para redução dos índices de perfuração das internas, pois na maioria das vezes, as duas luvas possuíam perfurações configurando em riscos ao trabalhador.

É integrante observar as oportunidades (3,4%), nas quais as luvas internas estavam perfuradas enquanto que as externas estavam integras. Fato que leva à suspeição de que diante da constatação da ocorrência de perfuração, o trabalhador retirava apenas as luvas externas e procedia nova sobreposição. O estudo não permite avaliar o risco potencial envolvido que dependerá de cada situação, mas existe a possibilidade de haver retenção de matéria orgânica nessa condição observada.

Em todas as 25 vezes que foi realizada a coleta os trabalhadores utilizavam luvas de procedimento/ cirúrgicas evidenciando nessas oportunidades a não adesão às luvas grossas recomendas para a atividade (SOBECC, 2013). Portanto, o estudo reforça que embora as luvas cirúrgicas ajustem melhor às mãos e confiram maior destreza são inapropriadas para a realização do processo manual de limpeza dos artigos, (TIPPLE, 2007).

A limpeza é a etapa fundamental do processamento de artigos, mas apesar de sua relevância essa atividade é considerada de menor importância, sem necessidade de treinamento e supervisão. Essa crença favorece a ocorrência de falhas no processo que acaba sendo delegado a pessoas despreparadas, desmotivadas e desvalorizadas (UCHIKAWA, 2011). Para Rapparine e Reinhardt (2010) a baixa adesão a alguns EPI se deve ao fato de que os trabalhadores têm dificuldade em alterar práticas antigas que já se tornaram hábitos e acreditam que o risco de ser vítima de acidente envolvendo material biológico é inexistente ou mínimo.

As luvas nitrílicas grossas são as recomendadas (BRASIL, 2005; SOBECC, 2013), para limpeza manual de artigos. De fato observou-se que três luvas foram usadas subsequentemente por 288horas o que corresponde 17.280 e poderia permanecer em uso não o fim do período acadêmico. Entretanto, o estudo mostrou que as luvas nitrílicas também são passíveis de perfurações durante as atividades desenvolvidas na etapa de limpeza manual de artigos. E, vale ressaltar que as perfurações ocorridas nessas luvas não foram percebidas, elas já haviam sido processadas para uso subsequente quando foram submetidas ao teste de vasamento, o que pode levar a uma falsa sensação de segurança.

Nesse sentido, no nosso ponto de vista, urge a necessidade de substituição da limpeza manual por métodos automatizados, que além de uma lista de vantagens para a segurança do processamento e, portanto dos usuários, reduz o risco ao trabalhador (SOBECC, 2013). E, por

conseguinte faz valer um dever ético e moral dos serviços de saúde de preservar a saúde dos seus trabalhadores.

6. CONCLUSÃO

O estudo analisou 300 luvas procedimento/ cirúrgicas utilizadas para limpeza manual de artigos em um CME e demonstrou que, dessas, 135 (45,0%) estavam perfuradas. Não foram encontradas perfurações no grupo controle (B) e as luvas nitrílicas (grupo C) apresentaram 4 perfurações de um total de utilização de 288 horas.

Os locais com os maiores índices de perfuração polegar 62 (42,5%), palma 49 (32,6%) e dedo indicador com 48 (32,0%). O tempo elevado de utilização das luvas aumentou a probabilidade de perfurações.

O estudo reforça que as luvas cirúrgicas/procedimento são inadequadas para o processo de limpeza manual de artigos, constituindo uma barreira ineficaz na segurança dos trabalhadores da área de limpeza em CME. A sobreposição de luvas pode incorrer numa falsa noção de segurança pois foram identificadas situações nas quais o trabalhador utilizava dois, três e quatro pares de luvas e todas estavam perfuradas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O elevado índice de perfuração das luvas utilizadas por profissionais na área de expurgo de um CME é preocupante, pois os trabalhadores de CME estão expostos a secreções orgânicas, especialmente uma alta carga de sangue, ao lavar e manusear artigos cirúrgicos. Sabe-se que qualquer quantidade de contato com sangue pode ser suficiente para a transmissão de patógenos, desde que ocorra o rompimento da barreira cutânea. E, embora não tenha sido avaliado nesse estudo, seus resultados permitem inferir essa possibilidade.

Compreende-se que os estabelecimentos de saúde têm responsabilidade de gerir o risco biológico dos seus trabalhadores e nessa direção, frente aos achados desse estudo, devem empreender esforços para a substituição do método de limpeza manual pelo automatizado.

Existe hoje no Brasil uma rigorosa legislação que exige que os perfurocortantes sejam substituídos por equipamentos com dispositivos de segurança. O que é considerado um avanço, na medida em que divide com o “empregador” a responsabilidade com o acidente

com material biológico, cuja culpa sempre foi atribuída ao trabalhador. Nesse sentido e frente aos achados desse estudo, cabe aqui um questionamento; não teria a mesma finalidade uma lavadora automática? A substituição da limpeza manual por métodos automatizados não deveria ser uma exigência para todos os serviços de saúde? Certamente teria um impacto nos índices de acidentes em CME, mas os benefícios extrapolam em muito esse aspecto e poderíamos citar outros de ordem individual como a redução da carga de trabalho na unidade, a qualidade do trabalho atrelada à questão da salubridade; de ordem econômica como o tempo gasto e o desperdício de insumos na limpeza manual. E, outro aspecto de importância fundamental, a qualidade da limpeza por métodos automatizados que está diretamente relacionada à qualidade da esterilização e, portanto à segurança dos usuários.

7. REFERÊNCIAS

1. Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar – APECIH. **Precauções e Isolamento.** São Paulo; 2004.

2. BRASIL. Agência de Vigilância Sanitária. RDC nº 15, de 15 de março de 2012. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências, 2012.

3. BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para Atendimento e Acompanhamento de Exposiçao Ocupacional a Material Biológico : HIV e Hepatites B e C**, Brasília, 2010, 57 p.

4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Exposição a materiais biológicos,** Brasília, 2006, 76 p.

5. BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 485, de 11 de Novembro de 2005. NR 32 - Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 nov. 2005. Disponível em: <http://www.mte.gov.br/legislaçao/normas_regulamentadoras/nr_32.pdf>. Acesso em: 02 de agosto de 2013.

6. CANALLI, R.T.C; MORIYA, T.M; HAYASHIDA, M. Acidentes com Material biológico entre Estudantes de Enfermagem. **Rev. enferm. UERJ,** Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 254-69, 2010.

7. CRUZ, E.D.A. Comportamento Preventivo do Risco Ocupacional Biológico em Centro de Material e Esterilização. **Ciênc. Biol. Saúde,** v. 11, n. 4, p. 5-8, 2009.

8. GRAZIANO, K. U.; CASTRO, M. E. S.; MOURA, M. L. P. A. A importância do procedimento de limpeza nos processos de desinfecção e esterilização de artigos. **Rev. SOBBEC,** v. 7, n. 3, p. 9-23, 2002.

9. LARS, P.S.N; GOTTRUP, F. Incidence of glove perforations in gastrointestinal surgery and the protective effect of double gloves: a prospective, randomised controlled study. **European Journal of Surgery,** v. 166, n. 4, p. 293-295, 2000.

10. LOPES, N et al. Análise da permeabilidade das luvas de látex para procedimento mais utilizadas por alunos da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. **R. Ci. méd. biol.,** Salvador, v.8, n.2, p. 206-212, mai./ago. 2009.

11. MACHADO, E.; Avaliação dos testes empregados para detecção de perfurações em luvas cirúrgicas. **Arquivos Catarinenses de Medicina,** v. 37, n. 3, 2008.

12. MISTELI, H, et al. Surgical Glove Perforation and the Risck of Surgical Site Infection. **Arch Surg,** v. 144, n. 6, p. 553-558, 2009.

13. MONTEIRO, C.M; BENATTI, M.C.C; RODRIGUES, R.C.M. . Acidente do trabalho e qualidade de vida relacionada à sáude: um estudo em três hospitais. **Rev. Latino-Am. Enfermagem,** Ribeirão Preto, v. 17, n. 1, 2009 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-11692009000100016&script=sci_arttext&tlng=pt

14. MURTA, E.F.C.; SILVA, C.S.; FERREIRA, N.A.F.D.; Perfuração de Luvas durante Cirurgias Ginecológicas. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet**. v.22, n. 4, 2000.

15. NA'AYA H.U; MADZIGA, A.G; ENI, U.E. Prospective randomized assessment of single versus double-gloving for general surgical procedures. Niger J Med, v. 18, n. 1, p.73-4, 2009.

16. PINTO, M.B; VILAAS-BOAS, V.A; FREITAS, M.I.P. Validação do processo de limpeza de artigos odonto-médico-hospitalares: uma revisão integrativa. **Rev. SOBECC,** n. 18, n. 1, p. 64-72, 2013.

17. RAPPARINI, C.; REINHARDT, E. L. Manual de implementação: programa de prevenção de acidentes com materiais perfurocortantes em serviços de saúde. São Paulo: Fundacentro, 2010. Disponível em: <www.riscobiologico.org>; acesso em: 21 de julho de 2012. 161p.

18. SARQUIS, L.M.M; FELLI, V.E.A. Recomendações em saúde aos trabalhadores expostos a fluidos biológicos. **REME,** v. 12, n. 3, p. 381-9, 2008.

19. SERRATINE, A.C.P; PACHECO, E.; MIERO, M.; Avaliação da Integridade das luvas Cirúrgicas após a utilização em cirurgias odontológicas. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 36, n. 1, 2007.

20. Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização. **Práticas Recomendadas,** SOBECC, 6ª Ed, São Paulo, 2013.

21. SOLDA, S.C, et al; Perfurações não detectadas de luvas em procedimentos de urgência. **Rev Assoc Med Bras,** v. 55, n. 5, p. 597-600, 2009.

22. TARANTOLA, A.; ABITEBOUL, D.; RACHLINE, ANNE. Infection risks following accidental exposure to blood or body fluids in health care workers: A review of pathogens transmitted in published cases. **Am J Infect Control,** v. 34, n. 6, p. 367-75, 2006.

23. THOMAS, S; AGARWAL, M; MEHTA, G. Intraoperative glove perforation—single versus double gloving in protection against skin contamination. **Postgrad Med J**, v. 77, p. 458-460, 2001.

24. TIPPLE, A. F. V. et al. O Ensino do Controle de Infecção: um ensaio teórico-prático. **Rev. Latino Am. Enf.,** v. 11, n. 2, p. 245-250, 2003.

25. TIPPLE, A.F.V, et al; Acidente com material biológico entre trabalhadores da área de expurgo em centros de material esterilização. **Acta Scientiarum,** v. 26, n. 2, p. 271-278, 2004.

26. TIPPLE, A.F.V, et al; Equipamentos de proteção em centros de material e esterilização: disponibilidade, uso e fatores intervenientes à adesão. **Cienc Cuid Saude,** vol. 6, n. 4, p. 441-448, 2007.

27. TIPPLE, A.F.V, et al; O trabalhador sem formação em enfermagem atuando em centro de material e esterilização: desafio para o enfermeiro. **Rev Esc Enferm USP**, v. 29, n. 2, p. 173-180, 2005.

28. UCHIKAWA, K; SILVA, A; PSALTIKIDIS, E.M. Enfermagem Em Centro de Material e Esterilização. 1ª Edição. São Paulo: Manole, 2011. 440p.

Degradabilidade in vitro de dieta 50:50 (v:c) em inóculo ruminal contendo óleo de *Pterodon emarginatus*

Jéssica Carneiro Pimenta[1], Juliano José de Resende Fernandes[2], Barbara Juliana Martins Lemos[3], Flávia Martins de Souza[3], Alexandre Arantes Miszura[4]

[1] Orientanda do projeto de iniciação científica (PIBIC), e-mail: pamcorreia@gmail.com.

[2] Orientador Professor Doutor da Universidade Federal de Goiás, Goiânia e-mail: juliano@vet.ufg.br.

[3]Programa de Pós Graduação em Zootecnia, EVZ/UFG

[4]Aluno de graduação da Escola de Veterinária e Zootecnia, UFG

Escola de Veterinária e Zootecnia/Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia. Caixa postal 131 – CEP: 74001-970 – Goiânia – GO, Brasil.

RESUMO

O mercado cada vez mais exigente, o qual proibiu o uso de antimicrobianos como promotores de crescimento, fez com que se buscasse por novas alternativas e é nesse contexto que o extrato de plantas nativas é inserido, um bom exemplo de planta com ação antimicrobiana é o *Pterodon emarginatus* (Sucupira), esta planta se mostra uma potente modificadora da fermentação microbiana ruminal. Com isso esse trabalho visa avaliar a degradabilidade in vitro de dieta 50:50 (v:c) incubada em inóculo ruminal contendo óleo extraído de *Pterodon emarginatus* (Sucupira). O óleo foi testado em doses de 0, 30, 300 e 3.000 ppm, sendo que as duas maiores doses foram capazes de alterar a cinética da degradação ruminal.

Palavras-chave: Degradação ruminal, *Pterodon emarginatus*, inoculo ruminal.

INTRODUÇÃO

Os microrganismos presentes no rúmen degradam nutrientes dos alimentos produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e proteína microbiana que fornecem energia e proteína para o organismo animal. A fermentação tem perdas de energia na forma de metano e ineficiência na síntese de proteína por perdas de nitrogênio amoniacal (N-NH3) que podem limitar o desempenho produtivo e liberar poluentes no ambiente (BUSQUET et al. 2006; CALSAMIGLIA et al., 2007). Entre 8 e 12% da energia digestível ingerida pelos

-Revisado pelo orientador-

ruminantes é perdida no rúmen, e de 75% a 85% do nitrogênio consumido por vacas leiteiras é excretado nas fezes e urina (BUSQUET et al., 2006).

Segundo CASTILLEJOS et al. (2006) antibióticos ionóforos reduzem perdas de energia e proteínas no rúmen, entretanto seu uso na alimentação animal tem reduzida aceitação da sociedade, sendo proibido na União Europeia desde 2006. Desta forma, há a necessidade de desenvolver alternativas, para o controle de microrganismos específicos moduladores da fermentação ruminal.

O metabolismo secundário das plantas produz substâncias que não influenciam diretamente seu desenvolvimento (CALSAMIGLIA et al., 2007), como os óleos essenciais que são componentes voláteis e os taninos (YANG et al., 2007). Estes são relacionados com funções de sobrevivência, como defesa contra microrganismos (LIMA et al., 2006), podendo alterar o crescimento e metabolismo bacteriano, inclusive das bactérias ruminais (BENCHAAR et al., 2007).

A técnica da digestão in vitro tem sido amplamente utilizada para analisar alimentos fornecidos a ruminantes, devido à praticidade para determinar os resultados, ao baixo custo e a rápida execução (MAURÍCIO et al., 2003), visto que quase todo o processo é desenvolvido em laboratório simulando as condições naturais da digestão (ALCALDE, 2001).

A composição química de 99,6% da flora brasileira, estimada entre 40 e 55 mil espécies, ainda é desconhecida e compostos cujas estruturas químicas foram determinadas ainda não foram devidamente estudados quanto às atividades biológicas (SILVA et al., 2005). Desta forma, é crescente o interesse científico para identificar substâncias naturais com ação semelhante aos ionóforos.

Nos últimos anos, extratos de plantas vêm sendo amplamente estudados com o propósito de substituir os antibióticos, já que a União Europeia baniu o emprego destes produtos como promotores de crescimento. Esta proibição é alegada pela possível presença de resíduos na carne ou leite, além de maior probabilidade de aparecimento de resistência bacteriana aos antibióticos usados na medicina humana (OJEU, 2013).

A espécie *Pterodon emarginatus* Vog (sucupira-branca) é uma árvore do cerrado brasileiro, pertencente à família Leguminosae (Papilionoideae), pode ser encontrada facilmente em toda a extensão desse ecossistema, por isso adapta-se bem a solos de baixa fertilidade, apresentando porte de 10 a 15 m (COELHO et al., 2001 e SILVA et al., 2005).

Seu fruto possui endocarpo alado, rico em óleo, o qual é muito utilizado na medicina (COELHO et al., 2001; SILVA et al., 2005). Segundo CORRÊA et al. (1975), os extratos alcoólicos obtidos a partir das sementes são usados como anti-reumático, anti-

inflamatório e analgésico. Devido a essas características essas plantas são utilizadas para a fabricação de óleos essenciais os quais vêm sendo estudados para poder ser adicionado na dieta animal em substituição aos ionóforos.

Avaliou-se a degradabilidade in vitro do *Pterodon emarginatus* em inócuo ruminal e quais os seus efeitos para a fermentação ruminal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Nutrição Animal do Departamento de Produção Animal (DPA), da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG), situada no município de Goiânia-GO.

O óleo de *Pterodon emarginatus* (sucupira) foi obtido por prensagem a frio e foi testado em doses de 0, 30, 300 e 3.000 ppm durante 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, e 96 horas de incubação in vitro.

As incubações *in vitro* foram feitas em fermentador comercial TE-150 (Tecnal - Equipamentos para Laboratórios, Piracicaba, SP). A dieta experimental foi constituída de milho, farelo de soja, minerais e feno (volumoso:concentrado 50:50).

A incubadora TE-150 é constituída por quatro frascos de digestão e permite que o meio de fermentação seja mantido em agitação contínua a uma temperatura específica (39,5 ºC). Em cada frasco foram inoculadas 25 amostras com 0,5 g da dieta e 1 amostra branca.

Foram preparadas para cada frasco de digestão 1.584 mL de uma solução tamponante, 400 mL de inóculo ruminal e 16 mL de uma solução de etanol, com a dose de aditivo. A solução tamponante era composta de duas soluções tampão (A e B) em uma proporção de 1: 5, para obter um pH final de 6,8 como descreveram GARCÍA et al. (2007).

Foi utilizado fluído ruminal de um bovino canulado no rúmen, macho, castrado, da raça holandesa, aos 18 meses de idade, com aproximadamente 290 Kg de peso vivo, alimentado com dieta experimental *ad libitum,* 14 dias antes da coleta do líquido ruminal.

Amostras líquidas foram coletadas de cada frasco, após 96 horas de incubação para determinação das concentrações de AGCC e N-NH3. As mensurações de pH foram realizadas em todos os tempos de incubação usando potenciômetro digital. Amostras para análise de AGCC foram preparadas conforme descrito por ARAÚJO (2010). A produção de AGCC foi determinada por cromatografia em fase gasosa. As concentrações de N-NH3 foram determinadas por colorimetria/espectrofotometria conforme descrito por CHANEY & MARBACH (1962).

O teor de matéria seca (MS) das amostras foi determinado por secagem durante 24 horas em estufa de ar forçado a 105ºC, e posteriormente foram incineradas a 550ºC, em forno mufla (AOAC, 1990) e MO foi determinada pela diferença. Componentes da fibra foram analisados sequencialmente (VAN SOEST et al., 1991) usando α-amilase e sulfito de sódio e expressa sem cinzas residual. O nitrogênio total da dieta foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990), e a proteína bruta foi calculada como N x 6,25.

O delineamento foi realizado em blocos casualizados com quatro repetições, considerando o efeito do período de incubação como bloco. Os dados de cada ensaio foram analisados pelo software R (The R Development Core Team, 2012). Foi realizada análise de regressão para os resultados das doses de extratos vegetais nos diferentes tempos.

RESULTADOS

O óleo bruto extraído dos frutos de Sucupira utilizado neste trabalho continha 5,3% de *β*-cariofileno, sendo este um dos principais óleos essenciais presente no bioproduto. Na avaliação da cinética de degradação da MS no rúmen na presença do óleo de Sucupira, as variáveis "b" (fração potencialmente degradável) e degradabilidade potencial apresentaram diferenças ($P < 0,05$) entre as doses avaliadas (Tabela 1).

Para a fração "b" a dose 3.000 ppm apresentou o menor valor (32,14%), seguido da dose 300 ppm (47,51%). As doses 0 e 30 ppm foram semelhantes ($P > 0,05$), apresentando valores de 60,41 e 58,01%, respectivamente. A degradabilidade potencial foi semelhante entre as doses 0 e 30 ppm ($P > 0,05$), e também entre as doses 300 e 3.000 ppm ($P > 0,05$). Sendo que as duas maiores doses testadas foram capazes de alterar a cinética de degradação ruminal *in vitro* da MS.

TABELA 1 - Degradabilidade *in vitro* da matéria seca da dieta em inóculo ruminal contendo 0, 30, 300 e 3.000 ppm de óleo dos frutos de Sucupira (*Pterodon emarginatus*).

Variáveis	Doses (ppm)				EPM*
	0	30	300	3.000	
A	22,63	25,40	25,83	32,64	4,88
B	60,41[a]	58,01[a]	47,51[b]	32,14[c]	2,59
C	0,03	0,03	0,05	0,05	0,01

continuação...

De (2%)[1]	59,90	56,47	59,97	55,53	2,87
De (5%)[2]	46,41	44,21	49,96	48,92	3,06
De (8%)[3]	40,11	38,94	44,53	45,34	3,27
Degradabilidade potencial	83,04[a]	83,41[a]	73,33[b]	64,79[b]	3,34

Letras minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$). [1,2,3]Degradabilidade efetiva a uma taxa estimada de passagem das partículas no rúmen de 2%, 5% e 8% por hora. *Erro padrão da média.

DISCUSSÃO

Os promotores de crescimento como os aditivos alimentares antimicrobianos são utilizados para melhorar o desempenho animal e abrandar os impactos ambientais relacionados à liberação de amônia e metano (SOUZA, 2013). Devido a isso o estudo do uso de óleos essenciais na alimentação animal como um substituto do ionóforo vem ganhando uma maior importância por ser uma alternativa para o produtor rural. A sucupira foi estudada para esse fim no presente trabalho.

O óleo de sucupira apresentou atividade bactericida, demonstrando capacidade inibitória (2,5mg/mL) para *S.aureus* (gram-positiva), contudo não foi eficiente para *S. mutans* (gram-positiva), *P.aeruginosa* (gram-negativa), *E.coli* (gram-negativa) e *C. albicans* (fungo) . (SOUZA, 2013). No presente estudo não foi relatado atividade bactericida do óleo utilizado.

Observou-se que o óleo de Sucupira não influenciou os parâmetros de degradação da MS, mas a inclusão de 3.000 ppm reduziu ($p<0,05$) as concentrações de N-NH_3, AGCC totais e a relação acetato:propionato (SOUZA, 2013). O presente estudo relatou uma alteração na cinética da degradação ruminal *in vitro* da MS, nas duas maiores doses testadas.

A redução da concentração de acetato e N-NH_3, indicam que a adição 3.000 ppm de óleo bruto de Sucupira tiveram supostamente atividade inibitória sobre bactérias gram positivas, que em sua maioria são produtoras de acetato e amônia (RUSSEL & STROBEL,1989). Entretanto, a inclusão do bioproduto não favoreceu a produção de propionato. O estudo não relatou alteração na produção de gases durante a fermentação ruminal.

CONCLUSÕES

O bioproduto avaliado demonstrou que o resultado e o efeito variam conforme a dose e o principio ativo do mesmo.

As duas maiores doses do óleo de sucupira indicou modificação na cinética da degradação rumianl *in vitro* da MS.

Enfim os extratos de plantas de cerrado se mostraram potenciais modificadores da fermentação ruminal, contudo ainda se necessita de maiores investigações e avaliações in vivo para evidenciar principalmente a eficácia da sucupira como aditivo na alimentação do ruminante.

REFERÊNCIAS

1. ACAMOVIC, T.; BROOKER, J. D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **The Proceedings of the Nutrition Society**, London, v.64, n.3, p. 403-412, 2005.

2. ALCALDE, C. R; MACHADO, R. M; SANTOS, G. T; PICOLLI, R; JOBIM, C. C. Digestibilidade *in vitro* de alimentos com inóculos de líquido de rúmem ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum, Maringá**, v. 23, n. 4, p. 917-921, 2001.

3. AOAC. **Official methods of analysis.** Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 15 ed. 1990

4. ANNISON, E. F. Nitrogen metabolism in the sheep. **Biochemical Journal**, New Delhi, v.64, p. 705-714, 1956.

5. ARAUJO, R.C. Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro. 178 f Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

6. BUSQUET, M.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; CARRO, M. D.; KAMEL, C. Effect of Garlic Oil and Four of its Compounds on Rumen Microbial Fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.88, n. 12, p.4393–4404, 2005.

7. BUSQUET, M.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; KAMEL, C. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89 n. 2,p.761–771, 2006.

8. CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA S.; FERRET A. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow *in vitro* systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 7, p. 2649-2658. 2006.

9. HANSEN, D.; HARAGUCHI, M.; ALONSO, A. Pharmaceutical properties of 'sucupira' (Pterodon spp.). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 607-616, 2010.

10. LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A.; VEIGA JUNIOR, V. F. Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (Copaifera spp.) Oleoresins. **Molecules**, Basel, v. 17, p.3866-3889, 2012.

11. OJEU. Regulation (EC) Nº 1831/2003 of the European parliament and the council of 22 september 2003 on additives for use in animal nutrition. **Official Journal of the European Union**, L268, p. 29-43, 2003. Disponível em: http://irmm.jrc.ec.europa.eu/SiteCollectionDocuments/EC-1831-2003.pdf. Acesso em 25 de janeiro de 2013.
12. RUSSELL, J.B., STROBEL, H.J. Minireview. Effect of ionophore on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.55, p.1-6, 1989.

13. SOUZA, F.M., Extratos de Plantas do Cerrado na Fermentação Ruminal *in vitro* com Dietas de Alta Inclusão de Concentrado. 62 f Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Escola de Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

14. VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

Universidade Federal de Goiás

Faculdade de História

http://www.historia.ufg.br/

Rio Meia Ponte: dos resíduos sólidos aos resíduos humanos

Jessica Fernandes Pinheiro

Orientador: Alexandre Martins de Araújo

Goiânia, 2013

Resumo

Desde a historiografia do século XX iniciou o processo de ampliação de suas abordagens temáticas, os grandes e médios rios que banham o território brasileiro vêm se constituindo numa importante fonte de pesquisa, seja pela sua participação na estruturação da rede urbana regional e nacional, seja pelas diferentes formas de sua apropriação simbólica ou concreta.

A história ambiental como campo do saber histórico busca ampliar nossa compreensão no processo de interação entre homem e meio ambiente.

A partir disso, elegemos como objeto de investigação desse projeto o Rio Meia Ponte, mais especificamente, seu trajeto dento do perímetro urbano no município de Goiânia-GO.

Podemos perceber um total descaso tanto da população quanto do poder público em relação ás condições ambientais do rio, é através da história ambiental que nós discutimos a relação entre o rio Meia Ponte e as pessoas que morram em sua margem.

Buscando analisar os diversos discursos que constroem\desconstroem os significados atribuídos a presença do rio Meia Ponte, que nós utilizaremos como principal metodologia a historia oral para captar os vários sentidos construídos a partir da coexistência entre este rio e a cidade de Goiânia. Sendo assim, iremos coletar a memória dos antigos moradores que margeiam o rio, analisando como ocorrem as transformações da paisagem que envolve o rio Meia Ponte.[1]

Palavras-Chaves: Rio Meia Ponte, Historia Ambiental, Historia Oral, Memória.

[1] Revisado pelo orientador.

1. Introdução

O rio Meia Ponte nasce na Serra dos Brandões, no município de Itauçu, e deságua na usina de cachoeira Dourada, no rio Paranaíba. Nos seus 471 km de extensão, o Meio Ponte corta todo perímetro urbano da cidade de Goiânia e banha as cidades de Santo Antônio de Goiás; Goianira; Brazabrantes; Nova Veneza; Inhumas e Aparecida de Goiânia. Ao passar pela capital, o rio recebe as águas dos córregos Botafogo; Macambira; Vaca Brava; Capim Puba; Palmito; Barreiro; Água Branca e Cascavel.

Com o projeto de construção da capital goiana, o rio Meia Ponte era considerado como zona rural. Consequentemente com seu rápido desenvolvimento, o rio Meia Ponte se tornou a principal fonte de abastecimento da cidade. Logo, o rio passou a pertencer à paisagem urbana da cidade.

O crescimento e desenvolvimento da nova capital tinham e têm como lógica, atender o critério de planejamento de que o lado sul abrigaria os setores "nobres" da cidade e a parte norte – onde se localiza o rio Meia Ponte, destinava-se aos setores produtivos e aos bairros "pobres".

No decorrer dos anos, o rápido crescimento da capital, aliado com o parque fabril na região norte, ocasionou o péssimo estado em que se encontra o rio Meia Ponte na cidade de Goiânia, e o fator principal que contribui para isso é o despejo irregular de esgoto e a concentração de indústrias próximas a margem.

Partindo dessas transformações que ocorrem com a paisagem que envolve o rio Meia Ponte, que nós através da História Ambiental buscamos entender o relacionamento entre os moradores e o rio.

A história ambiental como campo do saber histórico busca ampliar nossa compreensão acerca dos múltiplos processos de interação entre os seres humanos e o meio ambiente, as diferentes respostas que os ecossistemas dão às ações antrópicas e o papel e o lugar da natureza na produção dos chamados "ambientes sociais".

A relativa escassez de estudos em história ambiental no Brasil e na região Centro-Oeste revela a premência relacionada à necessidade de realização de pesquisas nesse campo, visando o preenchimento de lacunas, tanto em nível da produção científica como no da oferta didática, no que se refere às estratégias de educação ambiental. Quanto a isso, acreditamos como Woster (2004) que, "al ignorar el mundo natural cuando estudian el passado, los historiadores estimulan a otros a ignorar el mundo

natural em el presente y el futuro". Além disso, a história ambiental aventa novas possibilidades metodológicas relacionadas aos estudos de história regional no que concerne a postura epistemológica da história ambiental em buscar o universal no particular. Pois, apesar das ilusões homogeneizantes preconizadas pela globalização, os historiadores ambientais asseveram que cada lugar no mundo constrói relações únicas entre homem e meio ambiente.

É pensando nessa relação entre homem e natureza, que utilizamos em nosso trabalho a história oral como metodologia, onde coletamos informações sobre o rio e resgatamos a memória dos moradores que nos contam como era o seu envolvimento com o rio e como esse rio ainda faz parte de suas vidas

Nas últimas duas décadas este rio tem estado no centro das atenções de uma série de projetos de revitalização e atividades científicas. Assim, políticos em campanha lançam promessas de "trazer de volta a vida do Rio Meia Ponte", biólogos e ecologistas estudam meios de despoluí-lo e dar outro destino aos seus resíduos sólidos, e até geneticistas analisam as "possíveis alterações no ciclo celular mitótico e aberrações cromossômicas" ocasionadas pelo afluxo dos esgotos sanitários em suas águas.

É exatamente no âmbito das discussões sobre o que fazer com o Rio Meia Ponte, que reclamamos – nós, os historiadores ambientais, o nosso lugar no centro da questão. Pois, em meio a todas as investigações sobre os seus recursos hídricos, entendemos que algumas importantes questões são negligenciadas mitigando, dessa forma, as possibilidades investigativas que tal rio merece. Algumas das questões que colocamos podem ser expressas da seguinte forma: E a população de Goiânia, como ela incorporou este rio em seu imaginário? Como ela o utilizou (e ainda o utiliza), seja na produção de seus recursos materiais, seja na construção de estruturas de significação?

2. Metodologia

No que tange os aspectos teórico-metodologicos que norteiam as investigações no campo da História Ambiental, recorremos ao modelo que o historiador Worster (1991), chamou de "os três níveis em que a nova história ambiental funciona". Para ele, o primeiro nível se define pela compreensão do funcionamento da "natureza propriamente dita": as maneiras como os elementos orgânicos e inorgânicos, não executando o organismo humano, vêm se desenvolvendo e interagindo entre si ao longo

do tempo. O segundo alude à dimensão socioeconômica: nele, as atenções estarão voltadas para os níveis de organização social dos grupos em interação com os recursos naturais a que se tem acesso, os processos de produção, bem como os diferentes destinos que lhes são dados. Já o terceiro e último nível corresponde às dimensões simbólicas das interações entre homem e natureza: aqui, busca-se compreender os tipos de 'negociação' que as diferentes populações estabelecem com seu meio geográfico, no que se refere aos contínuos processos de sua apropriação simbólica, adaptação e modificação, ao longo da história.

Queremos crer que nossa discussão se enquadra nos moldes desse último nível da análise sugerido por Worster, uma vez que estamos tratando exatamente de atribuições de sentido, mais especificamente das possíveis leituras que fazem a pessoa sobre a presença/ausência do rio Meia Ponte na construção de suas vidas.

3. Resultados

O ponto crucial dessa pesquisa foi o cumprimento das entrevistas, que foram realizadas dentro do perímetro urbano no município de Goiânia, onde elegemos o bairro Jardim Balneário Meia Ponte.

Utilizamos um roteiro para a realização das entrevistas, onde todas as perguntas estavam ligadas com a relação e envolvimento do entrevistado com o rio Meia Ponte. Selecionamos moradores antigos e idosos para realizar as entrevistas, foram conversas muito prazerosas, onde os entrevistados se sentiram bem tranqüilos para nos relatar suas experiências junto ao rio.

Através das entrevistas alcançamos o principal objetivo desse trabalho, que é entender os múltiplos discursos que constroem\desconstroem os significados atribuídos a presença do rio Meia Ponte.

4. Discussão

A história ambiental tem como proposta analisar o relacionamento entre os seres humanos e meio ambiente, buscando compreender as consequências de modo recíproco, tais como: os impactos ambientais causados pelo homem, os fenômenos naturais que afetam o homem, dentre outros.

Segundo o historiador ambiental Worster:

> *A história ambiental nasceu, portanto de um objetivo moral, tendo por trás fortes compromissos políticos, mas, à medida que amadureceu, transformou-se também num empreendimento acadêmico que não tinha uma simples ou única agenda moral ou política para promover. Seu objetivo principal se tornou aprofundar o nosso entendimento de como os seres humanos foram, através dos tempos, afetados pelo seu ambiente natural e, inversamente, como eles afetaram esse ambiente e com que resultados. (Worster,1991, p.199 a 200)*

Os historiadores ambientais levam em conta a influência do meio ambiente no desenvolvimento e formação da sociedade e o que a sociedade pode oferecer ao meio ambiente, e o que cada uma proporciona positivamente e negativamente.

Segundo Martins (2007) a historia ambiental "tem como objetivo colocar a sociedade na natureza. Dito de outra forma, ela quer conferir ás "forças da natureza" o estatuto de agente condicionador e modificador da cultura e da vida humana, e atribuir aos componentes naturais "objetivos" que tem a capacidade de influir significamente nos rumos da história" (MARTINS, 2007, p.22).

De acordo com Drummond (1991) uma das fontes para o historiador ambiental escrever como ocorrem as mudanças do meio ambiente, das paisagens, do uso da natureza, pode ser resgatada através da memória dos que participaram e vivenciaram os processos de exploração e usos da natureza. É nesse sentido que trabalhamos com o uso da História Oral, coletando a memória dos antigos moradores que utilizaram e utilizam o rio Meia Ponte em suas vidas. O resgate da memória de pessoas mais velhas, como os idosos possibilita a re-construção de memórias antigas sobre determinada história. "Na memória dos idosos é possível encontrar uma história social bem definida, pois eles já passaram por certo tipo de sociedade com características bem marcadas e já vivenciaram quadros de referencia familiar e cultural também conhecidos" (BOSI,1994,p 60).

No âmbito da História Ambiental, o método da História Oral vem se tornando plausível na coleta e registro das memórias. A História Oral é um processo metodológico que constrói fontes e documentos através das narrativas.

São essas narrativas coletadas com o uso da História Oral, contando a memória do

passado sobre como era a paisagem, e como ela vai sendo alterada pelos usos da natureza, que realizamos esse trabalho.

A proposta que adotamos com o uso da História Oral foi estabelecer uma quantidade de entrevistados, coletando história de vida e percepção sobre o envolvimento com rio Meia Ponte. Inicialmente foi realizada uma visita no bairro Jardim Balneário, onde entramos em contato com alguns moradores idosos, explicando a pesquisa e solicitando informações sobre o rio.

É através dessas entrevistas que percebemos o envolvimento entre homem e natureza, o que propõe a história ambiental.

Foram muitas as histórias contadas, e através das informações nos foi possível verificar a existência de memórias individual e coletiva sobre como ocorreram às relações entre o entrevistado e o rio. Sendo assim, com a história oral foi possível resgatar essas experiências.

Primeiramente nos foi relatado às experiências passadas, com relação ao rio Meia Ponte. Os entrevistados nos disseram que este era um rio onde se podia pescar, tomar banho, fazer piqueniques, um lugar que se ia com a família, para diversão. Adiante, descreveram como viam o rio nos dias de hoje, e se ainda utilizavam-no como um lugar de lazer. Disseram que era um rio "deformado", que não se podia mais ir com a família, não se podia mais pescar e nem tomar banho, todos negaram o envolvimento com o rio nos dias de hoje, contam que por ser um rio muito poluído e mal cheiroso, é impossível ter qualquer envolvimento.

A partir das narrativas coletadas, podemos perceber o quanto era grande o envolvimento com o rio Meia Ponte, sendo um lugar utilizado para o lazer desses moradores, e que mesmo negando seu envolvimento com o rio hoje em dia, deixavam escapar algumas histórias de pessoas que ainda utilizam o rio e até mesmo ao dizer que "não se pode mais pescar no rio, você coloca o peixe no sol e ele derrete". Partindo dessas informações, percebemos a negação dos moradores diante do rio, por ser um rio poluído, onde são descarregados esgotos e demais dejetos, é vergonhoso dizer que se tem algum envolvimento. Nota-se na fala dos entrevistados, certa tristeza quando dizem não poder utilizar um ambiente que foi tão favorável e que hoje sofre um grande descaso por parte dos políticos e da população.

Portanto, podemos notar como se constroem os discursos sobre o rio, percebendo as transformações que ocorreram no decorrer do tempo e assim notamos a relação entre homem e natureza, através dessas leituras que fazem as pessoas sobre a

presença\ausência do rio Meia Ponte na construção de suas vidas.

5. Considerações Finais

Partindo de nossas entrevistas que conseguimos alcançar nosso objetivo diante dessa pesquisa, realizando nossos estudos no campo da história ambiental e entendendo os múltiplos discursos que constroem\desconstroem os significados atribuídos a presença do rio Meia Ponte. Ao construir a história ambiental da população que mora às margens do rio, a história oral contribui de maneira significativa para que se possam captar as histórias dos bairros que margeiam o rio Meia Ponte, onde as memórias de seus moradores ainda guardam lembranças do processo histórico. Portanto, a coleta de registro da memória com o uso da história oral, nos possibilitou informações suficientes para traçar como era o passado histórico ambiental daquela região, e como a história das interações entre sociedade e natureza alteram e constroem a realidade. E isso se nota em nossa pesquisa, que foi realizada com os antigos moradores que moram as margens do rio Meia Ponte.

6. Referências bibliográficas

ARAÚJO, Alexandre Martins ; NAZARENO, E. . Quilombo dos Almeida: entre a etnicidade e o reconhecimento. História Revista (UFG), 2010.

_____,Alexandre Martins de. Cadê a Água que Estava Aqui? Os leitos secos na memória e na história. *História Revista,* Goiânia, v. 14, n. 2, p. 2-20, Jul/dez. 2009.

_____, Alexandre Martins de. Memórias que Curam. In.: Experiências e Memórias. Olga Cabrera (Org). Goiânia/Cecab: Ed. Vieira, 2001, pp. 87-99.

_____. Comunidade Negra no Cerrado: narrativas de curas e remédios. Olga Cabrera (Org). Goiânia: CECAB, 2007.

ANDRIOLI, A. I. A atualidade do marxismo para o debate ambiental. Revista Espaço Acadêmico, nº 98, Julho de 2009, Ano IX, ISSN 1519-6186

ARNOLD, D. La naturaleza como problema histórico. El medio, la cultura y la expansión de Europa. México: Fondo de Cultura Económica 2000.

CASTRO HERRERA, G. “Aproximación a la historia ambiental”. La Insignia. Panamá,

6 de octubre. 2002. Disponível em: http://www.lainsignia.org/2002/octubre/ecol_004.htm.

BOSI, Ecléa. Memória e sociedade: Lembranças de Velhos. São Paulo: Companhia das Letras, 1994.

DIEGUES, A. C. S. O Mito Moderno da Natureza Intocada. São Paulo, Hucitec, 1996.

DRUMMOND, J. A.A história ambiental: temas, fontes e linhas de pesquisa. Estudos históricos.n. 8, p.177-197, 1991.

DRUMMOND, J. A. Devastação e preservação ambiental no Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Ed. UFF. 1997. 306 p.

EITEN, George, Vegetação do Cerrado. In.: Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas, 2. ed. Brasília: Ed.Unb, 1990.

FEBVRE, L.. "La tarea actual: métodos biológicos, métodos geográficos". En Geografía histórica, C. Cortez, ed. México: Instituto Mora/Universidad Autónoma Metropolitana, pp. 25-34. 1991.

LEONARDI, Victor Paes de Barros. Os historiadores e os rios: natureza e ruina na Amazonia brasileira. Brasília: Paralelo 15 editores, 1999.

LISBOA, K. M. A natureza brasileira no olhar de dois naturalistas alemães. In.: Congresso Internacional América 92: Raízes e Trajetórias, 1997, São Paulo. América Latina: Imagens, Imaginação e Imaginário. Rio de Janeiro, São Paulo: Expressão e Cultura/ Edusp, 1992. v. 8. pp. 421-434.

MARTINS, Marcos Lobato. História e Meio Ambiente. São Paulo: Annablume; Faculdades Pedro Leopoldo, 2007.

MARTINEZ, Paulo Henrique. Sociedade e Natureza: uma história ambiental. In.: História Ambiental no Brasil:pesquisa e ensino. São Paulo: Cortez, 2006.

MARTINEZ, Paulo H..Brasil: Desafios para uma História Ambiental. Nómadas, n.22, abril, p.26-35, 2004.

O´GORMAN. Edmundo. Ainvenção da América. São Paulo: Editora da UNESP, 1992.

POLLAK, Michel. Memória e identidade social. Estudos Históricos, Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas, v. 5, n. 10, p. 200-215, 1992.

PRADO JUNIOR, Caio. Formação do Brasil contemporâneo. 21a ed. São Paulo : Brasiliense, 1989.

WORSTER, Donald. Para Fazer História Ambiental. Trad. José Augusto Drummond. Estudos Históricos. Rio de Janeiro, vol. 4, n8, p.177-197, 1991.

Especificação da Interface de um Sistema de Visualização da Argumentação para Apoiar a Mediação Docente no Ensino de Programação

Jonathan da Silva Pereira

Orientadora: Profa. Deller James Ferreira

Universidade Federal de Goiás

Instituto de Informática

jonathan.engsoftware@gmail.com

Revisado pelo orientador

Resumo

O objetivo do artigo é apresentar e justificar escolhas de solução acerca do design da interface e interação de um sistema para ser usado por docentes e alunos no ensino de programação. O sistema permite a utilização de um framework baseado na aprendizagem colaborativa e fundamentado na teoria dialógica do pesquisador Rupert Wegerif, sendo concebido para promover a criatividade em alunos de cursos introdutórios de programação de computadores.

Palavras-chaves: Ferramentas de Visualização da Argumentação, Aprendizagem Colaborativa, Ensino de Programação, Interface Gráfica.

1. Introdução

A computação é uma das áreas mais ativas atualmente, onde novas teorias, novos conhecimentos e novas tecnologias emergem continuamente. Com essa rápida evolução da tecnologia e surgimento de problemas cada vez mais complexos, é necessário que programadores consigam desenvolver soluções novas e únicas a todo o momento. Desse modo, a importância da criatividade na ciência da computação é evidente.

Contudo, tradicionalmente, não é comum a facilitação da criatividade em alunos de computação. O ensino de computação e o pensamento criativo devem possuir uma relação mais estreita. Desenvolver ferramentas que facilitem a criatividade e a colaboração, fornecendo meios para que os alunos possam elaborar, discutir e desenvolver novas ideias são de extrema importância na resolução de problemas computacionais por se tratarem de atividades que são, em grande parte, criativas [1]

Para tanto torna-se necessário que o professor esteja ciente de processos criativos sobrejacentes ao ensino de disciplinas do curso de computação. E para auxiliar os professores a entenderem a estreita relação que existe entre programação e o pensamento criativo, foi desenvolvido um framework pedagógico, com ênfase em processos dialógicos, onde alunos de disciplinas de programação têm suas discussões facilitadas durante a elaboração e criação de programas. Além disso, o framework se baseia em processos onde a geração, aprofundamento e avaliação de ideias possam ser trabalhadas de diferentes formas.

O objetivo deste trabalho é desenvolver o projeto de interface e interação de uma ferramenta de ensino de programação que fornecerá meios para que alunos possam interagir a fim de obter conhecimentos computacionais. E, principalmente, especificar o design de uma ferramenta que irá auxiliar o professor no entendimento e aplicação de uma nova metodologia de ensino focada na aprendizagem colaborativa, e na facilitação da criatividade, de forma eficiente.

Por se tratar de um ambiente de aprendizado virtual, o mesmo deverá ser projetado para que as informações e ferramentas disponíveis aos alunos diminuam a falta da presença física de um professor. Assim, para que a ferramenta atinja o seu propósito de facilitar o desenvolvimento de habilidades relacionadas ao desenvolvimento de programas, o design de interação deverá promover uma relação de ‘Professor-Estudante’ que guiará o aluno no melhor aproveitamento do conteúdo que é disponibilizado [2].

O método seguido para o desenvolvimento do design das telas foi a utilização de diretrizes de usabilidade para design da interação[3], bem como a aplicação de padrões de interação [4], o que é geralmente utilizado para a elaboração de interfaces com o usuário.

2. Estruturação da Interface de Usuário

Para facilitar a organização das funcionalidades em uma interface que segue os principais padrões e princípios de usabilidade e que permita aplicação do framework dialógico anteriormente apresentado, o design da interface desenvolvido neste trabalho seguirá um modelo geral proposto por S. Barzegar [2] onde o sistema será dividido em quatro grupos, sendo eles, Páginas Pessoais, Classe Virtual, Comunicação e Biblioteca. Cada um desses grupos conterá páginas que atendam aos requisitos de uma ferramenta online de ensino de programação.

A seguir uma breve descrição desses grupos é apresentada.

a. Páginas Pessoais

As páginas pessoais, serão responsáveis pelo primeiro contato do usuário com o sistema, seja ele aluno ou professor. Nelas, serão disponibilizadas informações que são pertinentes ao usuário logado no sistema naquele momento. As páginas pessoais foram projetadas para serem similares a sites que os usuários já possuem contato diariamente, como por exemplo, redes sociais, criando assim familiaridade e consequentemente diminuindo a curva de aprendizado.

b. Classe Virtual

A Classe Virtual será o conjunto de telas onde o aluno efetivamente realizará as atividades propostas pelo professor. Nelas, será fornecido um ambiente de desenvolvimento completo, além de meios para auxiliar na argumentação e resolução criativa dos problemas apresentados.

c. Comunicação

Será o conjunto de telas e/ou ferramentas que permitirão aos usuários a comunicação e discussão de forma simultânea.

d. Biblioteca

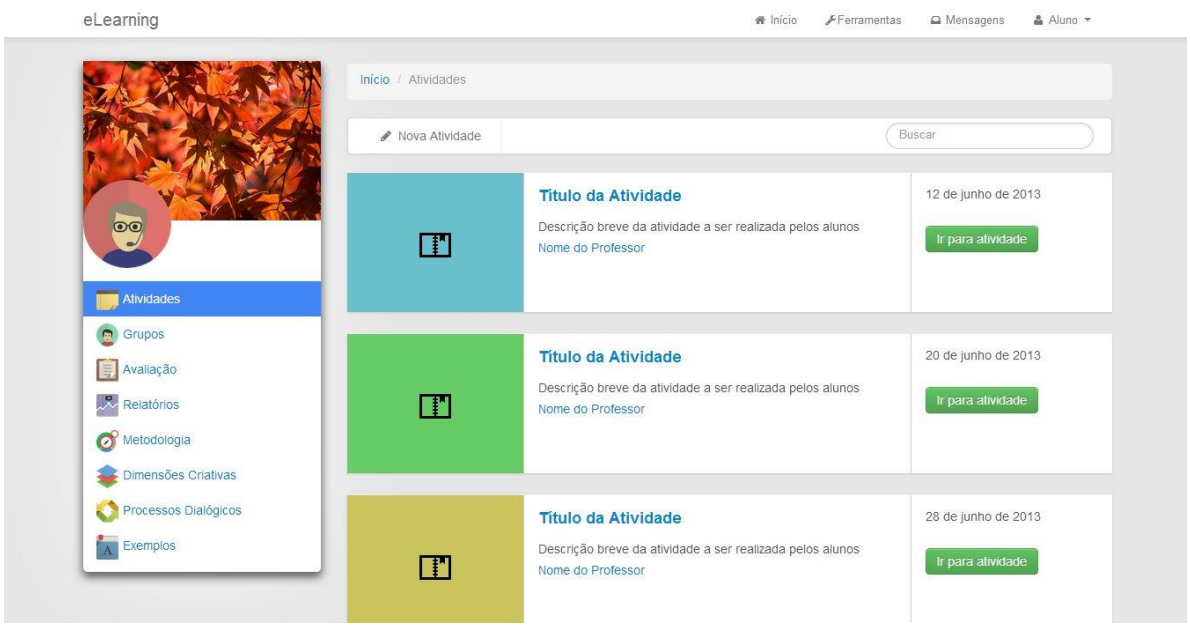
Neste conjunto de telas, serão disponibilizadas páginas que serão utilizadas como referência, para professores e alunos. Nelas o professor encontrará informações sobre a abordagem dialógica além de exemplos práticos de exercícios que poderão ser aplicados.

O professor também poderá criar suas próprias referências, disponibilizando aos alunos cadastrados.

3. Protótipo das Telas de Interação

A seguir serão apresentados alguns dos modelos de interface desenvolvidos durante o a elaboração deste trabalho e suas justificativa. Devido aos limites de páginas, apenas algumas telas serão apresentadas nesse trabalho. Todas as telas criadas estão disponíveis para serem acessadas e testadas através do endereço http://goo.gl/g4kQxt.

a. Tela de Lista de Atividades

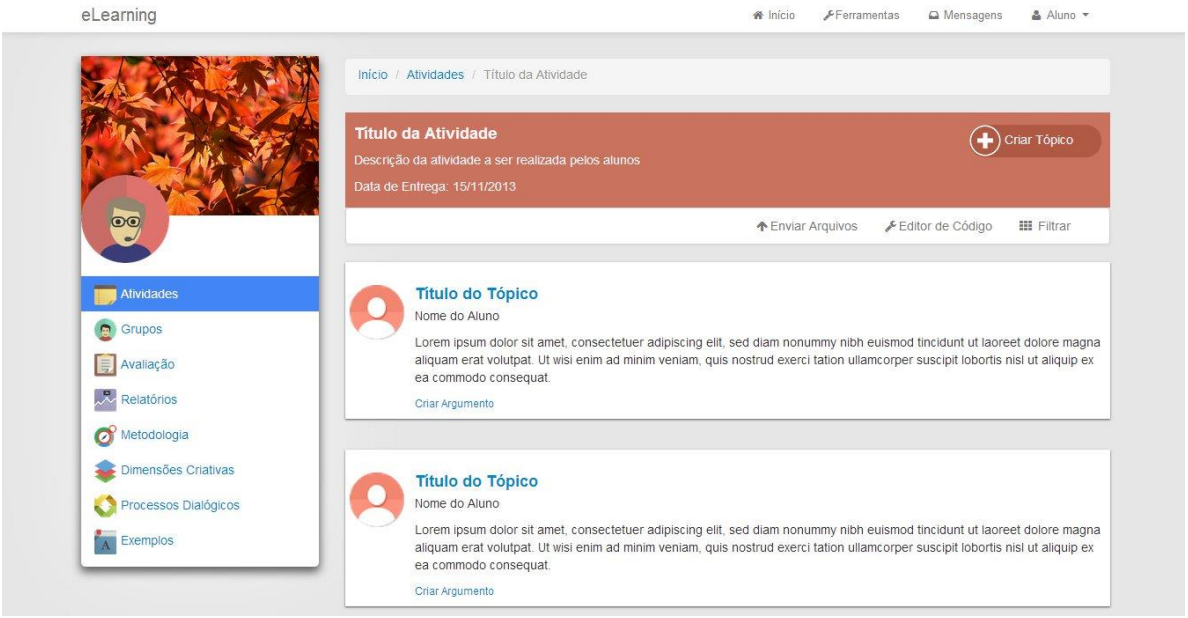


A tela de atividades contém uma lista com as atividades que o aluno deverá realizar, ou avaliar caso o usuário for um professor. Cada atividade será apresentada com um título, uma breve descrição, o nome do professor que a criou e o prazo máximo para entrega.

O professor poderá criar novas atividades, fechar atividades que foram concluídas, e acompanhar o desenvolvimento de cada uma filtrando por grupos ou alunos.

Por se tratar de uma tela onde basicamente uma lista de atividades será apresentada ao usuário, o padrão de iteração lista embutida foi aplicado em seu desenvolvimento.

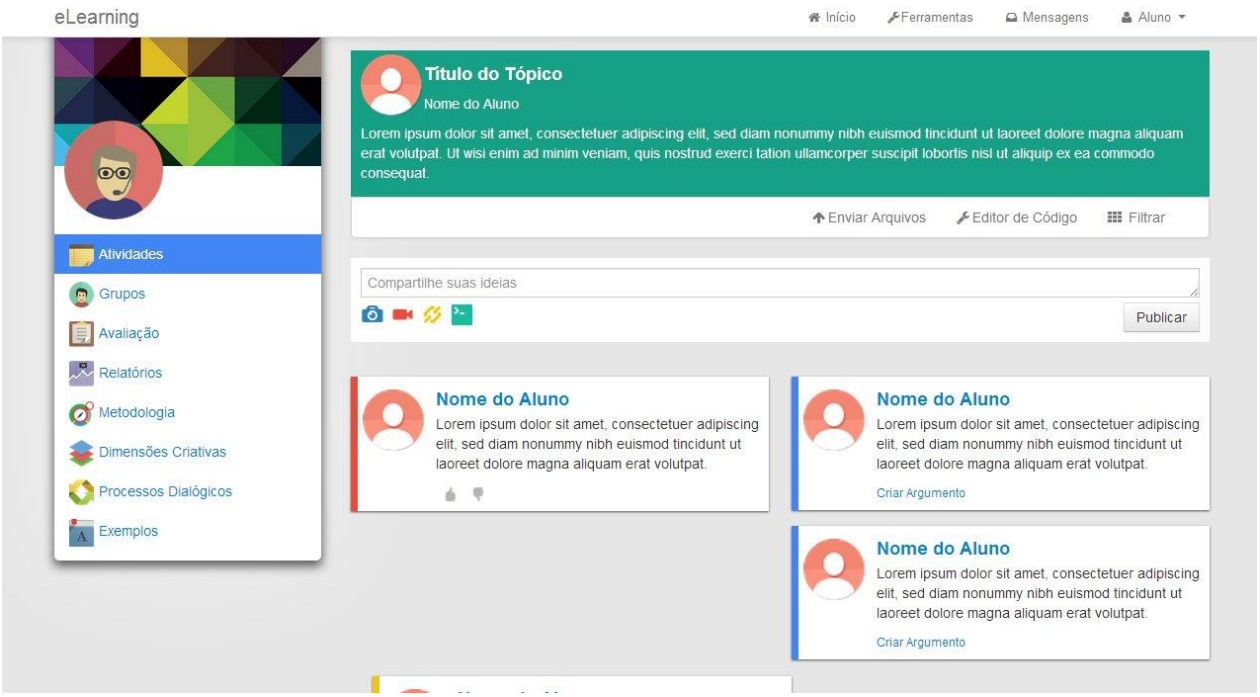
b. Tela de Tópicos



A tela de tópicos é onde o usuário encontrará informações relacionadas a cada atividade como descrição do trabalho a ser realizado, data de entrega e outros dados pertinentes. Aqui o usuário terá acesso a toda a discussão realizada durante a execução da atividade. Todos os tópicos serão apresentados com um título, nome do aluno que o criou e um resumo do mesmo, além disso, o usuário poderá filtrar por data, números de argumentos ou contra-argumentos, pessoa criadora do tópico e status (fechado ou aberto).

Nessa tela também está disponível ao usuário a opção de enviar arquivos e principalmente estará disponível ao usuário um editor de códigos, para que ao realizar a atividade proposta não seja necessária uma ferramenta externa para concluir a mesma.

c. Telas de Discussões/Argumentação

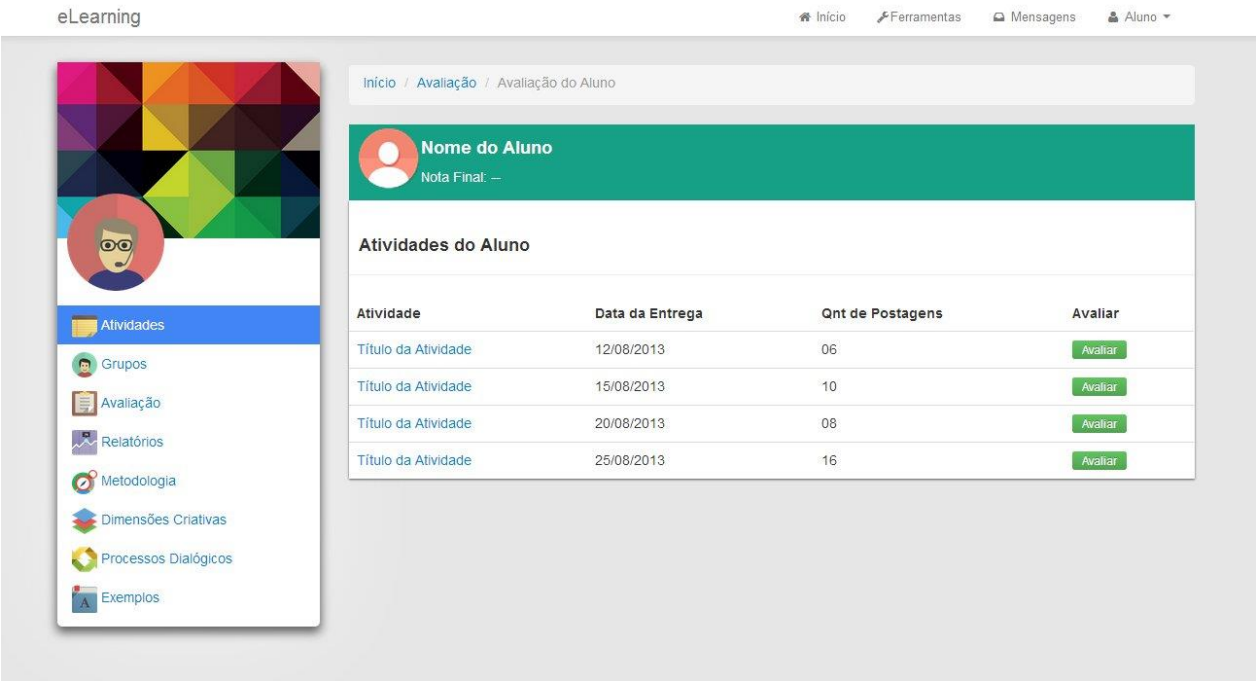


Esta será a tela efetivamente responsável pela interação dos usuários na resolução dos problemas propostos. Aqui, os alunos poderão argumentar e contra argumentar, apresentando novos caminhos e ideias objetivando o consenso do melhor resultado para os problemas ou ideias que estão em discussão.

A forma com que as ideias e discussões são apresentadas aos usuários são fundamentais para a interação do mesmo com o sistema[5]. Assim, durante o desenvolvimento das telas que diretamente auxiliariam na aplicação do framework dialógico, como a tela de fórum, foram discutidos diferentes formas de representação da argumentação, decidindo-se pela representação em cadeia por ser simples e familiar aos usuários.

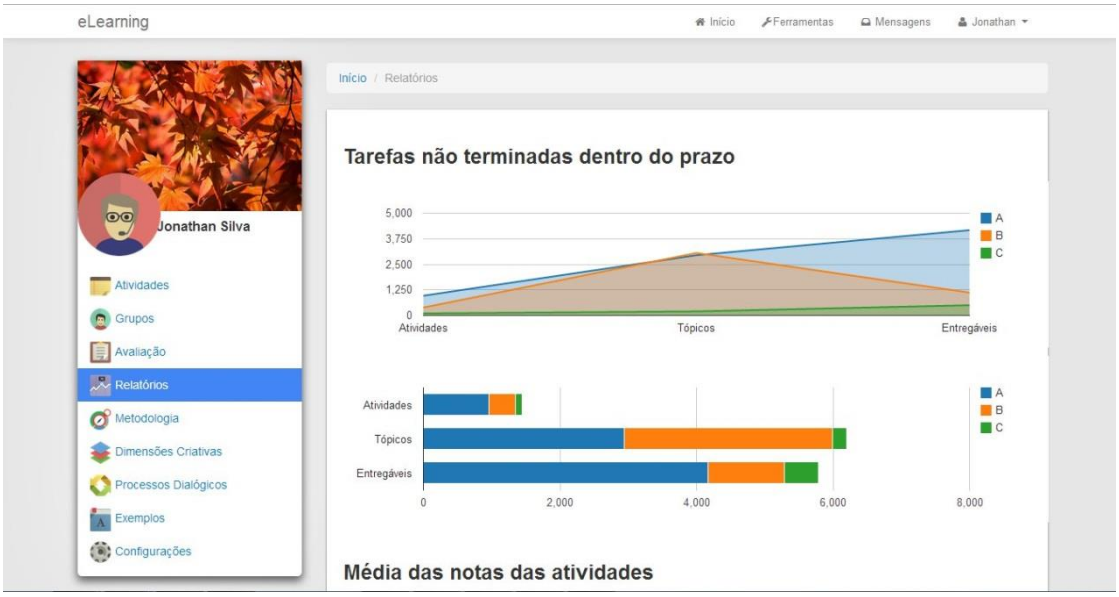
Além disso, padrões de iteração como repostar e comentar foram utilizados na apresentação dos comentários.

d. Telas de Avaliação



Neste módulo do sistema os professores terão duas formas de avaliação, em grupo ou individual. A tela de avaliação individual foi desenvolvida pensando-se em um modelo de análise de conteúdo[5] onde 8 questões sobre discussões geradas pelo aluno devem ser respondidas para se chegar a uma nota final.

e. Tela de Relatórios



A tela de relatórios será uma tela visível apenas para os professores. Nela ele poderá visualizar dados gráficos em relação a aplicação do framework. Os dados foram agrupados visualmente seguindo um padrão tabular para facilitar na interpretação dos mesmos.

Aqui o professor poderá filtrar os dados a partir de determinas atividades, bem como visualizar gráficos específicos para um grupo.

4. Conclusão

Como vimos neste artigo, para que a ferramenta de ensino de programação de computadores funcione de maneira eficiente e atinja o objetivo de permitir a discussão e elaboração de soluções de problemas computacionais de forma colaborativa e criativa devemos possuir uma interface simples e familiar aos usuários para que não ocorra resistência dos mesmos quanto a sua utilização.

Como o framework de ensino é fundamentalmente baseado em processos dialógicos, a interface definida foi pensada com o objetivo de facilitar a comunicação entre os seus usuários. Assim, a interface visa permitir que as discussões realizadas nas atividades possuam diferentes formas de visualização, dando aos usuários a possibilidade de filtrar argumentos e contra-argumentos e o histórico de um determinado tópico.

Além disso, a interface foi desenvolvida de modo que as ferramentas necessárias para que o aluno realizasse as atividades estivessem sempre em um local de fácil acesso, como por exemplo, um próprio editor de códigos disponível em cada atividade.

A definição da interface de usuário para um serviço de ensino é um trabalho incremental e que deve ser melhorado com o tempo. Portanto, o design proposto é uma versão possível para um sistema a ser desenvolvido, porém é uma interface passível de alterações e melhoramentos a partir da opinião de professores e alunos que realmente a utilizarão na prática.

5. Referências Bibliográficas

[1] D. J. Ferreira, “Abordagem Dialógica para a Facilitação da Criatividade no Ensino e Aprendizagem de Programação de Computadores,” pp. 1–31.

[2] S. Barzegar, M. Shojafar, and M. R. Keyvanpour, “Improvement User Interface in Virtual Learning Environment,” International Journal of Digital Society, vol. 1, no. 3, pp. 221–229, 2010.

[3] Nielsen, J., and Molich, R. (1990). Heuristic evaluation of user interfaces

[4] Tidwell, Jenifer. Design Interfaces, vol. 2, 2010.

[5] Roberto de Urzêda Paiva, Estudo de Ferramentas de Visualização da Argumentação e sua Aplicação no Contexto de Ensino de Programação, 2011.

Caracterização química e análise de microestrutura de superfície dos cimentos de ionômero de vidro.

Jordanna Guedes Amorim Mendonça, Lilian de Fátima Guedes de Amorim, Ana Helena Gonçalves de Alencar, Carlos Estrela

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Goiás
Email: jordanna.guedes@hotmail.com

Palavras-chave: Cimento de ionômero de vidro, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de dispersão de raios-X, propriedades químicas

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença infecciosa e transmissível de origem multifatorial, que é caracterizada pela desmineralização dos tecidos não descamantes que compõem o elemento dentário, em decorrência do desequilíbrio da microbiota da cavidade bucal resultante da presença frequente de carboidratos fermentáveis (Klein, 2003).

A redução da prevalência de cárie dentária observada nas últimas décadas está diretamente relacionada com o extenso uso de flúor, pois quando presente na superfície do esmalte pode torná-lo mais resistente à dissolução ácida, podendo diminuir a ação das bactérias, ocasionando a remineralização do esmalte desmineralizado e da dentina amolecida, além de interferir no mecanismo de formação do biofilme dentário (Pereira *et al.,* 1998ab). A interferência do flúor no metabolismo bacteriano e no biofilme dental ácido inclui inibição de enzimas glicolíticas e da ATPase, além de enzimas intracelulares como fosfatase ácida, pirofosfatase, peroxidase e catalase (Hamilton, 1990; Du *et al.,* 2012).

Dentre os materiais restaurados atualmente empregados, os cimentos de ionômero de vidro recebem destaque, pois apresentam capacidade de liberar flúor, possuem adesão às estruturas dentárias (principalmente dentina), têm atividade antimicrobiana e servem como reservatórios de flúor (Kerby & Knoblock, 1992; Gillgrass *et al.,* 1999; Bernardo *et al.,* 2000; Pithon *et al.,* 2006; Fook *et al.,*2008). Desta forma, é o material de escolha na prevenção da cárie dentária por auxiliar no equilíbrio do processo de des-remineralização e na redução de microrganismos cariogênicos (Mount, 1999; Shahid *et al.,* 2011).

A ação preventiva da liberação de flúor a partir de materiais restauradores como o cimento de silicato e o de ionômero de vidro convencional tem encorajado fabricantes de

materiais dentários a aperfeiçoar esses materiais, e tem levado, ainda, à incorporação de flúor em outros materiais (Roeland & Ronald, 1998; Itota *et al.,* 2004).

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi analisar a superfície dos cimentos de ionômero de vidro Vitro Molar, Ketac Cem Easymix e Riva Self Cure por meio de imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Dispersão de Raios-X (EDX), quanto à regularidade da superfície, distribuição dos elementos, forma e tamanho das partículas e caracterizá-los quimicamente.

3. METODOLOGIA

3.1 Preparo das amostras

Três cimentos de ionômero de vidro comercialmente disponíveis foram utilizados nos experimentos: Vitro Molar ® (Nova DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), Ketac Cem Easymix® (3M ESPE, Sumaré, SP, Brasil) e Riva Self Cure® (SDI, São Paulo, SP, Brasil). Os cimentos de ionômero de vidro foram misturados de acordo com as instruções do fabricante e colocados em tubos de polietileno com um diâmetro interno de 3 mm e uma espessura de 3 mm. Os tubos foram colocados em placa de vidro (75 x 25 x 1 mm), completamente preenchidos. A seguir, os espécimes foram transferidos para uma câmara com 95% de humidade relativa e temperatura de 37 ° C, durante um período correspondente a 3 vezes o tempo de presa recomendado pelo fabricante. Três amostras homogéneas de cada material foram feitas.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microanálise Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)

A análise morfológica da superfície externa dos cimentos de ionômero de vidro foi realizada usando um microscópio eletrônico de varredura (JSM-6610; Jeol Ltd., Tóquio, Japão) na ampliação X500, utilizando uma voltagem de aceleração de 10 kV e uma distância de trabalho de 15 mm. As amostras foram polvilhadas com ouro sobre fita de duplo lado de carbono (Bal-Tec AG, Balzers, Alemanha) a 20 mA. A morfologia da superfície externa foi analisada qualitativamente.

EDX foi realizada com detecção de análise do sistema NSS-espectral Análise de Sistemas 2,3 (Thermo Fischer Scientific, San Jose, CA, EUA) para determinar os elementos

constitutivos dos materiais testados. Um espectro de EDX foi escolhido a partir da região central de cada amostra sob as condições seguintes: 25 kV de tensão de aceleração, corrente de feixe de 110 mA, 10-6 Torr de pressão (alto vácuo), 130 x 130 mm área de análise de ampliação X1000 , 100s tempo de aquisição. A análise elementar (% em peso e % atômica) das amostras foi realizada no modo de análise não padrão, utilizando método de correção PROZA (Phi-Rho-Z). Os mapas elementares foram obtidos pelo método NetCounts, com alta resolução, usando o mesmo sistema de detecção de análise (NSS Sistema de Análise Espectral 2.3).

4. RESULTADOS

Os resultados dos principais componentes dos materiais testados são apresentados na Tabela 1. Elementos químicos semelhantes foram encontrados em todos os materiais e houve uma pequena variação entre eles. Essencialmente, os materiais eram compostos por alumínio (Al), sílica (Si), sódio (Na) e flúor (F). O elemento bário (Ba) foi observado somente no cimento Vitro Molar®, enquanto o lantânio (La) somente no Ketac Cem Easymix®. Espectros de EDX são apresentados na Figura 1. O mapeamento dos elementos revelou que os elementos encontravam-se distribuídos por toda a superfície externa (Figura 2). Os elementos alumínio e sílica foram fortemente detectados por tal mapeamento.

Os resultados obtidos por análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos principais componentes são apresentados na Figura 3. Verificou-se que todos os cimentos de ionômero de vidro apresentaram superfície externa irregular. Não foi observada presença de trincas.

Tabela 1. Principais componentes dos cimentos de ionômero de vidro analisados por espectroscopia de dispersão de raios-X (EDX).

Elemento	Vitro Molar®		Ketac Cem Easymix®		Riva Self Cure®	
	%p.	%at.	%p.	%at.	%p.	%at.
O	31,68	46,27	32,73	50,24	44,24	55,39
Al	15,25	13,21	11,97	10,89	16,11	11,96
Ba	12,06	2,05	-	-	-	-
Ca	11,73	6,84	11,64	7,13	-	-
F	17,36	21,35	11,05	14,28	11,65	12,98
Na	1,97	2,00	4,15	4,43	2,51	2,18
La	-	-	17,01	3,01	-	-
Si	9,95	8,28	11,45	10,02	25,49	18,18

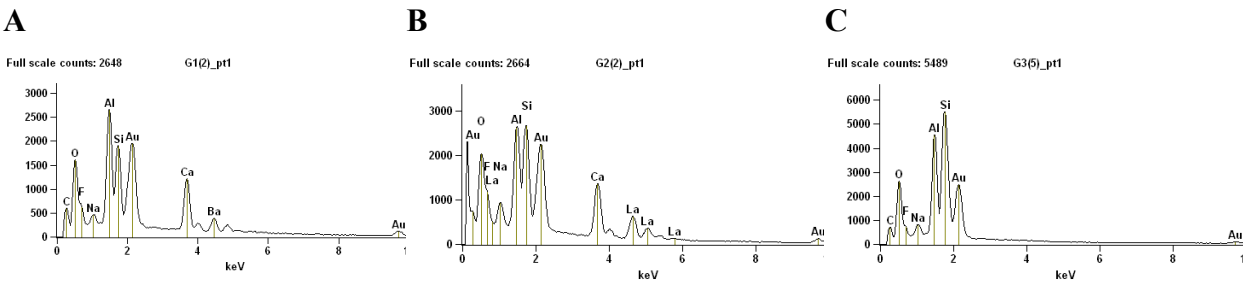


Figura 1. Espectro representativo da análise por EDX dos materiais testados: (A) Vitro Molar®; (B) Ketac Cem Easymix®; (C) Riva Self Cure®.

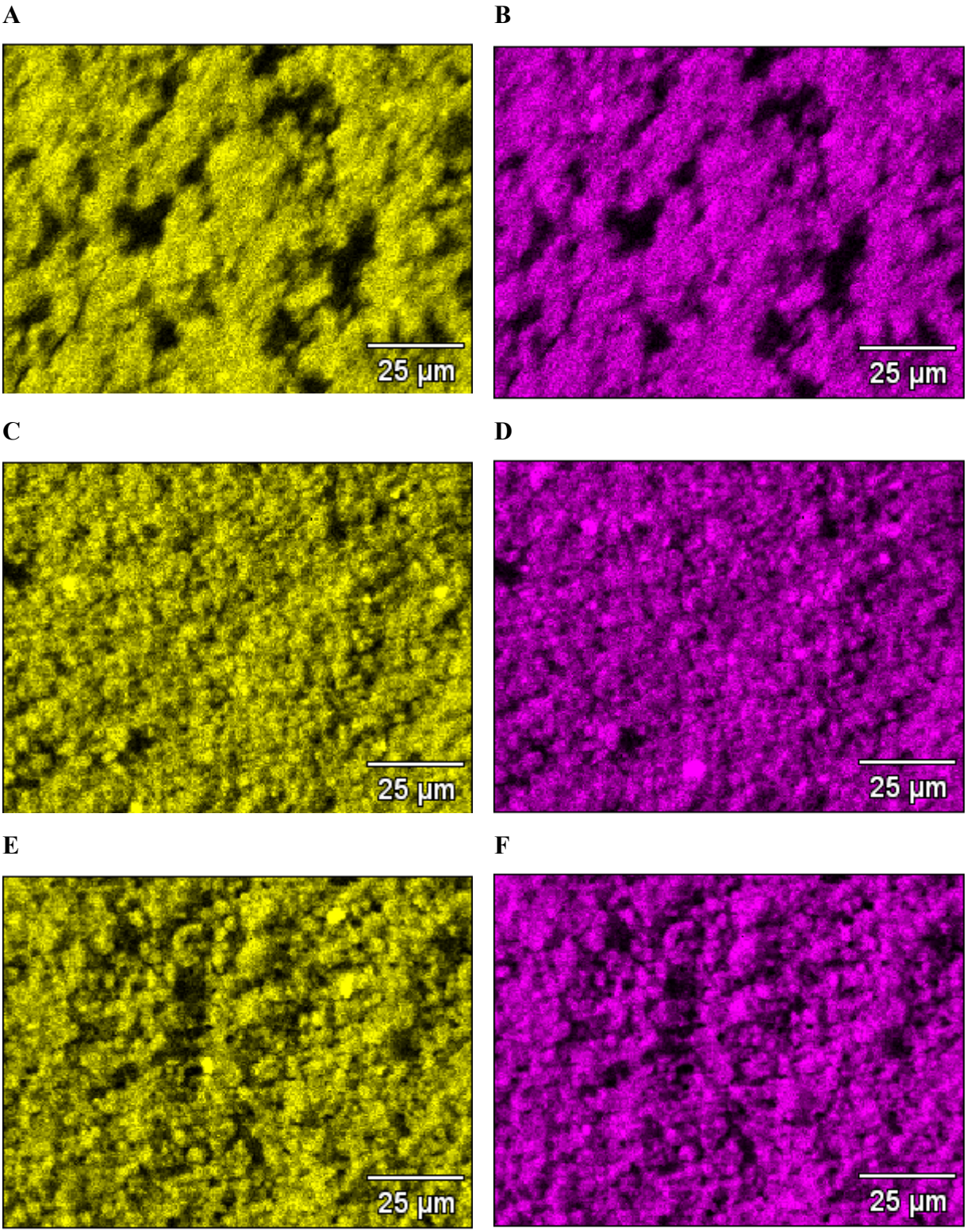


Figura 2. Mapa EDX dos elementos alumínio (amarelo) e sílica (lilás). Distribuição através da superfície dos materiais testados. (A-B) Vitro Molar®; (C-D) Ketac Cem Easymix®; (E-F) Riva Self Cure®.

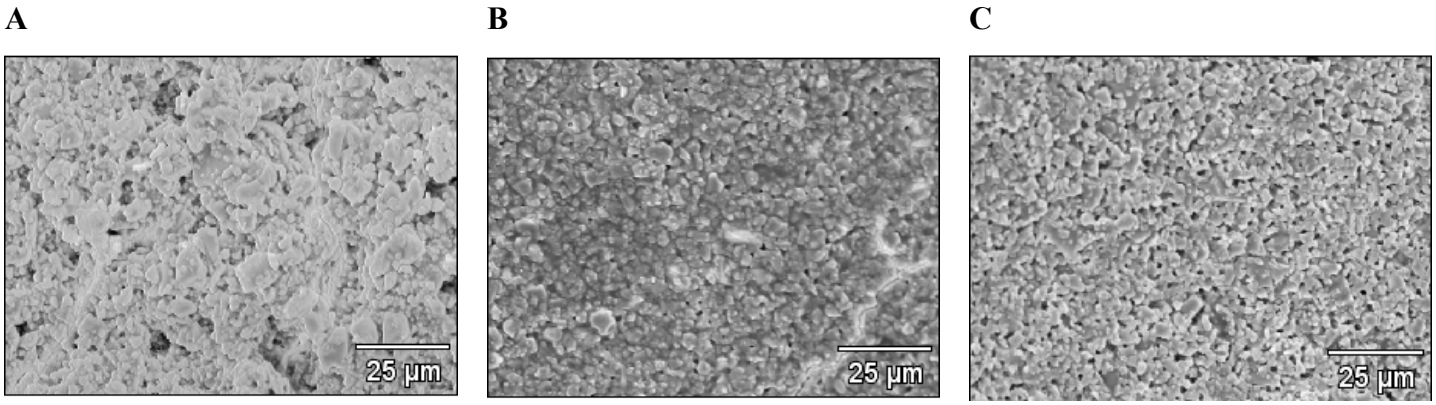


Figura 3. Fotomicrografias por meio de MEV da superfície dos materiais testados: (A) Vitro Molar®; (B) Ketac Cem Easymix®; (C) Riva Self Cure.

5. DISCUSSÃO

Os cimentos de ionômero de vidro analisados apresentaram composição química similar, cujos elementos principais incluem Al, Si, Na e F (Tabela 1). A composição química dos cimentos de ionômero de vidro permite classificá-los em convencionais, reforçados por metal, de alta viscosidade e modificados por resina (Yli-Urpo *et al*., 2005). No presente estudo, a seleção destes materiais levou em conta as diferentes formulações e suas indicações clínicas.

A análise por espectroscopia de dispersão de raios X representa um método confiável, preciso e reprodutível para quantificar os principais constituintes ou compostos presentes em um material ou mistura (Tay *et al*., 2001; Yap *et al*., 2003; Dammaschke *et al*., 2005; Estrela *et al*., 2012). A identificação dos principais constituintes do material torna-se essencial, uma vez que possibilita melhor entendimento de suas propriedades físicas, biológicas, químicas e mecânicas (Islam *et al*., 2006; Souza *et al*., 2006). Contudo, esse método apresenta limitações quanto à detecção de elementos de baixo peso molecular. A proporção de eventos ionizantes que resulta na emissão de raios X decresce à medida que o número atômico do elemento diminui. Assim, a quantificação de compostos orgânicos, os quais possuem carbono, hidrogênio e oxigênio, não pode ser realizada com precisão (Vaughan *et al*., 1999). Yap *et al*. (2003) caracterizaram o pó do cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade de presa rápida (Fuji IX GP rápido e Fuji IX GP) em relação ao tamanho das partículas, distribuição e composição química. A análise EDX revelou que os três principais elementos no Fuji IX GP rápido eram o oxigênio (66,75%), sílica (13,18%) e alumínio (16, 72%). O Fuji IX GP também apresentou os mesmos três elementos nas seguintes proporções: oxigênio (64,42%),

sílica (16,77%) e alumínio (16,72%). Zanata *et al*. (2011) avaliaram a composição química dos cimentos de ionômero de vidro de alta viscosidade (Fuji IX, GC Dental Co. Tóquio, Japão) após 10 anos de acompanhamento clínico. As cavidades foram restauradas de acordo com a técnica ART e analisadas quimicamente com MEV/EDX. Os principais componentes químicos e a média dos valores foram: F (5,1%), Al (16,9%), Si (15,8%), P (2,7%), K (1,1%), Ca (3,7%) e Sr (11,1%).

A capacidade dos cimentos de ionômero de vidro liberarem fluoreto tem sido um fator significante em sua seleção na odontologia (Williams *et al*., 1999). Estudos anteriores documentaram o efeito preventivo da cárie dentária em longo prazo resultante da liberação de fluoreto (F^-) (Ngo *et al*., 2006; Fook *et al*., 2008). A incorporação do fluoreto nos cimentos de ionômero de vidro, além do efeito preventivo da cárie, melhora sua resistência e propriedades de manipulação (De Barra *et al*., 2000; Griffin *et al*., 2000). Vários fatores podem influenciar a liberação de fluoreto dos cimentos de ionômero de vidro, tais como: composição, dimensão da amostra, técnica de manuseio, pH da área de aplicação e proporção pó-líquido (el Mallakh & Sarkar, 1990; Williams *et al*., 1999). O flúor deve ser constantemente liberado em pequenas quantidades, a fim de proporcionar níveis elevados e consistentes (Dionysopoulos *et al*., 2003). No presente estudo, os resultados mostraram que foi encontrado flúor em todos os cimentos de ionômero de vidro restauradores testados, em concentrações que variaram de 11,05%p a 17,36%p. Zanata *et al*. (2011) encontraram valores inferiores (3,0%p a 5,1%p) de flúor nos materiais estudados. No entanto, suas análises ocorreram após 10 anos de controle clínico. Apesar de alguns cimentos apresentarem quantidades reduzidas de flúor, Ngo *et al*. (1997) demonstraram que mesmo pequenas quantidades de fluoreto podem proporcionar proteção contra a desmineralização.

Gjorgievska *et al.* (2012) determinaram as quantidades de ions flúor liberados que migraram para os constituintes dentários, esmalte e dentina de dentes extraídos. Foram preparadas cavidades cervicais (Classe V) em três dentes e, a seguir, preenchidas com cimento de ionômero convencional, cimento de ionômero de vidro modificado por resina e resina composta fluoretada ("compômero"). Decorridos 2 anos e 6 meses, as amostras foram analisadas em MEV/EDX. O ionômero de vidro convencional apresentou o maior nível de migração de íons flúor, enquanto que a resina composta fluoretada mostrou pouca ou nenhuma migração de íons. Para Zanata *et al*. (2011), os valores mais baixos de ions flúor encontrados nos cimentos de ionômero de vidro modificados por resina devem-se à ausência da fase de liberação inicial do flúor, normalmente observada nos cimentos de iômero de vidro convencionais.

O alumínio é um constituinte essencial do cimento de ionômero de vidro e responsável pela estabilidade de presa do cimento (Wilson & McLean, 1988). Andersson & Dahl (1994) estudaram a liberação de alumínio a partir de cimentos de ionômero de vidro durante o contato precoce com água e observaram maior liberação de alumínio a partir de materiais auto-polimerizáveis. A liberação considerável de alumínio a partir de cimentos de ionômero de vidro durante a exposição precoce à água pode explicar a falta de mineralização da pré-dentina na polpa abaixo dos cimentos de ionômero de vidro. Griffin & Hill (1999) discutiram as propriedades dos cimentos de ionômero de vidro em função da variação da proporção de silício para alumínio. Os mesmos, observaram que a proporção de silício para alumínio não mostrava influência sobre a resistência à compressão das pastas de cimento após reação de presa e a força de compressão máxima esperada tem proporções de Al-Si próximas de um.

O Bário (Ba) é um elemento de elevado peso molecular e está associado à estética, sendo considerado um modificador óptico. Este elemento foi observado apenas no Vitro Molar®, na concentração de 12,06% em peso. Witten *et al*. (2012) demonstraram que alumínio, bário e enxofre são considerados citotóxicos ou genotóxicos, dependendo da concentração em que são utilizados. Souza *et al*. (2006) avaliaram os efeitos dos cimentos de ionômero de vidro modificados por resina (Rely X® cimentação, Vitremer® e Vitrebond®) aplicados sobre a cultura de células ou implantados no tecido subcutâneo de ratos. Os materiais influenciaram significativamente a atividade respiratória celular e promoveram moderada a intensa reação inflamatória. Para os autores, os cimentos de ionômeros de vidro modificados por resina podem causar uma resposta inflamatória perceptível quando em contato direto com o tecido conjuntivo e os efeitos tóxicos deste tipo de material solúvel dependem da quantidade de componentes liberados no ambiente aquoso.

Para checar as propriedades dos materiais e interações com os sistemas biológicos torna-se necessário conhecer a superfície dos materiais (Dammaschke *et al*., 2005; Shahid *et al*., 2011). As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) têm demonstrado serem ferramentas úteis de pesquisa para investigar o tamanho de partículas ou a granulação presente nas superfícies dos materiais (Andersson & Dahl, 1994; Yap *et al*., 2003; Yli-Urpo *et al*., 2005; Estrela *et al*., 2012). O mapeamento dos componentes permite revelar os elementos distribuídos ao longo da superfície externa dos materiais, a qual pode manter contato direto e influenciar as características das respostas biológicas do tecido.

Dentre os requisitos de um material restaurador ideal, inclui-se uma superfície de aspecto regular (Smales & Joyce, 1978). Os cimentos de ionômero de vidro apresentam algumas limitações clínicas, como o prolongado tempo de presa, sensibilidade a umidade,

desidratação e superfície com aspecto rugoso (Nicholson, 1998; Cattani- Lorente *et al*., 1999; Pereira *et al*., 2002; Kramer *et al*., 2003). Os ionômeros de vidro que apresentam elevada irregularidade de superfície provavelmente causam maior adesão bacteriana e, consequentemente, aumentam o risco de cárie dentária (Bala *et al.* 2012). Bala *et al.* (2012) avaliaram a irregularidade de superfície e dureza de seis diferentes cimentos de ionômero de vidro e determinaram a existência de correlação entre a irregularidade da superfície dos cimentos de ionômero de vidro e a dureza. Todos os cimentos de ionômero de vidro testados apresentaram baixos valores de irregularidade de superfície após os procedimentos de polimento. Assim, pode-se sugerir que diferenças na composição dos ionômeros de vidro podem afetar tanto a dureza quanto a irregularidade de superfície.

No presente estudo, as superfícies dos materiais foram qualitativamente analisadas e classificadas de acordo com prévio estudo (Carvalho *et al*., 2012). A análise de superfície revelou que todos os cimentos de ionômero de vidro apresentaram distribuição uniforme dos elementos, com aspecto variando entre regular e irregular. Estudos anteriores (Yli-Urpo et al, 2005;. Goenka *et al,* 2012;. Carvalho *et al*, 2012; Bala *et al*, 2012) observaram várias trincas nas superfícies de materiais à base de cimentos de ionômero de vidro. A presença de fendas facilitam os fenômenos de degradação da superfície dos materiais, de modo a permitir que os fluidos biológicos penetrem através da superfície e favoreçam a descoloração (Goenka *et al*., 2012). Além disso, os materiais que apresentam texturas de superfície mais densas, com espaços vazios menores, apresentaram valores de dureza mais elevados (Xie *et al*, 2000, Goenka *et al*, 2012). Xie *et al.* (2000) sugeriram que fatores tais como a integridade da interface entre as partículas de vidro, a matriz de polímero, o tamanho de partícula, o número e tamanho dos espaços têm um papel importante na determinação das propriedades mecânicas. No entanto, trincas podem ser produzidas por desidratação durante a preparação das amostras para avaliação por MEV (Bala *et al*, 2012, Carvalho et al, 2012).

Os resultados da presente pesquisa proporcionaram um melhor entendimento das interações que ocorrem entre cimentos de ionômero de vidro e tecidos dentários. Todavia, novos estudos são necessários em busca de um material com componentes químicos cujas propriedades sejam efetivas quanto às características mecânicas, físico-químicas, biológicas e estéticas, com boa aplicação em odontologia restauradora.

6. CONCLUSÃO

Os cimentos de ionômero de vidro analisados mostraram discrepância entre os elementos encontrados e os principais componentes descritos pelos fabricantes. As estruturas tiveram superfícies regulares e irregulares, mas com elementos distribuídos uniformemente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andersson ÖH, Dahl JE. Aluminium release from glass ionomer cements during early water exposure *in vitro*. Biomaterials 1994; 15:882-8.
2. Bala O, Arisu HD, Yikilgan I, Arslan S, Gullu A. Evaluation of surface roughness and hardness of different glass ionomer cements. Eur J Dent 2012; 6:79-86.
3. Bernardo PC, Rodrigues CRMD, Souza Paiva JA, Singer JM, Sanudo A. Avaliação clínica de um cimento de ionômero de vidro utilizado como selante oclusal. Pesq Odont Bras 2000; 14:53-7.
4. Billington RW, Williams JA, Pearson GJ. Ion processes in glass ionomer cements. J Dent 2006; 34: 544-55.
5. Bullard RH, Leinfelder KF, Russell CM. Effect of coefficient of thermal expansion on Microleakage. J Am Dent Assoc 1998; 116:871-4.
6. Carvalho FG, Sampaio CS, Fucio SBP, Carlo HL, Correr-Sobrinho L, Puppin-Rontani RM. Effect of chemical and mechanical degradation on surface roughness of three glass ionomer and a nanofilled resin composite. Oper Dent 2012; 37:509-17.
7. Cattani-Lorente MA, Dupuis V, Payan J, Moya F, Meyer JM. Effect of water on the physical properties of resin-modified glass ionomer cements. Dent Mater 1999; 15:71-8.
8. Costa CAS, Giro EMA, Nascimento ABL, Teixeira HM, Hebling J. Short-term evaluation of the pulpo-dentin complex response to a resin-modified glass-ionomer cement and a bonding agent applied in deep cavities. Dent Mater 2003; 19:739-46.
9. Crowley CM, Doyle J, Towler MR. Influence of acid washing on the surface morphology of ionomer glasses and handing properties of glass ionomer cements. J Mater Sci: Mater Med 2007; 18:1497-1506.
10. Dammaschke T, Gerth HUV, Züchner H, Schäfer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. Dent Mater 2005; 21:731-8.

11. De Barra E, Hill RG. Influence of glass composition on the properties of glass polyalkenoate cements. Part III: influence of fluoride content. Biomaterials 2000; 21:563-9.
12. Du X, Huang X, Huang C, Frencken JE, Yang T. Inhibition of early biofilm formationby glass-ionomer incorporated with chlorhexidine in vivo:a pilot study. Aust Dent J 2012; 57: 58-64.
13. Ellakuria J, Triana R, Mínguez N, Soler I, Ibaseta G, Maza J, García-Godoy F. Effect of one-year water storage on the surface microhardness of resin-modified versus conventional glass-ionomer cements. Dent Mater 2003; 19:286-90.
14. Erickson RL, Glasspoole EA. Bonding to tooth structure: a comparison of glass ionomer and composite-resin systems. J Esthet Dent 1994; 6:227-44.
15. Estrela C, Sousa-Neto MD, Guedes OA, Alencar AHG, Duarte MAH, PÉCORA JD. Characterization of calcium oxide in root perforation sealer materials. Braz Dent J 2012; 23:539-46.
16. Fook ACBM, Azevedo VVC, Barbosa WPF, Fidéles TB, Fook MVL. Materiais odontólogicos: Cimentos de ionômero de vidro. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, 2008; 31:40-45
17. Frencken JE, Pilot T, Songpaisan Y, Phantumvanit P. Atraumatic restorative treatment (ART): rationale, technique, and development. J Public Health Dent 1996; 56:135-40.
18. Gillgrass TJ, Millett DT, Creanor SL, Mackenzie D, Bagg J, Gilmour WH, Foye RH. Fluoride release, microbial inhibition and microleakage pattern of two orthodontic band cements. J Dent 1999;27:455-61.
19. Gjorgievska E, Nicholson JW, Grcev AT. Ion migration from fluoride-releasing dental restorative materials into dental hard tissues. J Mater Sci Mater Med 2012; 23:1811-21.
20. Gladys S, Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Comparative physico-mechanical characterization of new hybrid restorative materials with conventional glass-ionomer and resin composite restorative materials. J Dent Res 1997; 76:883-94.
21. Goenka S, Balu R, Kumar TSS. Effects of nanocrystalline calcium deficient hydroxyapatite incorporation in glass ionomer cements. J Mech Behav Biomed Mater 2012; 7:69-76.

22. Griffin SG, Hill RG. Influence of glass composition on the properties of glass polyalkenoate cements. Part I: influence of aluminium to silicon ratio. Biomaterials 1999; 20:1579-86.
23. Griffin SG, Hill RG. Influence of glass composition on the properties of glass polyalkenoate cements. Part II: influence of phosphate content. Biomaterials 2000; 20:399-403.
24. Hamilton IR. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. J Dent Res 1990; 69:660-7. [special issue].
25. Islam I, Chng HK, Yap AUJ. X-ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. Int Endod J 2006; 39:220-5.
26. Itota T, Carrick TE, Yoshiyama M, McCabe JF. Fluoride release and recharge in giomer, compomer and resin composite. Dent Mater 2004; 20:789-95.
27. Kerby RE, Knoblock L. Strength characteristics of glassionomer cements. Oper Dent. 1992; 17: 170-4.
28. Klein MI. **Transmissão, diversidade e estabilidade de genótipos de S*treptococcus mutans* e de *Streptococcus sobrinus*: estudo longitudinal em crianças**. Tese - Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2003.
29. Kramer PF, Pires LAG, Tovo MF, Kersting TC, Guerra S. Microleakage between two filling restorative techniques using glass ionomer cement in primary molars: comparatitve "in vitro" study. J Appl Oral Sci 2003; 11:114-9.
30. Leyhausen G, Abtahi M, Karbakhsch M, Sapotnick A, Geurtsen W. Biocompatibility of various light-curing and one conventional glass-ionomer cement. Biomaterials 1998; 19: 559-64.
31. Mount GJ. Glass-ionomers: a review of their current status. Oper Dent. 1999; 24: 115-24.
32. Ngo HC, Mount G, Intyre JMc, Tuisuva J, Von Doussa RJ. Chemical exchange between glass-ionomer restorations and residual carious dentine in permanent molars: an in vivo study. J Dent 2006; 34:608-13.
33. Nicholson JW. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. Biomaterials 1998; 19:485-94.
34. Pereira DC, Afonso TS, Chavasco JK. Estudo "*in vitro*" da ação antimicrobiana de agentes cimentantes utilizados em odontologia, sobre *Streptococcus mutans, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*. Rev Univ Alfenas 1998a; 4:175-8.

35. Pereira LC, Nunes MC, Dibb RG, Powers JM, Roulet JF, Navarro MF. Mechanical properties and bond strength of glass-ionomer cements. J Adhesive Dent 2002;4:73-80.
36. Pereira PNR, Inokoshi S, Tagami J. *In vitro* secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. J Dent 1998b; 26:505-10.
37. Pereira PNR, Inokoshi S, Yamada T, Tagami J. Microhardness of *in vitro* caries inhibition zone adjacent to conventional and resin-modified glass ionomer cements. Dent Mater 1998; 14:179-85.
38. Pithon, M.M.; De Oliveira, M.V.; Ruellas, A.C.O. Estudo comparativo da resistência ao cisalhamento de bráquetes metálicos colados com cimentos de ionômero de vidro reforçados com resina. Rev Saúde Com 2006; 2: 127-134.
39. Roeland JGM, Ronald MHV. Effect of acetic acid on the fluoride release profiles of restorative glass ionomer cements. Dent Mater 1998; 14:261-8.
40. Shahid S, Billington RW, Hill RG. The effects of ultrasound on the uptake of fluoride by glass ionomer cements. Master Med.2011;22: 247-251
41. Sidhu SK, Watson TF. Resin-modified glass ionomer materials. Am J Dent 1995; 8:59-67.
42. Smales R, Joyce K. Finished surface texture, abrasion resistance, and porosity of Aspa glass-ionomer cement. J Prosthet Dent 1978; 40:549-53.
43. Souza PPC, Aranha AMF, Hebling J, Giro EMA, Costa CAS. In vitro cytotoxicity and in vivo biocompatibility of contemporary resin-modified glass-ionomer cements. Dent Mater 2006; 22: 838-44.
44. Tay FR, Sano H, Tagami J, Hashimoto M, Moulding KM, Yiu C, Pashley DH. Ultrastructural study of a glass ionomer-based, all-in-one adhesive. J Dent 2001; 29:489-98.
45. Wang XY, Jin AYU, Ngo HC. Influence of environmental calcium/phosphate and pH on glass-ionomers. Eur J Oral Sci 2007; 115:224-9.
46. Williams JA, Billington RW, Pearson GJ. The influence of sample dimensions on fluoride ion release from a glass ionomer restorative cement. Biomaterials 1999; 20; 1327-37.
47. Wilson AD, McLean JW. Glass-ionomer cements. Chicago, IL, USA: Quintessence Publishing Co. Inc., 1988.
48. Xie D, Brantley WA, Culbertson BM, Wang G. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. Dent Mater 2000; 16:129-38.

49. Yli-Urpo H, Lassila LV, Närhi T, Vallittu PK. Compressive strength and surface characterization of glass ionomer cements modified by particles of bioactive glass. Dent Mater 2005; 21:201-9.
50. Zanata RL, Magalhães AC, Lauris JRP, Atta MT, Wang L, Navarro MFL. Microhardness and chemical analysis of high-viscous glass-ionomer after 10 years of clinical service as ART restorations. J Dent 2011; 39:834-40.
51. Zhu Q, Hangland R, Safavi K, Spandberg LSW. Adhesion of human osteoblasts on the root-end filling materials. J Endod 2000; 26:404-6.

O PRESENTE RELATÓRIO FOI REVISADO PELO ORIENTADOR.

[1]Determinação dos valores de referência para a hemodinâmica em bovinos Curraleiros Pé-Duro

José Vicente Alves de Sá[1], Celina Tie Nishimori Duque[2], Sarah Barboza Martins[3], Mário Henrique Theodoro de Souza[4], Juan Carlos Duque Moreno[5]

1. Aluno PIBIC - EVZ/UFG, e-mail: jvalves@live.com
2. Docente Colaboradora de Anestesiologia Veterinária - EVZ/UFG
3. Mestranda em Ciência Animal - EVZ/UFG
4. Residente de Anestesiologia e Medicina de Emergência - EVZ/UFG
5. Docente de Anestesiologia - EVZ/UFG, e-mail: anestesiologiavet@yahoo.com.br (orientador)

RESUMO

Com este estudo objetivou-se estabelecer os valores hemodinâmicos e eletrocardiográficos de referencia para bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro. Foram usados 6 bovinos, machos, da raça Curraleiro Pé-Duro, pesando 153,5±19,91 kg e com idade aproximada de 14 meses. Após instrumentação foram analisadas as variáveis frequências cardíaca (FC) e respiratória (*f*), saturação de oxihemoglobina (SpO_2), pressões arteriais sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD), temperaturas retal (TR) e central (TC), pressão venosa central (PVC), pressão de artéria pulmonar (PAP), índices cardíaco (IC), sistólico (IS) e de resistência vascular sistêmica (IRVS). Também foram registadas as variáveis eletrocardiográficas: duração e amplitude das ondas P (Pms e Pmv), T e R, os intervalos RR, bem como a duração do segmentos PR e QT. As avaliações foram realizadas com os animais contidos em decúbito lateral e posteriormente em posição quadrupedal. Não houve diferenças significativas para as variáveis FC, *f*, TR, PAPd, DC, Pms, Pmv, PR, QRS, R, RR, IS. A SpO_2 foi maior nos animais em posição quadrupedal. Os valores de PAS, PAM, PAD e PVC foram maiores nos animais em decúbito lateral. A PAPm foi maior nos animais em posição quadrupedal. Nos traçados de ECG foram observadas diferença apenas no intervalo QT, sendo este maior nos animais em decúbito lateral. O IC e o IRVS foram maiores nos animais em decúbito lateral. Devido à escassez de informações a respeito da raça Curraleira Pé-Duro, este estudo contribuirá para o fornecimento de informações complementares sobre a raça e, principalmente, para futuros estudos em diferentes áreas, como fisiologia, reprodução, cirurgia e anestesiologia, entre outras.

Palavras-chave: cardiovascular, eletrocardiografia, monitoração invasiva, termodiluição

[1] Revisado pelo orientador

INTRODUÇÃO

O Curraleiro é descendente dos bovinos trazidos pelos portugueses no período colonial (RANGEL et al., 2004). Teve como origem a união das raças portuguesas, Alentejana e Galega, com animais de origem espanhola pertencentes ao tronco *Bos taurus ibericus*. Formou-se em regime de criação superextensiva, sem cuidados sanitários e nutricionais (BARINI 2007), portanto é considerada uma raça nativa naturalizada por ser resultado de um processo de seleção natural no qual a intervenção do homem não parece ter agido. Esta seleção natural das raças ocorreu durante 400 anos com a eliminação dos bovinos não adaptados, dando oportunidade à sobrevivência e desenvolvimento de animais resistentes às características climáticas do país (PRIMO, 1992).

O nome da raça está ligada aos colonizadores que seguiam o Rio São Francisco, e ao longo de suas margens construíam currais. O rio na época foi denominado Rio dos Currais, sendo que mais tarde os colonizadores utilizariam os leitos dos rios Paraim, Canimbé e Corrente, sempre fazendo currais. Estes homens eram chamados de curraleiros, denominação que, mais tarde, foi estendida aos animais (LÍCIO, 1995)

A raça Curraleira apresenta características de adaptação e resistência às condições brasileiras. São animais de menor peso, dóceis, rústicos, adaptados à seca e ao calor, resistentes a doenças e parasitas, além de serem muito longevos (MARIANTE & CAVALCANTE, 2000). Com essas características, poderiam ocupar milhares de hectares de áreas desfavoráveis a outras raças, sem precisar de grandes investimentos por parte dos produtores. Entretanto, com a introdução das raças zebuínas de maior tamanho, os reprodutores da raça curraleira foram esterilizados e substituídos por touros zebus, quase extinguindo a raça (CARVALHO, 1985).

A extinção de raças locais brasileiras representaria perda irreparável para a ciência, pois, com elas, desapareceriam também várias informações contidas na estrutura genética, esta última desenvolvida ao longo de séculos por seleção natural, o que conferiu ao Curraleiro características de boa adaptação ao meio (MARIANTE & CAVALCANTE, 2000).

Para a preservação da raça é importante o conhecimento prévio das características fisiológicas, o que requer o desenvolvimento de pesquisas que visem ao conhecimento específico da raça e consequentemente objetivem a preservação da mesma (BARINI 2007). Sendo assim, é indispensável que se determinem diferentes parâmetros, dentre eles os hemodinâmicos. O estabelecimento do perfil destas variáveis assume papel importante tanto na avaliação do estado geral como meio auxiliar na caracterização diagnóstica de várias enfermidades tanto no indivíduo como no rebanho.

Os grandes avanços científicos e tecnológicos determinaram mudanças na prática clínica, tornando a avaliação hemodinâmica cada vez mais empregada na rotina. Entretanto, em bovinos ainda é bastante escassa provavelmente devido à falta de conhecimento e treinamento técnico, mas principalmente devido às dificuldades encontradas na realização de uma monitoração avançada, excetuando-se em situações experimentais.

Existem apenas referências antigas como a pesquisa de REEVES et al. (1962) na qual foi avaliada a hemodinâmica em 20 bovinos, porém ainda existem poucos estudos referentes ao monitoramento hemodinâmico em bovinos. Podem ser citados também trabalhos mais atuais, dentre eles o de SUZUKI et al. (2005) que realizaram estudo hemodinâmico em bovinos conscientes comparando pequenos volumes de solução salina hipertônica e dextran 40. Já ROSA et al. (2009) analisaram parâmetros cardiorrespiratórios (frequências cardíaca e respiratória, pressão arterial média e temperatura corporal) hemogasométricos e concentração plasmática de cortisol em bovinos submetidos à imobilização eletromagnética. RODRIGUES et al. (2010) realizaram avaliação clínica e hemodinâmica (frequência cardíaca, pressão arterial e controle eletrocardiográfico) periparto de fêmeas bovinas da raça Holandesa em diferentes condições obstétricas.

Tendo a clínica médica um papel fundamental no contexto da saúde animal, o conhecimento de valores de referencia relacionados a uma espécie animal pouco estudado é de extrema importância, visto que para o reconhecimento de enfermidades, estabelecendo um diagnóstico, determinar um prognóstico, instituir terapias e aplicar medidas profiláticas, devem ser utilizados todos os recursos disponíveis (NETO 2004).

Desta forma, neste estudo, optou-se por avaliar os animais conscientes para se obter valores fisiológicos. Assim, pretende-se, com este estudo, obter valores hemodinâmicos de referência para a raça.

METODOLOGIA

Animais

Foram utilizados seis bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro (GC) considerados sadios depois de exames clínicos e laboratoriais para evitarem-se animais portadores de doença. O peso médio destes animais foi de 153,5±19,91 kg e na época do experimento os animais tinham aproximadamente 14 meses de idade. Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFG.

Delineamento experimental

Preparo dos animais

No dia do experimento, após jejum alimentar de 24 horas e hídrico de quatro horas, os animais foram posicionados no tronco de contenção física, realizou-se tricotomia da face dorsal da orelha para introdução de cateter intravenoso de polietileno 20G acoplado ao adaptador PRN na artéria marginal para avaliação das pressões arteriais sistólica, diastólica e média, e para a colheita de amostras para gasometria arterial.

Realizou-se tricotomia do terço médio da região cervical, para colocação de um introdutor na veia jugular esquerda para introdução de um cateter de Swan-Ganz (Cateter Swan-Ganz, mod. 7F, 4 vias, Edwards Lifesciences LLC, Irvine, CA, EUA) cuja extremidade proximal foi posicionada no átrio direito e a distal e o termístor na artéria pulmonar pela observação das ondas de pressão, conforme técnica descrita por Swan-Ganz e citada por SISSON (1992).

Os eletrodos do eletrocardiógrafo computadorizado (TEB ECG-PC Eletrocardiograma para computador, Tecnologia Eletrônica Brasileira Ltda.) foram conectados nos membros do animal para registro do traçado eletrocardiográfico na derivação II.

Momentos de avaliação

As observações das variáveis de interesse foram feitas com os animais contidos em decúbito lateral (BL) e depois em posição quadrupedal (BQ).

Parâmetros avaliados

Frequência cardíaca (FC)

A variável foi obtida nos diferentes tempos e para todos os grupos, por meio do uso de eletrocardiógrafo computadorizado, calculando-se o intervalo de tempo entre dois intervalos R-R consecutivos do traçado eletrocardiográfico.

Pressões arteriais sistólica, diastólica e média (PAS, PAD e PAM)

Na determinação destas variáveis, adotou-se monitor multiparamétrico (Dixtal modelo DX 2010 – Dixtal Biomédica Indústria e Comércio Ltda., Manaus – AM, Brasil) , cujo transdutor foi adaptado a um circuito preenchido com solução heparinizada conectado ao cateter posicionado na artéria marginal da orelha, como previamente descrito.

Débito cardíaco (DC)

Procedeu-se à mensuração desta variável utilizando dispositivo micro processado para medida direta, por meio da técnica de termodiluição. O termistor do cateterde Swan-Ganz foi posicionado na artéria pulmonar, como descrito anteriormente. No momento da colheita desconectou-se o canal utilizado para mensuração da PVC e administraram-se 3 mL de solução de glicose a 5% resfriada (0-5°C). Cada mensuração foi realizada em triplicata empregando-se a média aritmética para determinação do DC em cada momento.

Índice cardíaco (IC)

Foi calculado por relação matemática, dividindo-se o valor do DC em (L/min) pela área da superfície corpórea (ASC) em m^2, a qual foi estimada em função do peso dos animais, segundo OGILVIE (1996).

$IC = DC/ASC$ cuja $ASC = Peso^{0,6667}/10$

Índice sistólico (IS)

Os parâmetros foram calculados pelas fórmulas descritas por MUIR & MASON, (1996):

$IS = DC /ASC/FC$ ou $IS = IC/FC$

nas quais:

DC= Débito cardíaco (ml/min)

FC= Frequência cardíaca (batimentos/min)

VS= Volume sistólico (ml/batimento)

IC = Índice cardíaco ($L/min*m^2$)

ASC= Área da superfície corpórea (m^2)

IS= Índice sistólico ($ml/batimento*m^2$)

Índice da resistência vascular sistêmica (IRVS)

Esses parâmetros foram obtidos por cálculos matemáticos, empregando-se fórmulas, segundo VALVERDE et al. (1991):

$RVS = (PAM/DC)*79,9$, $IRVS = RVS*ASC$ ou $IRVS = (PAM/IC)*79,9$

Nas quais: 79,9 = Fator de correção ($mmHg*min/L$ para $dina*seg/cm^5$)

RVS = Resistência vascular sistêmica ($dina*seg/cm^5$)

PAM = Pressão arterial média (mmHg)

DC = Débito cardíaco (L/min)

IC = Índice cardíaco (L/min*m^2)

IRVS = Índice da resistência vascular sistêmica (dina*seg/cm^5*m^2)

ASC = Área da superfície corpórea (m^2)

Pressão venosa central (PVC)

A variável foi obtida mediante leitura direta em monitor multiparamétrico cujo transdutor foi adaptado ao cateter de Swan-Ganz, na entrada posicionada no átrio direito. O monitor foi desacoplado apenas nos momentos em que foi necessária a administração do líquido para permitir a mensuração do débito cardíaco.

Eletrocardiografia (ECG)

Foi obtido por eletrocardiograma em derivação DII com emprego de eletrocardiógrafo computadorizado. Foram observados os valores referentes à duração e amplitude da onda P, em milisegundos(ms) e milivolts (mV) respectivamente, intervalo entre as ondas P e R (PR) em milisegundos, duração do complexo QRS (QRSms), amplitude da onda R (RmV), duração do intervalo entre as ondas Q e T (QT), intervalo entre duas ondas R (RR). O registro de eventuais figuras eletrocardiográficas anormais foi feito continuamente ao longo de todo o experimento.

Temperatura retal (TR)

Foi aferida empregando-se termômetro digital.

Frequência respiratória (f)

O parâmetro foi obtido pela observação dos movimentos do gradil costal.

Saturação de oxihemoglobina (SpO_2)

Para aferição da SpO_2 o sensor do monitor multiparamétrico foi adaptado no prepúcio.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos na fase experimental foram submetidos à análise estatística pelo programa de computador Jandel SigmaStat for Windows (SigmaStat for Windows, versão 3.0.1. Systat Software Inc, Richmond, CA, EUA.).

O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov foi usado para verificar a distribuição normal dos dados, apresentados como médias ± desvio padrão. Para detectar diferenças das médias entre os momentos foi usado o teste t pareado. As diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Os valores médios e os desvios padrão das variáveis estudadas são apresentados na tabela 1.

Não houve diferenças significativas para as variáveis FC, *f*, TR, PAPd, DC, Pms, Pmv, PR, QRS, R, RR, IS.

A SpO_2 foi maior nos animais em posição quadrupedal ($P > 0,050$).

Os valores de PAS, PAM, PAD ($P=0,012$) e PVC ($P=0,015$) foram maiores nos animais em decúbito lateral.

A PAPm foi maior nos animais em posição quadrupedal.

Nos traçados de ECG foram observadas diferença apenas no intervalo QT, sendo este maior nos animais em decúbito lateral.

O IC e o IRVS foram maiores nos animais em decúbito lateral.

Tabela 1 – Valores médios e desvios padrão de frequência cardíaca (FC), saturação de oxihemoglobina (SpO2), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial média (PAM), pressão arterial diastólica (PAD), frequência respiratória (*f*), temperatura retal (TR), temperatura central (TC), pressão venosa central (PVC), pressão arterial pulmonar (PAPm), índice cardíaco (IC), índice sistólico (IS) e índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) obtidos de bovinos Curraleiros conscientes nas posições lateral (BL) e quadrupedal (BQ).

Parâmetro		BL	BQ
FC (bpm)	Média	60	57
	DP	11,74	6,88
SpO2* (%)	Média	95	98
	DP	1,97	1,00
PAS* (mmHg)	Média	153	141
	DP	10,69	14,77
PAD* (mmHg)	Média	153	141
	DP	10,69	14,77
PAM* (mmHg)	Média	131	116
	DP	9,33	7,22
***f* (mpm)**	Média	13	15
	DP	4,45	3,94
TR (°C)	Média	38	38
	DP	0,74	0,64
PVC* (mmHg)	Média	0	-3
	DP	2,10	0,98
PAPm* (mmHg)	Média	14	16
	DP	6,95	6,15
DC (L min-1)	Média	14,13	13,73
	DP	1,26	1,33
P (ms)	Média	61	59
	DP	7,56	8,34
P (mV)	Média	0,15	0,13
	DP	0,04	0,05
PR (ms)	Média	157	157
	DP	11,62	12,74
QRS (ms)	Média	92	91
	DP	14,17	9,56
R (mV)	Média	0,89	0,74
	DP	0,23	0,28
QT* (ms)	Média	432	424
	DP	43,25	25,92
RR (ms)	Média	1012	1045
	DP	147,63	110,88
IC (L/min·m^2)*	Média	4,99	4,82
	DP	0,81	0,48
IS (mL/b·m$^{2)}$	Média	0,09	0,09
	DP	0,01	0,01
IRVS (dina·seg/cm^5·m^2)*	Média	2142,47	2004,83
	DP	311,71	300,17

DISCUSSÃO

Os valores obtidos neste estudo podem ser de grande utilidade para uma confiável referência de orientação para parâmetros hemodinâmicos na raça Curraleiro Pé-Duro em animais saudáveis nas posições quadrupedal e lateral.

Embora os animais tenham sido acostumados ao manejo, não pode se deixar de levar em conta a possibilidade de variação de alguns dados devido à contenção física, principalmente durante o decúbito lateral. A comparação de dados entre indivíduos com diferentes temperamentos é difícil (PARRY et al., 1984), mas com a aclimatação dos indivíduos ao manejo, procedimentos de contenção e manuseio experimental esse fator de interferência pode ser minimizado (AMORY et al., 1992).

Os valores de FC obtidos neste estudo estão bem abaixo quando comparados com os obtidos por AMORY et al., (1992) e TAKASEYA et al., (2012). AMORY et al., (1992), obteve dados de parâmetros hemodinâmicos de 21 bezerros (8 Branco-Azul Belga e 13 Friesian) com idade de 242±59 dias e peso de 246±53kg. A FC média basal destes animais foi de 98,5±9,2 bpm. TAKASEYA et al. (2012), que coletaram dados de onze bezerros machos da raça Jersey, com peso de 78,1±14,3kg, obtiveram dados de FC de 111±21 bpm no momento basal. Essas diferenças com o presente estudo poderiam ser explicadas em parte pela idade dos animais, pois sabe-se que animais mais jovens apresentam FC mais alta. Contudo, não podem ser descartadas diferenças na performance cardiovascular entre raças.

Por outro lado, quando comparado com o estudo de CHEE et al. (2004) que coletou dados de 16 bezerros mestiços com idade média de 189,0±87,0 dias e peso médio de 106.9±32,3 kg, e obteve valores de 65±12 bpm para FC, não há diferenças relevantes em relação aos valores obtidos no presente estudo.

A característica de docilidade do bovino curraleiro pé duro descrita por MARIANTE & CAVALCANTE (2000), também podem justificar o fato de a FC destes animais manter-se estável mesmo quando contidos, apresentando valores menores que os descritos por outros autores.

Os valores maiores de SpO_2 durante a posição quadrupedal podem indicar melhor ventilação pulmonar do que a observada no período em que os animais estavam contidos em decúbito lateral. De qualquer forma, os valores obtidos são considerados normais de acordo com JUNIOR et al. (1998).

Quando analisadas as diferenças na PAS, PAM e PAD entre grupos, observa-se novamente o efeito da contenção física, que pode ter induzido estresse adicional nos animais levando à liberação de catecolaminas e estimulação cardiovascular. ROSA et al. (2009)

utilizaram seis fêmeas bovinas mestiças, para coletar dados referentes a parâmetros hemodinâmicos e dosagens de cortisol durante a contenção. Esses autores observaram que tanto FC quanto PAM apresentaram valores aumentados durante e imediatamente após a contenção.

Comparando os valores de PAM com outros estudos observaram-se valores mais altos nos Curraleiros que os obtidos no trabalho de TAKASEYA et al. (2012), que tiveram uma média de 96,7±7,9 mmHg, proporcionando uma correlação negativa com os valores de FC comparado nos dois trabalhos.

Os valores de temperatura aferidos com termômetro digital são considerados normais de acordo com CUNNINGHAM (1999) que detêm como normal valores ente 36,7 e 39,1°C. E foi comparativamente igual à valores demonstrados experimentalmente para nelores (DE OLIVEIRA et al., 1998) e para bovinos leiteiros (JUNIOR et al., 2010).

Com relação aos valores de PVC, houve diferença significativa entre os dois momentos BL e BQ, sugerindo que os procedimentos de contenção e manuseio experimental podem interferir neste parâmetro. Comparativamente, os valores de PVC obtidos neste trabalho se assemelham com LEAL et al. (2006) que ao avaliar vinte e quatro bezerros hígidos da raça holandesa entre oito e trinta dias e peso entre 37 e 50 kg nas posições quadrupedal e em decúbito lateral, obtiveram valores de PVC com média de 0,81±1,40 mmHg na posição quadrupedal e 0,88±1,76 mmHg, porém não houve variação significativa entre as duas posições no estudo. Porém, é importante salientar a uma possível influência dos movimentos respiratórios em valores baixos de PVC, pois durante a inspiração a pressão se torna negativa no espaço intrapleural e a transmissão da pressão reduzida para o átrio direito auxilia no fluxo de linfa para dentro do coração (SWENSON & REECE, 1996)

A PAPm foi maior BQ, Assim como houve diferença estatística em PAM porém com valores maiores durante BL, mostrando uma correlação negativa entre as duas variáveis, Esta correlação negativa também pode ser vista nos valores obtidos por AMORY et al. (1992) em seu estudo. Comparando os valores deste estudo com outros autores, temos valores mais baixos que os obtidos por AMORY et al. (1992) e CHEE et al. (2004).

A diferença nos valores do intervalo QT poderia ser explicada pelo alto desvio padrão para esta variável durante a contenção em decúbito lateral e o aumento na FC. Comparando os valores obtidos neste estudo com valores obtidos por DE OLIVEIRA et al. (2008) que buscou valores padrão para a raça Nelore ao analisar 200 bovinos saudáveis com FC, TR e *f* com valores considerados normais, na região de Uberlandia, MG, com idade entre 15 e 216 meses (média de 83 meses) com peso entre 370 e 1.090kg (média de 613kg). Temos que os valores

de amplitude de onda P (0,103mV) relativamente semelhantes, porém valores a amplitude de R (0,402mV) estão bem abaixo, mas pode-se levar em conta que OLIVEIRA et al. (2008) obteve valores de até 0,95mV para este parâmetro, acima dos valores de amplitude das ondas R obtidas através dos bovinos Curraleiros.

A duração da onda P (0,047s) obtida por DE OLIVEIRA et al., (2008) em bovinos Nelores foi de menor duração, o que pode ser devido a maior FC obtida no respectivo trabalho em relação à obtida no presente estudo. O intervalo PR (0,158s) foi semelhante. Os valores do intervalo QT (0,290s) foram muito mais baixos até mesmo quando comparados com outras espécies de bovinos domésticos (REZAKHANI et al., 2004) que são compatíveis com as FC mais altas dos animais estudados, porém podem indicar diferenças decorrentes da técnica empregada na execução do exame eletrocardiográfico.

Foi observada diferença estatística nos valores de IC, que é um parâmetro derivado dos valores de DC corrigidos através dos valores de ASC. Provavelmente está diferença foi observada devido aos procedimentos de contenção e manuseio experimental AMORY et al., (1992). Os valores foram relativamente aumentados quando comparados com os dados normais apresentados por JUNIOR et al., (1998) que são de 2,8 – 4,0 L/min. m^2. Entretanto, vale salientar que apesar de significativas as diferenças não possuem relevância clínica.

Neste parâmetro analisado houve diferença entre os dois momentos analisados, sendo os valores em BL mais altos que os obtidos em BQ, possivelmente devido à vasoconstrição periférica ocasionada devido a maiores concentrações de cortisol circulante nos momento da contenção, como descrito por ROSA et al. (2009). Comparativamente, os valores obtidos por AMORY et al. (1992) e TAKASEYA et al. (2012), que estudaram os valores de RVS sem haver a correção através dos valores de ASC, foram menores do que os encontrados neste estudo o que pode indicar diferenças ao aplicar os cálculos para obtenção destes parâmetro. Porém, percebe-se o aumento dos valores numéricos referentes à este parâmetro no decorrer do experimento, quando o animal encontra-se contido, podendo confirmar a sugestão dada anteriormente.

CONCLUSÕES

Após a execução deste estudo, foram obtidos valores de referências para variáveis hemodinâmicas em bovinos Curraleiro Pé-Duro, raça muito pouco estudada e que representa um bovino rústico e resistente selecionado naturalmente por mais de 400 anos, o que contribuiu para a escassa literatura existente. Foi importante confrontar os valores obtidos neste estudo com demais estudos em outras raças bovinas, muitas delas bastante estudadas e

com grande representatividade como fator de produção, principalmente na categoria corte como, por exemplo, Nelores. Nessa comparação, perceberam-se diferenças em parâmetros como FC, que sugerem, com valores mais baixos, a real docilidade desta raça. Mas ao analisar outros como IC, poder-se-ia sugerir diferenças na performance cardiovascular entre raças, que podem ou não atribuir a maior resiliência aos animais mais rústicos. Outros estudos serão necessários para verificar essa possibilidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O programa de iniciação científica é de grande valia na formação integral do aluno, principalmente daquele que tem interesse na pesquisa e em aprofundar seus conhecimentos em uma área específica. Apesar de os recursos financeiros serem muito limitados, em algumas ocasiões é possível desenvolver pesquisas de alto nível técnico-científico e que realmente contribuem com o conhecimento aplicado no cenário local. Esse é o caso deste trabalho que visa à obtenção de dados de referência para uma raça autóctone brasileira em perigo de extinção. Os dados obtidos neste estudo servirão de base para novas pesquisas em diferentes áreas, além da anestesiologia, e contribuirão na preservação desse patrimônio genético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORY H, LINDEN AS, DESMECHT DJ, ROLLIN FA, MCENTEE K, LEKEUXPM. Technical and methodological requirements for reliable haemodynamic measurements in the unsedated calf. **Vet Res Commun** 16: 391– 401,1992.

BARINI, A. *Bioquímica sérica de bovinos (Bos taurus) sadios da raça Curraleiro de diferentes idades.* (Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, UFG). *90f. 2007.*

CARVALHO, J. H. Pé-duro, patrimônio preservado no Piauí. **Dirigente Rural**, São Paulo, v. 24, n. 5, p. 26-28, 1985.

CHEE, H. K., FERRARI, M., CONGER, J. L., STAINBACK, R. F., HERNANDEZ, A., TUZUN, E., & KADIPASAOGLU, K. A. Baseline Hemodynamic and Echocardiographic Indices in Anesthetized Calves. **ASAIO Journal**, v. 49, n. 2, p. 174, 2003.

CUNNINGHAM, J. *Tratado de fisiologia veterinária*. Elsevier. 2011.

DE OLIVEIRA, P. C. L., DO CARMO PANETO, J. C., NETO, J. F. R., & SILVA, R. C. Padronização da técnica de execução e parâmetros eletrocardiográficos normais, em derivações periféricas, para bovinos indianos adultos (Bos taurus indicus) da raça Nelore. 2008

JUNIOR, F. A. B., TRAPP, S. M., DA SILVA, L. C., ZANLUCHI, A. T., QUEIROZ, F. B. J., FILHO, L. F. C. C., & OKANO, W. Avaliação da temperatura retal e freqüência respiratória em bovinos leiteiros como ferramenta de seleção para termotolerância. 2010.

JÚNIOR, G. A. P., MARSON, F., OSTINI, F. M., ANTONIAZZI, P., GOMIDE, M. D. A., & BASILE-FILHO. A. MONITORIZAÇÃO HEMODINÂMICA INVASIVA. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 31, n. 3, 1998.

LEAL, M. L., CYRILLO, F. C., BERTAGNON, H. G., MICHIMA, L. E., & BENESI, F. J. Pressão venosa central em bezerros neonatos hígidos; Central venous pressure in healthy newborn calves. **Arq. bras. med. vet. zootec**, v. 58, n. 5, p. 718-723, 2006.

LÍCIO, P. Em defesa do Pé-Duro. **Suplemento do Campo,** p. 8, 1995

MARIANTE, A. S.; CAVALCANTE, N. **Animais do descobrimento – raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2000, 232p.

MUIR, W. W.; MASON, D. Cardiovascular system. In: THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb & Jones' veterinary anesthesia.** 3. ed. Lea & Feabiger: Philadelphia, 1996. cap. 5, p. 62-114.

PAULA, NETO. **JB Hemogramas de bovinos (Bos taurus) sadios da raça Curraleiro de diferentes idades, machos e fêmeas, gestantes e não gestantes. 65f**. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, UFG. **2004.**

OGILVIE, G. K. Chemotherapy. In: WITHROW, S. J.; MAcEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology.** 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p. 75.

PARRY, B. W.; MCCARTHY, M. A.; ANDERSON, G. A. Survey of resting blood pressure values in clinically normal horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 1, p. 53-58, 1984.

PRIMO, A. T. El Ganado bovino iberico en las Americas: 500 años depues. **Archivos de Zootenia**, Córdoba, v. 41, p. 421-432, 1992.

RANGEL, P. N.; ZUCCHI, M. I.; FERREIRA, M. E. Similaridades genéticas entre raças bovinas brasileiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 1, p. 97-100, 2004.

REEVES, J. T.; GROVER, R. F.; WILL, D. H.; ALEXANDER, A. F. Hemodynamics in normal cattle. **Circulation Research**, Dallas, v. 10, p. 166-171, 1962.

REZAKHANI, Ali; PAPHAN, Ahmad Ali; SHEKARFROUSH, Shahram. Analysis of base apex lead electrocardiograms of normal dairy cows.**Veterinarski arhiv**, v. 74, n. 5, p. 351-358, 2004.

RODRIGUES, J. A.; LÚCIO, C. F.; SILVA, L. C .G.; VEIGA, G. A. L.; NIEMEYER, C.; VANNUCCHI, C. I. Avaliação clínica e hemodinâmica periparto de fêmeas bovinas da raça Holandesa em diferentes condições obstétricas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 6, p. 468-476, 2010.

ROSA, A. C.; MORAES, A. N.; BEIER, S. L.; OLESKOVICZ, N.; REGALIN, D.; CARNEIRO, R.; NASCIMENTO, C. A. F. Avaliação dos parâmetros cardiorrespiratórios, hemogasométricos e da concentração plasmática de cortisol em bovinos submetidos à imobilização eletromagnética. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 29, n. 10. p. 816-822, 2009.

SISSON, D. Avaliação clínica da função cardíaca. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. cap. 72. p. 970-986.

SWENSON, Melvin J.; REECE, WILLIAM O. Dukes fisiologia dos animais domésticos. **Rio de Janeiro: Guanabara**, p. 19-41, 1996. 856p.

Takaseya, T., Fujiki, M., Shiose, A., Kim, H. I., Kobayashi, M., Massiello, A. L., ... & Fukamachi, K. Hemodynamic differences between the awake and anesthetized conditions in normal calves. **Journal of Artificial Organs**, v. 15, n. 3, p. 225-230, 2012.

VALVERDE, A. DYSON, D. H.; COCKSHUTT, J R.; McDONELL, W. N.; VALLIANT, A. E. Comparison of the hemodynamic effects of halothane alone and halothane combined with.

Tipos de Interações Conjugais e suas Ligações com a Satisfação com a Relação.[1]

Alunas: Joseana Pereira Carvalho[2], Laiz Elias Francisco[3]

Orientador: Gleiber Couto[4]

Universidade Federal de Goiás – Campus Catalão, CEP: 75704-020 Brasil

Laboratório de Avaliação, Medidas e Instrumentação em Ciências da Saúde - LAMI

E-mail das Alunas: joseanafad@yahoo.com.br, laizelias@hotmail.com

E-mail do Orientador: gleibercouto@yahoo.com.br

Resumo

As relações interpessoais são constituintes no desenvolvimento psicológico humano. Funciona como interação, em que os organismos possam sanar as necessidades uns dos outros. As interações conjugais fazem parte das diversas relações interpessoais em que os seres humanos se envolvem no decorrer de sua vida. O presente estudo buscou demonstrar as evidências correlacionais entre as relações interpessoais dos casais (casados e não casados) com a satisfação conjugal em 338 sujeitos residentes na região sudeste de Goiás. Para a mensuração das relações interpessoais, utilizou-se o Checklist de Relações Interpessoais – II (CLOIT-II), e para estimar os índices de satisfação, utilizou-se a Escala de Ajustamento Diádico (DAS). Em diversas subescalas foram encontradas correlações significativas entre os dois constructos (relações interpessoais e satisfação), demonstrando serem fatores intrínsecos e interdependentes. Espera-se ter contribuído para o avanço da Psicologia baseada em evidências científicas, bem como para o aumento de evidências de validade para os dois instrumentos psicométricos.

Palavras-chave: Relações interpessoais e satisfação conjugal.

1. Introdução

As relações interpessoais são marcadas por diferenças individuais que expressam as peculiaridades do processo de construção da personalidade. É nesse contexto que o ser humano se constitui como tal e também tem a possibilidade de viver emoções diversas e significativas. A função dos nossos comportamentos interpessoais é evocar nos outros, reações que correspondam às nossas necessidades. Este processo é recíproco, o que significa que o comportamento de um indivíduo serve para obter reações em outro indivíduo que resolvam suas necessidades e, igualmente, o comportamento do segundo indivíduo tem a função de obter reações do primeiro que resolvam as suas necessidades. Se um par de

[1] Revisado pelo orientador.
[2] Estudante de Psicologia pela Universidade Federal de Goiás - UFG/Campus Catalão – Orientanda;
[3] Estudante de Psicologia pela Universidade Federal de Goiás - UFG/Campus Catalão – Coautora;
[4] Laboratório de Avaliação, Medidas e Instrumentação em Ciências da Saúde – LAMI; Catalão, GO – Brasil – Orientador.

indivíduos interage repetidamente, esta reciprocidade leva à formação de padrões que mostram certas regularidades (Sullivan, 1953).

Segundo Cunha (s/d) os ideais contemporâneos de relação conjugal enfatizam a autonomia e a satisfação de cada cônjuge em detrimento dos laços de dependência entre eles. Nesta linha de compreensão, o casal vive o confronto destas duas forças paradoxais, quais sejam: a vivência dos ideais individualistas que estimulam a autonomia dos cônjuges e a necessidade de vivenciar os projetos conjugais.

O desenvolvimento pessoal de cada membro da díade é resultado da redefinição de papeis, regras e funções, ou seja, na relação conjugal deve haver funcionalidade, resultado do mínimo de flexibilidade entre a díade que possibilite a construção da identidade do casal. Tal construção deve levar em conta particularidades da família de origem de cada um dos cônjuges (Cunha s/d).

Berscheid e Walster (1973) apresentam uma coletânea de pesquisas nas quais enfatizam a atração interpessoal abrangendo desde a atração e a rejeição num grupo até o amor romântico, bem como os aspectos prováveis de atração de uma pessoa por outra: avaliação dos outros, a semelhança e proximidade do outro, e os prêmios que este pode dar. Segundo estas autoras a atração interpessoal não é resultado apenas das qualidades e comportamentos da outra pessoa. Considerar uma pessoa atraente pode ser determinado em grande parte pelos olhos do expectador e não apenas pelo que é observado. Ou seja, para conseguir um prognóstico na atração interpessoal precisa-se indicar tanto as qualidades do atraído como as do atraente.

O princípio psicológico mais frequentemente usado para predizer a atração interpessoal, é o princípio do reforço, que diz que gostaremos das pessoas que nos reforçam e não gostaremos daquelas que nos castigam. As autoras apresentam a teoria do reforço e dizem que os indivíduos tendem a acreditar que as pessoas de quem gostam retribuem sua afeição. As observações diárias, segundo estas, dão provas de que valoriza-se muito a estima dos outros e se faz muito esforço para conseguir esta recompensa. Se a estima é realmente uma recompensa, e se é verdade que se aprende a gostar de quem dá recompensa, segue-se que deve-se gostar de quem gosta nós. (Berscheid e Walster, 1973).

Berscheid e Walster, 1973 concluem, com base em pesquisas, que uma pessoa com muito amor próprio é mais receptiva ao amor de outra do que um indivíduo com pouco amor próprio. Dittes (1959) , diz que quando uma pessoa aceita outra, satisfaz maior necessidade numa pessoa com pouco amor próprio do que em outra pessoa com elevado amor próprio. Portanto, a atração deve provocar uma atração tanto maior quanto menor for o amor próprio

do receptor. Quando uma pessoa rejeita outra, frustra maior necessidade na pessoa com pouco amor próprio do que na pessoa com muito amor próprio. Nesta perspectiva, quanto menor o amor próprio do receptor, mais a rejeição deve reduzir a atração do outro. (Berscheid e Walster, 1973).

Goffman (1952) sugere que quando um homem faz uma alta avaliação sobre si mesmo e de seus atributos sociais, mais perfeição deve exigir na mulher para que o mereça. Segundo esta proposição a mulher deve parecer mais aceitável e desejável e ser mais apreciada por um homem, quando o amor próprio desse é baixo (Berscheid e Walster, 1973).

Walster (1965) apresenta duas razões para a compreensão da relação entre amor próprio e afeição romântica. A primeira é que uma pessoa com elevado amor próprio, por ter muito para dar a outra pessoa, tende a se julgar merecedora de alguém mais atraente e mais elegante que uma pessoa com menos amor próprio e menos para oferecer a outra. Outra razão é que uma redução no nosso amor próprio provoca maior necessidade de afeição e consideração dos outros. Nesta sua perspectiva, uma pessoa afetuosa deve ser mais atraente para um indivíduo quando a autoconfiança deste indivíduo foi reduzida. Sugere ainda, que uma pessoa com elevado amor próprio terá mais probabilidade de supor que o outro gosta dela do que uma pessoa com pouco amor próprio. Deste modo, quanto mais uma pessoa pensa que o outro gosta dela, mas retribuirá este sentimento. Diante desta proposição se percebe uma estreita relação entre amor próprio e afeição. (Berscheid e Walster, 1973).

Outro aspecto que as autoras assinalam é a relação entre proximidade geográfica e a atração interpessoal. Indicam, portanto, que a proximidade pode ser também favorável ao desenvolvimento do ódio ou da hostilidade, entretanto mesmo havendo esta probabilidade as autoras reiteram que é verificável a tendência de que a proximidade desenvolva mais a atração do que a hostilidade (Berscheid e Walster, 1973).

Berscheid e Walster, (1973) enfatizam que estudos mais experimentais confirmam que a proposição de que a semelhança de atitudes é um determinante de atração interpessoal. As pessoas gostam dos que têm características semelhantes às suas porque existem fortes tendências narcísicas nas pessoas.

A década de 60 foi marcada por estudos que visavam compreender a satisfação conjugal. Os primeiros estudos, porém se preocupavam em desenvolver instrumentos para predizer a "satisfação conjugal" tentando isolar, através de análise fatorial, dimensões importantes do fracasso e do sucesso conjugal. Tais instrumentos eram basicamente vinculados a aspectos sociológicos e psicológicos. Os muitos estudos efetivados nesta época, foram apontando outras dimensões deste fenômeno, entre estas os efeitos da percepção na

satisfação conjugal. Os estudos evidenciaram alguns problemas na compreensão da satisfação conjugal, dentre eles: considerá-la como um fenômeno unidimensional (atômico), em que a satisfação é vista como um contínuo que vai da insatisfação à satisfação sendo o equilíbrio entre os aspectos negativos e positivos da conjugalidade; e considera-la como fenômeno multidimensional (molar) que vê a satisfação conjugal como uma função tanto da frequência como da relevância de certos aspectos gratificantes do casamento (Miranda, 1986).

Ziviani (2005) numa revisão da literatura norte-americana ratifica a importância de que se leve em conta, nas pesquisas de casais, as informações oferecidas por ambos os cônjuges, haja vista que durante muito tempo se excluiu das pesquisas os aspectos referentes a interconjugalidade e a intraconjugalidade e levou-se em conta as informações dadas por um dos membros da díade. Lança mão do que dizem Broadbury, Fincham e Beach (2000) sobre o fato de que a forma como os casais abordam, administram e resolvem o conflito é mais determinante do que o conteúdo ou gravidade da questão para a satisfação conjugal ou o problema conjugal. Desse modo os autores reconceituam o construto de satisfação conjugal afirmando que este se configura como a atitude do cônjuge para com o seu outro, e ou na relação em si mesma (Ziviani, 2005).

Beach (2001) estudando o conflito na relação conjugal argumenta que o conflito em potencial surgirá ou não a partir do modo como os parceiros ajustam suas percepções de si mesmo e do seu outro bem como do modo como tais modificações influenciam mutuamente ambos os cônjuges. Todo casamento envolve duas perspectivas fundamentalmente divergentes, a do marido e a da esposa, e homens e mulheres têm expectativas muito diferentes da relação e das circunstâncias que a envolvem. Neste sentido as pesquisas precisam levar em conta as informações de ambos os cônjuges para a compreensão da relação (Féres-Carneiro, 2005).

Wachelke (2004, apud. Arriaga, 2001) diz que uma pessoa pode ser considerada satisfeita com seu relacionamento quando os produtos de uma relação superam o que é esperado dessa relação. Ainda segundo este autor um nível de satisfação alto e estável está associado à existência prolongada de um relacionamento no decorrer do tempo. A satisfação com o relacionamento pode ser aumentada quanto maior for o envolvimento emocional das pessoas que se relacionam, bem como maior confiança, abertura para comunicação e interdependência.

Rusbult (1983, apud. Wachelke, 2004) diz que a satisfação corresponde às recompensas percebidas no relacionamento menos os custos despedido no mesmo, num contexto de comparação, sendo que, uma pessoa com baixa exigência, que derive mais ganhos

que perdas pessoais de seu relacionamento, pode ser considerada satisfeita com sua relação amorosa.

2. Objetivos

O objetivo do estudo aqui delineado foi, além da coleta de dados, relacionar as características de interações interpessoais mais comuns entre casais casados e não casados com a satisfação conjugal.

3. Método

Procedimento

O primeiro passo realizado na pesquisa foi o processo da aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás, protocolado sob o número de 065/2010. A partir daí deu-se início às aplicações dos questionários nos casais, que vinham acompanhados do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, especificando aspectos éticos e os propósitos da pesquisa, bem como a sua participação voluntária e autônoma.

Deu-se seguimento à pesquisa, conforme consta no projeto, apropriando-se do modelo apresentado implementando as condições técnicas necessárias onde: (1) deu-se continuidade à coleta de dados dos sujeitos, casais residentes na região sudeste de Goiás; (2) obteve-se o domínio de procedimentos para: tabulação das respostas dos sujeitos; estimação dos escores; estatísticas descritivas; análise de dados proposta: cálculo dos coeficientes de correlação de *Pearson*.

Tais atividades se desenvolveram a partir do cumprimento do cronograma estabelecido a priori envolvendo três etapas distintas e inter-relacionadas. Na primeira etapa discussão e planejamento das ações de pesquisa; estudo, acompanhamento e orientação; coleta de dados. Na segunda etapa realizou-se treinamento para utilização dos softwares necessários à análise e tabulação de dados. Na terceira e ultima etapa foi feita a análise dos dados a partir das correlações das subescalas do CLOIT-II de maridos e esposas, e entre os padrões de interação interpessoal e a satisfação com a relação.

Participantes

Participaram desta pesquisa 338 casais heterossexuais, residentes na região sudeste do estado de Goiás, destes, 228 casados com idades entre 18 e 76 anos e 110 casais não casados com

idade entre 15 e 42 anos. A escolaridade do grupo dos casais casados variou entre analfabeto/fundamental incompleto, 2; fundamental (1 a 4), 16; fundamental II completo/médio incompleto, 38; médio completo/superior incompleto, 91; superior completo, 77; não responderam, 4. A escolaridade dos casais de namorado se configurou do seguinte modo: fundamental (1 a 4), 1; fundamental II completo/médio incompleto, 7; médio completo/superior incompleto, 78; superior completo, 23; não responderam, 1. Quanto ao nível sócio econômico o grupo dos casados variou entre as classes: D, 2; C ,60; B2, 64; B1, 45; A2, 16; A1, 4; não responderam, 37. O nível sócio econômico dos casais de namorados se configurou do seguinte modo: D, 1; C, 5; B2, 29; B1, 25; A2, 22; A1, 10; não responderam, 18.

Materiais

Os instrumentos utilizados foram as duas formas do CLOIT-II, que se constitui de um inventário construído para mapear o comportamento interpessoal de pessoas alvo, a saber, forma de autoclassificação e do transator; cada uma delas foi respondida respectivamente, pela pessoa alvo e por uma pessoa que interage com ela, chamada de transator. Cada inventário contém 96 proposições que descrevem ações que podem ocorrer em interações entre pessoas.

As proposições estão divididas nas 16 escalas bidimensionais, a saber, Dominância (A), Competição (B), Desconfiança (C), Frieza Afetiva (D), Hostilidade (E), Isolamento (F),Inibição (G), Insegurança (H), Submissão (I), Deferência (J), Confiança (K), Calor Afetivo (L), Amigabilidade (M), Sociabilidade (N), Exibicionismo (O), Segurança (P). Cada uma delas contém seis proposições que descrevem relações em dois níveis de intensidade, três proposições de intensidade moderada que, se escolhidas, correspondem a um ponto; e outras três em um nível de extrema intensidade, para as quais uma marcação recebe dois pontos. O resultado bruto é obtido somando-se os pontos um ou dois, dependendo do nível de intensidade da proposição para cada resposta registrada pelo sujeito na folha de respostas. Cada escala pode receber um escore bruto que varia entre zero e nove pontos.

Outro instrumento utilizado foi a Escala de Ajustamento Diádico (DAS) que é um inventário de auto relato que apresenta 32 questões cujas respostas são apresentadas em uma escala em forma de Likert com seis ou sete pontos. Esse instrumento se propõe mensurar o ajustamento marital e, assim, avaliar a satisfação geral com o relacionamento.

Os itens desta escala relativos ao consenso avaliam o grau de concordância entre os casais no que concerne às amizades, divisão das tarefas, gastos financeiros, atividades de lazer,

filosofia de vida, religião, dentre outras coisas. As questões da subescala contentamento avaliam a frequência que alguns eventos significativos ocorrem, sendo que estes interferem no grau de felicidade atribuído ao relacionamento. Em relação à coesão, os itens tentam avaliar o quanto os casais estão vinculados ou separados um do outro. Já a subescala expressão afetiva as demonstrações de afetos e sexualidade do casal.

De acordo com esse Modelo, o relacionamento marital é um construto multidimensional cujas dimensões são: o consenso, a coesão, a expressão afetiva e o contentamento.

Classificação socioeconômica – Abipeme: trata-se de um procedimento desenvolvido pela Associação Brasileira de Institutos de Pesquisa de Mercado, para dividir a população em categorias segundo padrões ou potenciais de consumo. Esse critério cria uma escala ou classificação socioeconômica por intermédio da atribuição de pesos a um conjunto de itens de conforto doméstico, além do nível de escolaridade do chefe de família. A classificação socioeconômica da população é apresentada por meio de cinco classes, denominadas A, B, C, D e E correspondendo, respectivamente, a uma pontuação determinada.

4. Resultados e Discussão

Algumas correlações dos dois grupos conjugais (casados e namorados) dos padrões de interações interpessoais do Cloit-II *autoclassificação* com a DAS não foram significativas, ou seja, seus resultados tem grande possibilidade de terem ocorrido ao acaso. Isso quer dizer que, muito provavelmente, alguns padrões interpessoais não interferem na satisfação e ajustamento diádico. Por exemplo, tanto nos casais casados quanto namorados, as subescalas Segurança e Insegurança (Tabela 1 e 2), que são complementares, não se correlacionaram significativamente com os resultados fatoriais e gerais da DAS, permitindo concluir que se sentir seguro ou inseguro com o parceiro não é necessariamente uma variável que prejudique a satisfação e ajustamento conjugal.

Na Tabela 1, referente aos casais casados, pode se observar as três maiores correlações entre os padrões interpessoais e o ajustamento diádico. A maior delas é entre a subescala Desconfiança e a DAS-Geral (-0,49), o sinal negativo significa que as escalas são proporcionalmente inversas, ou seja, quanto maiores os escores da DAS, menores os escores de Desconfiança. Quanto mais ajustamento conjugal o sujeito apresenta, menos desconfiança eles tem dos seus parceiros.

O segundo maior índice de correlação para os casais casados (Tabela 1) se dá entre Desconfiança e Consenso (-0,48), quanto maior o nível de consenso (subescala da DAS),

menor será o nível de Desconfiança. Desta forma pode se interpretar que, sujeitos desconfiados, que tendem a evitar situações com as quais supõem serem prejudicados tem mais dificuldades de dialogar e entrar em um consenso. Percebe-se que, ainda na mesma subescala de Desconfiança, ao se correlacionar com Satisfação (-0,44), o resultado demonstra que a capacidade dos sujeitos de avaliação do próprio relacionamento, as perdas e ganhos, ou seja, seu nível de satisfação é afetado diretamente pela desconfiança, desta forma quanto mais desconfiados os sujeitos se descrevem, menos satisfeitos se consideram.

A correlação entre Hostilidade e Das-Geral (-0,41) na Tabela 1 demonstra que sujeitos que se descrevem como opositores, rancorosos, egoístas tendem a ser menos ajustados conjugalmente e consequentemente menos satisfeitos em suas relações.

Algumas correlações, mesmo que significativas, apresentaram um baixo nível. Pode se inferir que algumas características interpessoais são pouco influenciadas pelo nível de ajustamento diádico e satisfação. A subescala Consenso apresentou baixa correlação, e no mesmo nível (-0,15), entre três subescalas do CLOIT-II, são elas Dominância, Competição e Insegurança, provavelmente, os referidos constructos acerca das relações interpessoais conjugais pouco interferem nos níveis de ajustamento e satisfação com a relação atribuídos aos sujeitos. Outro resultado que apresentou baixo nível correlacional refere-se ao escore geral da DAS entre a subescala Competição (-0,14), demonstrando que os dois constructos pouco se influenciam.

Tabela 1- Correlações entre os questionários de autoclassificação (CLOIT - II) ***autoclassificação*** **e a DAS, sujeitos casados**

	Satisfação	Consenso	Coesão	Expressão afetiva	DAS-Geral
Dominância(A)	-0,08	-0,16(*)	-0,12	-0,03	-0,13(*)
Competição(B)	-0,11	-0,16(*)	-0,09	-0,07	-0,14(*)
Desconfiança(C)	-0,44(**)	-0,5(**)	-0,30(**)	-0,28(**)	-0,49(**)
Frieza Afetiva(D)	-0,17(**)	-0,18(**)	-0,19(**)	-0,09	-0,20(**)
Hostilidade(E)	-0,36(**)	-0,39(**)	-0,29(**)	-0,32(**)	-0,41(**)
Isolamento(F)	-0,35(**)	-0,23(**)	-0,22(**)	-0,28(**)	-0,32(**)
Inibição(G)	-0,20(**)	-0,18(**)	-0,16(*)	-0,16(*)	-0,21(**)
Insegurança(H)	-0,09	-0,15(*)	0,04	0,00	-0,09
Submissão(I)	-0,07	-0,02	-0,12	-0,04	-0,07
Deferência(J)	0,09	0,11	0,09	0,19(**)	0,13
Confiança(K)	0,15(*)	0,18(**)	0,05	0,11	0,16(*)
Calor Afetivo(L)	0.23(**)	0,28(**)	0,20(**)	0,31(**)	0,29(**)
Amigabilidade(M)	0,25(**)	0,34(**)	0,16(*)	0,28(**)	0,32(**)
Sociabilidade(N)	0,05	0,08	0,12	0,21(**)	0,11
Exibicionismo(O)	-0,17(**)	-0,17(**)	-0,08	-0,11	-0,17(**)
Segurança(P)	0,01	-0,03	-0,06	0,05	-0,02

Nos sujeitos que se declararam estar namorando (Tabela 2), percebe-se que a correlação entre as subescalas Hostilidade e Satisfação, que apresentou o maior índice de todos (-0,60) é o único resultado que permite atribuir evidência de validade de critério. Desta forma, pode-se destacar que, em namorados, características interpessoais que se referem à atitudes egoístas, que não acreditam nos potenciais dos outros, oposições, discordâncias são cruciais para a manutenção da satisfação no relacionamento. A correlação entre as escalas hostilidade e o resultado geral da Das (-0,56) demonstra, em um nível relativamente alto que, o primeiro constructo realmente não é positivo em uma relação, bem como interfere nos níveis de ajustamento. A correlação entre a escala Desconfiança e Satisfação (-0,46) demonstra que existe uma probabilidade de que, nesses tipos de relacionamentos, é prejudicial à manutenção dos mesmos a existência de comportamentos de desconfiança.

A Tabela 2 demonstra que a correlação entre Frieza Afetiva e o resultado geral da DAS apresentou o menor índice (-0,19), mesmo assim, apresenta sinal negativo, demonstrando que, mesmo em um baixo grau de evidências de validade, comportamentos de frieza, falta de cordialidade, dentre outros, são constructos que interferem no ajustamento conjugal. Outra correlação baixa se deu entre Desconfiança e Coesão (-0,20), mesmo assim,

pode-se inferir que, mesmo sendo um constructo considerado socialmente negativo, desconfiança em algum nível contribui para a união do casal, há a hipótese de que, sendo a desconfiança um dispositivo coercitivo, pode ser que mantenha a coesão. Calor afetivo se correlacionou positivamente, em um grau de 0,21, com coesão, (Tabela 2). São fatores que permitem interpretar que, quanto mais unido, coeso ao parceiro, maior a probabilidade de o sujeito oferecer afeto ao cônjuge.

Tabela 2 – Correlações entre as escalas do CLOIT-II *autoclassificação* e da DAS, sujeitos namorados

	Satisfação	Consenso	Coesão	Expressão afetiva	DAS-Geral
Dominância(A)	-0,46(**)	-0,37(**)	-0,16	-0,38(**)	-0,45(**)
Competição(B)	-0,43(**)	-0,36(**)	-0,14	-0,37(**)	-0,43(**)
Desconfiança(C)	-0,46(**)	-0,37(**)	-0,20(*)	-0,29(**)	-0,45(**)
Frieza Afetiva(D)	-0,26(**)	-0,14	-0,05	-0,12	-0,19(*)
Hostilidade(E)	-0,60(**)	-0,42(**)	-0,26(**)	-0,38(**)	-0,56(**)
Isolamento(F)	-0,24(*)	-0,13	-0,17	-0,19	-0,23(*)
Inibição(G)	-0,31(**)	-0,26(**)	-0,17	-0,31(**)	-0,33(**)
Insegurança(H)	-0,01	,000	-0,02	-0,07	-0,02
Submissão(I)	0,02	0,03	-0,07	-0,04	-0,00
Deferência(J)	0,12	0,09	0,16	0,09	0,15
Confiança(K)	0,13	0,21(*)	0,28(**)	0,23(*)	0,27(**)
Calor Afetivo(L)	0,25(**)	0,19	0,21(*)	0,13	0,27(**)
Amigabilidade(M)	0,24(*)	0,27(**)	0,28(**)	0,16	0,33(**)
Sociabilidade(N)	0,12	0,11	-0,01	0,08	0,10
Exibicionismo(O)	-,185	-,146	-0,05	-0,12	-0,17
Segurança(P)	-0,35(**)	-0,01	-0,13	-0,12	-0,23(*)

A Tabela 3, que se refere às médias dos resultados das subescalas do CLOIT-II, para os casais casados, confirma alguns resultados encontrados nas correlações (Tabela 1), isso pode ser observado nas três menores médias de respostas dos sujeitos, que são das subescalas Desconfiança (M 1,96), Hostilidade (M 2,25) e Isolamento (M 1,53), que foram as que menos se correlacionaram com as subescalas de ajustamento. Essas médias baixas podem ser justificadas pelo fato de que algumas características são comportamentos que geralmente as pessoas não querem ter ou preferem omitir, pois tem baixa aceitabilidade social, mas que mesmo quando são pouco reconhecidas pelos sujeitos tem algum tipo de relação com a satisfação e ajustamento. Esse argumento da aceitabilidade social pode ser utilizado também

para as maiores médias das respostas dos casais casados, que são das subescalas Confiança (M 5,48), Amigabilidade (M 5,82), Sociabilidade (M 5,87). Excetuando a correlação entre Amigabilidade e Consenso (0,34, Tabela 1), que foi uma das maiores, as demais subescalas não se correlacionaram em alto grau com os fatores da DAS, demonstrando não serem parâmetros válidos e correspondentes.

A Tabela 4 expõe os as médias referentes aos resultados das subescalas do CLOIT-II, comparando-as com os resultados dos casados (Tabela 3), a única que se diferenciou, dentre as médias maiores e menores, foi a da escala Frieza Afetiva (M 1,93) para os sujeitos namorados, e Desconfiança (M 1,96) para os casados. Demonstrando que os namorados tem mais dificuldades em descrever comportamentos relativos à frieza afetiva, já os casados possuem essa dificuldade quando se fala de Desconfiança.

Tabela 3 – Médias e desvios padrões das escalas do CLOIT-II, sujeitos casados

Subescalas	Médias	Desvios padrão
Dominância(A)	3,31	2,46
Competição(B)	2,63	2,19
Desconfiança(C)	1,96	2,26
Frieza Afetiva(D)	2,68	2,11
Hostilidade(E)	2,25	2,25
Isolamento(F)	1,53	1,91
Inibição(G)	2,64	2,01
Insegurança(H)	3,55	1,76
Submissão(I)	2,37	2,10
Deferência(J)	5,09	2,20
Confiança(K)	5,48	2,37
Calor Afetivo(L)	4,95	2,40
Amigabilidade(M)	5,82	2,54
Sociabilidade(N)	5,87	2,26
Exibicionismo(O)	2,83	2,23
Segurança(P)	3,94	2,11

Tabela 4 - Médias e desvios padrões das escalas do CLOIT-II, sujeitos namorados

Subescalas	Médias	Desvios padrão
Dominância(A)	3,33	2,42
Competição(B)	2,59	2,29
Desconfiança(C)	2,16	2,15
Frieza Afetiva(D)	1,93	1,76

Hostilidade(E)	1,79	2,05
Isolamento(F)	,99	1,52
Inibição(G)	2,24	2,08
Insegurança(H)	3,43	2,14
Submissão(I)	2,02	1,86
Deferência(J)	4,74	2,19
Confiança(K)	5,31	2,34
Calor Afetivo(L)	4,75	2,34
Amigabilidade(M)	5,79	2,31
Sociabilidade(N)	6,18	2,05
Exibicionismo(O)	2,86	2,19
Segurança(P)	3,97	2,16

Considerações finais

É claramente notável que as relações interpessoais têm se transformado significativamente diante das influências tecnológicas e sociais da contemporaneidade. Neste contexto, outros rearranjos e matizes vão delineando novos modos de interação interpessoal e, consequentemente, interações conjugais. Esse raciocínio pode ser confirmado pelos resultados encontrados neste trabalho, em que, em diversas correlações, encontramos pontos de convergência e divergência entre dois instrumentos de testagens distintos, demonstrando então a característica multifacetada do ser humano, bem como a influência de diversos fatores no comportamento do mesmo.

O presente estudo pretendeu contribuir tanto metodologicamente quanto para questões de reflexão teórica acerca da conjugalidade, correlacionando os relacionamentos interpessoais, ajustamento e satisfação com a relação. Espera-se que outros estudos sejam realizados, de forma a contribuir para a avaliação da conjugalidade, bem como, para instrumentalizar o psicólogo para que ele possa cumprir seu papel de promoção do bem-estar humano.

5. Referências

BERSCHEID E WALSTER. **Atração Interpessoal.** Edusp, 1973.

CUNHA, J. A. **Conjugalidades contemporâneas: um estudo sobre os múltiplos arranjos conjugais da atualidade.** Acesso em 15 de junho de 2013. http://www.puc-rio.br/pibic/relatorio_resumo2009/relatorio/ctch/psi/jacqueline.pdf

FÉRES-CARNEIRO, T. **Casamento e Família: do social à clínica**. Rio de Janeiro: Nau Editora, 2001.

MIRANDA, E. S. **Satisfação conjugal e aspectos relacionados: a influência da comunicação, da semelhança de atitude e da percepção interpessoal**. Dissertação de mestrado. Fundação Getúlio Vargas, Instituto Superior de Estudos e Pesquisas Psicossociais, Centro de Graduação em psicologia, Rio de Janeiro, 1986.

SULLIVAN, H. S. **The Interpersonal Theory of Psychiatry**. New York: Norton, 1953.

WACHELKE, J. F. R. Medida da satisfação em relacionamento de casal. **Psico-USF**, v. 9, n. 1, p. 11-18, Jan./Jun. 2004.

ZIVIANI, C. Sintaxe subjacentes a atitudes e percepções entre cônjuges. In: FÉRES-CARNEIRO, T. e Cols. **Família e casal: Efeitos da contemporaneidade**. Ed. PUC-Rio de Janeiro, 2005.

Comparação do Bacilo Calmette Guérin (BCG) e do BCG recombinante expressando as subunidades imunogênicas do *Mycobacterium tuberculosis MPT51_HspX_Ag85C* na estimulação de macrófagos peritoneais *in vitro*

Joseane Damaceno Rosa[1], Sarah Veloso Nogueira, André Kipnis, Ana Paula Junqueira-Kipnis[*]. [1] aluna PIBIC, *orientador

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG, 74605-050, Brasil
joseanedrosa@hotmail.com
apkipnis@gmail.com

RESUMO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) e constitui um importante problema de saúde pública, sendo classificada como a segunda principal causa de morte por doenças infecciosas em todo o mundo. A infecção pelo HIV, a multirresistência a medicamentos e a relativa eficácia da vacina BCG contra TB ativa em adultos são as principais causas do aumento na incidência e prevalência desta doença. Muitas proteínas do Mtb tem sido estudadas com o objetivo de produzir uma vacina mais eficaz. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a atividade da BCG e da BCG recombinante expressando uma proteína de fusão, composta pelos epítopos imunodominantes dos antígenos Ag85C, MPT51 e HspX, na estimulação de macrófagos peritoneais *in vitro*, por meio da dosagem indireta da produção de óxido de nítrico (NO), contagem de bactérias e morfologia. Concluiu-se que a vacina BCG estimula a maior produção de NO por macrófagos peritoneais do que a vacina BCG-CMX, no entanto a fagocitose e sobrevivência da vacina BCG-CMX foi maior do que a BCG neste modelo de infecção *in vitro* podendo indicar aumento de virulência da vacina ou modulação da ativação dos macrófagos pela expressão das proteínas de *M. tuberculosis*.

Palavras-chave: Tuberculose. *Mycobacterium tuberculosis*. BCG recombinante. Macrófagos peritoneais. Óxido nítrico.

Revisado pela orientadora

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), que afeta principalmente adultos economicamente produtivos e constitui um importante problema de saúde pública mundial, sendo classificada como a segunda principal causa de morte por doenças infecciosas em todo o mundo. Apesar de ter havido uma redução de 2,2 % do número de novos casos de TB entre 2010 e 2011, e uma queda de 41% na mortalidade desde 1990, o poblema mundial desta doença ainda é enorme. Mesmo com tratamento disponível, capaz de promover a cura da maioria dos casos, desde a década de 80, só no ano de 2011 a estimativa de novos casos foi de 8,7 milhões (13% coinfectados com HIV) e a mortalidade chegou a 1,4 milhões de indivíduos[1].

O Brasil, em 2012, registrou mais de 70 mil novos casos de TB, sendo 3453 na região Centro Oeste, com 903 casos apenas no estado de Goiás[2]. A infecção pelo HIV e a emergência global da multirresistência a medicamentos (MDR-TB) são as principais causas do aumento na incidência e prevalência da doença[3], associadas à relativa eficácia da vacina BCG (Bacilo Calmette-Guérin) contra TB ativa em adultos[4].

O Mtb, identificado no ano de 1882 por Robert Koch[5], é um patógeno intracelular, resistente ao processo de descoloração por corantes ácidos, que possui parede celular rica em ácidos graxos (principalmente ácidos micólicos), polissacarídeos, peptídeoglicanos e arabinogalactanos, além de glicolipídeos como o lipoarabnomanano, glicolipídeos fenólicos e peptídicos, sulfolipídeos e outros. Sua parede celular, portanto, é altamente hidrofóbica, garantindo-lhe não apenas a resistência ao ácido, mas também a produtos químicos e desinfetantes simples. A parede celular micobacteriana ainda favorece a sobrevivência dentro dos fagossomas de macrófagos[6].

Mtb é tipicamente transmitido pela via inalatória, atinge o espaço alveolar nos pulmões e interage com macrófagos alveolares preferenciais na infecção por este microrganismo, e ainda com células dendríticas e células epiteliais pulmonares, iniciando uma resposta imune inata. Um dos principais mecanismos efetores da resposta imune inata na eliminação deste patógeno é realizado pelos macrófagos teciduais e consiste na produção de intermediários reativos do oxigênio (ROIs) e óxido nítrico (NO), por ação da enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS) que catalisa a conversão da arginina em citrulina liberando NO livremente difusível que, dentro do fagolisossomo, pode combinar-se com ânion superóxido ou peróxido de hidrogênio e produzir radicais peroxinitritos altamente reativos e que podem destruir a parede celular micobacteriana[7,8].

Em muitos casos, porém, a imunidade inata é insuficiente para conter a infecção pelo Mtb e a imunidade adaptativa é então ativada pelo aumento da concentração de microrganismos. Nessa resposta, os linfócitos T diferenciados em Th1, através da produção de interferon-gama (IFN-γ), ativam os macrófagos e potencializam sua ação para destruir o microrganismo fagocitado. No caso do Mtb escapar do fagossomo e ir para o citoplasma da célula fagocítica a resposta imune será desempenhada pelos linfócitos T $CD8^+$ com atividade citotóxica, levando a destruição da célula infectada e, consequentemente, do Mtb. A ativação continuada das células T leva a formação de granulomas, com o objetivo de conter a disseminação do Mtb. Normalmente, a resposta imune adaptativa controla, mas não consegue eliminar a infecção pelo Mtb e, dessa forma, continua sendo importante para a prevenção da reativação futura da doença. A participação das células B na proteção contra esta bactéria ainda é contraditória e inconsistente[7].

A coinfecção com o HIV é particularmente importante devido a grande relevância das células T $CD4^+$ na resposta imune contra a tuberculose, já que são estas as células alvo do HIV. O tratamento da TB e o início da terapia antirretroviral nesses casos requerem muito cuidado e atenção, pois é necessário obter-se a cura da TB sem gerar maiores danos aos pacientes[9].

A BCG é usada desde o ano 1921 na prevenção da TB, está incluída no calendário de vacinação infantil da OMS e, até o momento, é a única vacina aprovada contra a TB[10]. Apesar de ser utilizada com sucesso na prevenção de formas graves da doença na infância, como a tuberculose miliar e meningite por tuberculose, esta vacina não é eficaz contra a forma mais prevalente da doença, a TB pulmonar em adultos. Além do mais, a BCG é comprovadamente segura em indivíduos imunocompetentes, mas não para aqueles imunocomprometidos e, por isso, a OMS não recomenda a vacinação com BCG de crianças HIV positivas[11]. A eficácia questionável (0 a 80%) na prevenção da doença em adultos tem estimulado tentativas de desenvolver novas vacinas. Dentre as abordagens utilizadas nestes estudos estão as vacinas de subunidades protéicas de Mtb[12], o uso de micobactérias atenuadas[13], vacinas de DNA[14] e BCG recombinante baseada em antígenos[15].

Muitas proteínas do Mtb, isoladas apartir do cultivo *in vitro* sob condições de stress, como baixa concentração de oxigênio e privação de ferro, simulando as condições da doença, tem sido testadas para demonstrar a capacidade dessas proteínas em induzir resposta imune celular e avaliar a possibilidade de serem utilizadas no desenvolvimento de novas vacinas contra TB[16]. Entre essas proteínas podemos citar os antígenos Ag85C[15], MPT51[16, 12] e HspX[17].

O Ag85C pertence a família do Ag85, que participa diretamente na síntese da parede celular micobacteriana e por isso é uma das principais proteínas secretadas por Mtb e BCG. O Ag85C é imunodominante pois contem vários epítopos reconhecidos por células $TCD4^+$ e $TCD8^+$ de camundongos[15].

MPT51 é uma proteína encontrada no genoma de *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. avium* e *M. bovis* BCG, que se liga a fibronectina da matriz extracelular e que pode ter um papel na virulência e ligação ao tecido do hospedeiro. Esta proteína é considerada um antígeno imunogênico, pois é reconhecida por anticorpos IgM e células T de pacientes com TB ativa, sendo considerada um bom candidato a ser testado em uma vacina de subunidade[16,18].

HspX é um antígeno produzido pelo Mtb durante a fase latente da infecção e que representa até 25 % da proteína total que é expressa durante o crescimento estático ou sob a privação de oxigênio, como é o caso dos granulomas. Assim, o papel do HspX é aumentar a estabilidade a longo prazo de proteínas e estruturas celulares, ajudando a manter os bacilos vivos por um longo período de tempo e, com isso, é capaz de estimular uma resposta imunológica durante a fase inicial ou latente da infecção, sendo considerado um alvo racional para novas vacinas[17,19].

Mesmo com todos os esforços voltados para o desenvolvimento de uma vacina mais eficaz e segura contra a TB ainda não foi possível obter uma vacina capaz de induzir um grau de proteção significativamente maior do que aquele conferido pela BCG tradicional. Nesse sentido, o presente grupo de pesquisa desenvolveu uma proteína de fusão composta pelos epítopos imunodominantes dos antígenos Ag85C, MPT51 e HspX, clonados no vetor de expressão pLA71 para expressão na cepa Moreau de *Mycobacterium bovis* (BCG) e desenvolvimento de uma vacina BCG recombinante.

A imunogenicidade da proteína de fusão Ag85C_MPT51_HspX (CMX) foi avaliada em camundongos, como uma formulação vacinal, e demonstrou induzir a produção de IFN-γ e TNF-α em células $TCD4^+$. Em seres humanos, a proteína de fusão CMX através da resposta imune humoral de indivíduos de uma área endêmica foi capaz de distinguir indivíduos com a TB ativa de pessoas saudáveis[20].

Com base na importância e gravidade que a TB assume mundialmente, especialmente no cenário da coinfecção com o HIV, e diante da necessidade de se obter uma vacina mais eficaz contra a forma adulta dessa doença, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a atividade da BCG Moreau e da BCG Moreau recombinante (BCG-CMX) na estimulação de macrófagos peritoneais *in vitro* pela dosagem indireta da produção de óxido de nítrico.

METODOLOGIA

ANIMAIS

Camundongos da linhagem BALB/c, com idade entre 4-8 semanas, provenientes do biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG (IPTSP/UFG) foram utilizados neste estudo. Os animais foram mantidos em gaiolas, com água e dieta a*d libitum*, em sala com controle do ciclo de luminosidade, umidade e temperatura.

Este trabalho faz parte de um projeto maior, desenvolvido pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Imunopatologia das Doenças Infecciosas - IPTSP/UFG, intitulado "Avaliação da modulação da resposta imune induzida por vacinas de subunidades proteicas e de BCG recombinante expressando os epítopos imunodominantes de *Mycobacterium tuberculosis*" e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UFG sob o número 229/11.

OBTENÇÃO DOS MACRÓFAGOS PERITONEAIS

Os camundongos foram inoculados por via intra peritoneal com 1,0 mL de meio tioglicolato. Após três dias da inoculação, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e, após a antissepsia do abdômen com álcool a 70%, realizou-se a exposição do peritôneo. As células peritoneais foram coletadas após a injeção de 5 mL de PBS gelado estéril, seguido de massagem peritoneal e punção do lavado peritoneal. A suspensão celular foi transferida para tubo cônico de 15 mL e as células foram lavadas duas vezes com 10 mL de meio RPMI completo (contendo soro bovino fetal, L-glutamina, aminoácidos não essenciais, estreptomicina e penicilina) por centrifugação a 1200 rpm por 10 minutos a 4°C. O sedimento foi ressuspendido em 1 mL de meio RPMI completo. A concentração celular foi determinada após contagem em câmara de Neubauer utilizando corante vital azul de tripan. Após a contagem, ajustou-se a concentração em $2x10^6$ células/mL.

CULTURA DE MACRÓFAGOS

As células foram distribuídas em duas placas de 24 poços, sendo 500 µL ($1x10^6$ células) de suspensão celular por poço. Em uma das placas foram distribuídas lamínulas circulares de vidro dentro dos poços, para avaliação microscópica das células. As placas foram incubadas por 24 horas em estufa a 37ºC, contendo 5% de CO_2, para aderência das células.

Para a infecção das culturas de macrófagos foram utilizadas *M. bovis*-BCG selvagem, cepa Moreau proveniente do Instituto Butantan, São Paulo e a BCG recombinante (BCG-CMX) produzida no Laboratório de Imunopatologia das Doenças infecciosas. Estas cepas são mantidas em lotes vacinais devidamente quantificados e mantidos em freezer -80°C. Os macrófagos foram infectados com concentração de BCG Moreau (controle) e de BCG recombinante (teste) 10 vezes maior do que a concentração de macrófagos (10^7 bactérias/cavidade) (do inglês Multiplicity of Infection=MOI =10:1).

Para a preparação das vacinas, as alíquotas de BCG Moreau e BCG recombinante foram retiradas do freezer -80°C e descongeladas em gelo. Cada alíquota foi homogeneizada em vórtex por 30 segundos antes de ser retirada a quantidade necessária para o preparo dos inóculos. O volume retirado da alíquota foi diluído em meio RPMI completo e a suspensão resultante foi sonicada (Sonicador BANDELIN SONOPLUS GM Mini20) em gelo, com quatro ciclos de 30 segundos com intervalos de 30 segundos com homogeneização em vórtex.

Após este procedimento, realizou-se a infecção dos macrófagos. O sobrenadante de cada poço da cultura foi retirado e substituído por 500 µL da suspensão de micobactérias (10^7 bactérias). As placas foram incubadas em estufa a 37ºC, contendo 5% de CO_2, por 3 horas. Decorrido este tempo, os sobrenadantes foram desprezados e as placas foram lavadas 3 vezes com PBS estéril a 37 °C. As placas de culturas receberam 1 mL de meio RPMI completo em cada poço ou 5µg de LPS/mL para os poços controles da reação, e foram incubadas novamente na estufa a 37 °C com 5% de CO_2.

DOSAGEM DE ÓXIDO NÍTRICO

Para a dosagem de óxido nítrico (NO), os sobrenadantes (100 µL) das culturas estimuladas ou não com BCG, BCG-CMX ou LPS foram coletados nos tempos 3h, 6h, 9h, 12h, 18h, 24h e 48h após a infecção dos macrófagos. Estes sobrenadantes foram armazenados em placas de poliestireno com 96 poços no freezer a – 20 °C até o momento do uso.

A reação de Griess foi utilizada para estimar a produção de óxido nítrico. Para isso, 50 µL das amostras foram incubados com 50 µL do reagente de Griess (sulfanilamida 1%, N-Naphthylethylenediamine dihydrochloride 0,1% e H3PO4 2,5%) a temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 15 minutos. Para controle e determinação dos valores de NO de cada ensaio, uma curva padrão de $NaNO_2$ 10mM diluída em PBS foi utilizada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Thermo LabSystems Multiskan RC/MS/EX Microplate Reader) no comprimento de onda 595 nm.

DETERMINAÇÃO DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS (UFC)

Nos tempos 3h e 18h após a infecção foram coletados 200 µL de sobrenadante para realização do UFC do sobrenadante. Em seguida, todo o sobrenadante dos poços destinados para este fim foi desprezado e 200 µL de água MiliQ autoclavada com 0,05% de Tween 80 foi adicionada, sendo retirada após 5 minutos e armazenada para determinação do UFC intracelular. Essas alíquotas foram armazenadas em eppendorfs estéreis, no freezer a temperatura de –80 °C.

Diluições seriadas foram realizadas para cada amostra até 10^{-4} em água MiliQ autoclavada com 0,05% de Tween 80. As diluições 10^{-3} e 10^{-4} foram plaqueadas em meio 7H11. As placas destinadas a BCG recombinante continham Canamicina. Todas as placas foram incubadas em estufa a 37 °C e as UFC foram contadas após 21 dias de cultura.

CITOLOGIA

As lamínulas provenientes das culturas dos macrófagos por 3h com os inóculos vacinais (BCG e BCG-CMX) foram lavadas 3 vezes com PBS estéril a 37 °C. Em seguida, foram fixadas com metanol e coladas em lâminas retangulares de microscopia para coloração pelas técnicas de Ziehl Neelsen e Instant Prov (Panóptico).

ANÁLISE DOS DADOS

O conjunto dos resultados foi avaliado por Anova e os resultados que apresentaram diferenças foram avaliados aos pares pelo teste "t" de Student, utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0 e Excel. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade foi menor que 5%.

RESULTADOS

A VACINA BCG SELVAGEM E A VACINA BCG-CMX INDUZEM A PRODUÇÃO DE ÓXIDO NITRICO POR MACÓFAGOS PERITONEAIS

Macrófagos ativados, *in vivo* ou *ex vivo*, pela infecção por microrganismos como o *Mycobacterium bovis* produzem algumas moléculas biológicas, incluindo o NO, que desempenha um papel importante no controle de infecções[21]. Os resultados obtidos mostram

que os macrófagos infectados com BCG recombinante ou BCG são capazes de produzir óxido nítrico no sobrenadante das culturas (Figura 1). Avaliando a cinética de produção de NO, independente da vacina BCG utilizada, a melhor produção de NO ocorre após 48 horas de cultura. A produção de NO induzida pela vacina BCG selvagem foi superior a observada pelos macrófagos infectados com BCG-CMX. Os dados também indicam que a BCG-CMX somente ativa os macrófagos apos 48 horas de cultura.

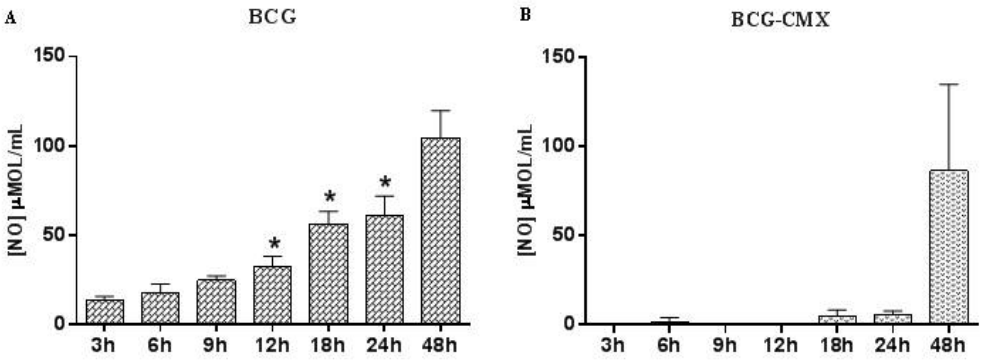


Figura 1. Produção de NO por culturas de macrófagos infectados com BCG selvagem e BCG recombinante. Macrófagos peritoneais foram cultivados nos diferentes tempos após a infecção com as vacinas (MOI 10:1) e os sobrenadantes foram avaliados para a produção de NO. * $p < 0,001$ entre resultados expressos em A comparados a B.

Para assegurar que os resultados obtidos eram devido a infecção dos macrófagos peritoneais com as vacinas BCG e BCG-CMX e não a produção espontânea de NO pelos macrófagos peritoneais recrutados pela inoculação com tioglicolato, culturas estimuladas apenas com meio ou estimuladas com LPS, um ativador de macrófagos, foram realizadas simultaneamente (Figura 2). Estes resultados confirmam que os macrófagos não produziam espontaneamente NO e que estavam ativos/vivos pois responderam bem ao estímulo com LPS.

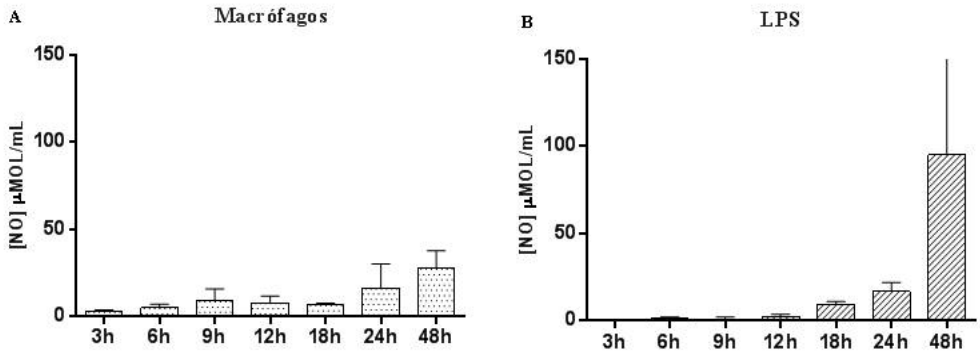


Figura 2. Produção de óxido nítrico por macrófagos não tratados e macrófagos tratados com LPS. A – Macrófagos basais (controle negativo); B – LPS (controle positivo).

BCG-CMX SÃO MAIS FAGOCITADAS POR MACRÓFAGOS PERITONEAIS DO QUE BCG SELVAGEM

As unidades formadoras de colônias foram determinadas a partir de alíquotas nos tempos 3h (período de infecção dos macrófagos) e 18h após a infecção. O sobrenadante das culturas quando coletado 3 horas após a infecção reflete as bactérias que não foram fagocitadas pelos macrófagos e que possivelmente seriam eliminadas no processo de lavagem das culturas. Também este tempo experimental, permite avaliar a homogeneidade do inoculo inicial. De acordo com esta avaliação, não existe diferença entre a contagem de bactérias encontradas no sobrenadante de culturas infectadas tanto com BCG quanto BCG-CMX. No entanto, quando as células foram lisadas e a UFC quantificada, os macrófagos infectados com BCG-CMX apresentaram mais bactérias do que as bactérias do sobrenadante inicial ($p<0.001$, Figura 3 A). Provavelmente, a fagocitose da BCG-CMX pelos macrófagos peritoneais foi maior do que a fagocitose de BCG.

Após 18 horas de cultivo, nota-se que há maior quantidade de UFC de BCG-CMX recombinante no interior das células do que de BCG. A quantidade de bacilos recuperados no sobrenadante das culturas com BCG ou BCG-CMX foi semelhante ($p<0.05$, Figura 3B).

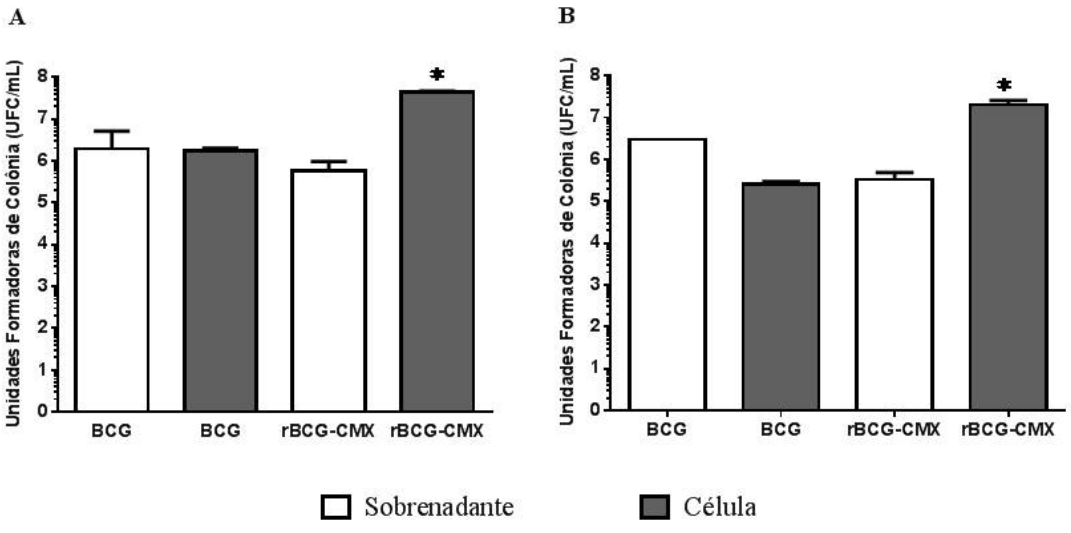


Figura 3: Unidades Formadoras de Colônia das células e do sobrenadante nos tempos 3h (A) e 18h (B). * $p < 0.001$ entre sobrenadante e cultura da vacina BCG-CMX. A quantidade de bactérias recuperadas do lisado de BCG-CMX é maior do que a encontrada nos macrófagos infectados com BCG ($p< 0.05$).

MORFOLOGIA CELULAR

Os macrófagos aderidos às lamínulas foram infectados e depois de 3h foram fixados e corados pela técnica de Ziehl Neelsen e Instant Prov para análise de sua morfologia e da eficiência da infecção. As fotomicrografias demonstram que os macrófagos peritoneais encontravam-se íntegros e após a infecção foram capazes de fagocitar tanto a BCG quanto a BCG-CMX (Figura 4).

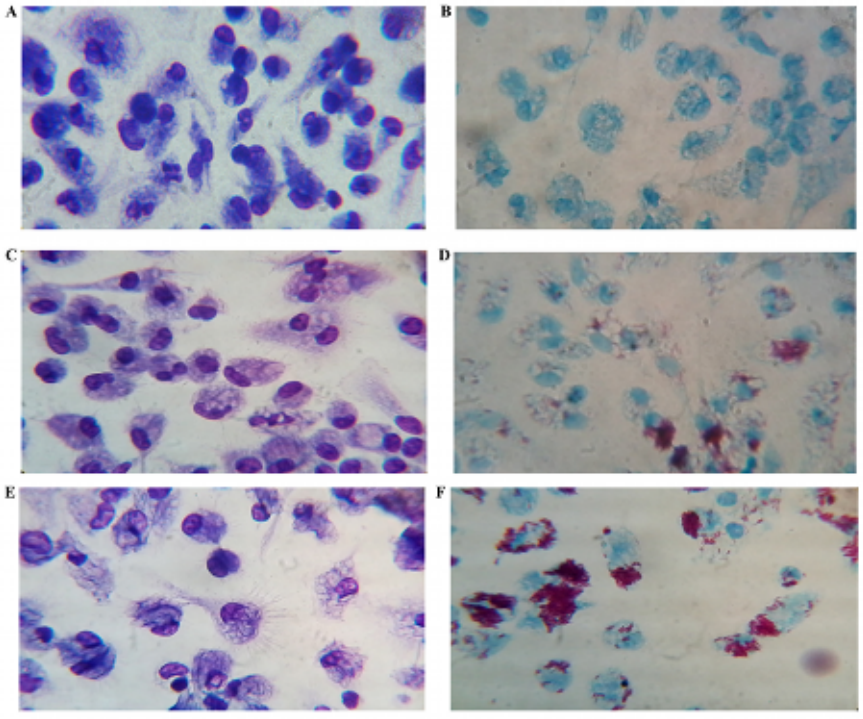


Figura 4. Fotomicrografias dos macrófagos peritoneais infectados com BCG e BCG-CMX. Macrófagos foram cultivados em placas de 24 poços contendo lamínulas circulares, após 24 horas de incubação (A e B- controles) as células foram infectadas com 10^7 UFC de BCG (C e D) ou com 10^7 UFC de BCG-CMX (E e F). Depois de 3 horas de incubação as lamínulas foram lavadas e coradas. Em A, C e E coloração Instant Prov, em B, D e F coloração de Ziehl Neelsen. As fotomicrogafias mostram aumento de 100X.

DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliamos e comparamos a atividade da BCG Moreau e da BCG Moreau recombinante (BCG-CMX) na estimulação de macrófagos peritoneais *in vitro* pela dosagem indireta da produção de óxido de nítrico.

Foi possível observar que a BCG-CMX induziu a produção de óxido nítrico (NO) em ensaios *in vitro* com macrófagos peritoneais, assim como a BCG, porém, em menor quantidade. A produção de NO é importante no controle e contenção da infecção por micobactérias, mas seus efeitos são dependentes de sua concentração. Em quantidades mais baixas, o NO age como uma molécula de sinalização, atuando na promoção da integridade vascular, mediando a neurotransmissão e regulando a respiração celular. Já em altas concentrações, o NO atua inibindo a respiração celular e pode gerar danos nas proteínas e no DNA[22,23]. Na infecção pelo *M. tuberculosis*, o NO desempenha um importante papel no controle do crescimento desse patógeno, enquanto que para o *Mycobaterium bovis* (*M. bovis*) BCG, esse composto parece limitar as respostas inflamatórias, inclusive diminuindo o acúmulo de células T ativadas[24]. Sabe-se que o gene que codifica o HspX é requerido pelo Mtb para o crescimento em macrófagos[25]. Parece que a redução na produção de NO pela BCG-CMX está relacionada com sua manutenção nos macrófagos, permitindo sua sobrevivência nessas células e esta manutenção pode favorecer o processamento de antígenos e a ativação de macrófagos/células dendríticas[26].

Um estudo *in vitro* realizado por Andrade e colaboradores (2012)[27] demonstrou que cepas virulentas de *M. bovis* são capazes de modular a resposta de macrófagos de M1 (produtor de NO, IL-12 e outras citocinas pró-inflamatórias) para M2 (resposta anti-inflamatória), viabilizando a sobrevivência da micobactéria no interior dessas células. Esta pode ser uma explicação para o fato de se observar uma menor produção de NO nas culturas com BCG-CMX quando comparada a produção pela BCG Moreau, constituindo um indício que de a inserção do plasmídeo com a proteína recombinante CMX possa ter aumentado a virulência da BCG e dessa forma, pode possibilitar um maior tempo de sobrevivência da cepa no interior dos macrófagos e assim desencadear uma resposta imune adquirida melhor elaborada e direcionada, com consequente memória e indução reguladora. Estes dados podem ser corroborados pelos resultados que mostraram a presença de mais bactérias fagocitadas quando a vacina BCG-CMX foi utilizada (Figura 3 e Figura 4).

Com base na importância e gravidade que a tuberculose assume mundialmente, especialmente no cenário da coinfecção com o HIV, e diante da necessidade de se obter uma vacina mais eficaz contra a forma adulta dessa doença, o desenvolvimento de uma vacina que possa estimular mais acentuadamente a resposta imune pode ser o caminho para a obtenção de uma ótima vacina. Os macrófagos peritoneis são células importantes na defesa inicial contra o *Mycobacterium Tuberculosis* e também para o desenvolvimento de uma resposta imunológica adquirida mais elaborada.

CONCLUSÕES

A vacina BCG estimula a maior produção de NO por macrófagos peritoneais do que a vacina BCG-CMX, no entanto a fagocitose e sobrevivência da vacina BCG-CMX foi maior do que a BCG neste modelo de infecção *in vitro* podendo indicar aumento de virulência da vacina ou modulação da ativação dos macrófagos pela expressão das proteínas de *M. tuberculosis*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta vacina parece ser promissora e deverá ser testada em modelo animal.

REFERÊNCIAS

1 WHO (World Health Organization). **Global Tuberculosis Report 2012**. Disponível em: <www.who.int/tb/publications/global_report/en/>. Acesso em: 27 de jul. 2013.

2 BRASIL. Ministério da Saúde. **Série histórica do número de casos novos de tuberculose**. Brasil, Regiões e Unidades Federadas de residência por ano diagnóstico (1990 a 2012). Sinan/SVS/MS, atualizado em 22/02/2013. Disponível em: <portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/Mar/25/casos_novos_tuberculose_1990_2012_base_22_02_2013.pdf>. Acesso em: 27 de jul. 2013.

3 SOW, F. B. et al. *Mycobacterium tuberculosis* components stimulate production of the antimicrobial peptide hepcidin. **Tuberculosis**, v. 91, p. 314-321, 2011.

4 CLARK, S. O. et al. Oral delivery of BCG Moreau Rio de Janeiro gives equivalent protection against tuberculosis but with reduced pathology compared to parenteral BCG Danish vaccination. **Vaccine**, v. 28, p. 7109-7116, 2010.

5 OTTENHOFF, T. H. M.; KAUFMANN, S. H. E. Vaccines against Tuberculosis: Where are we and where do we need to go? **PLoS Pathogens**, v. 8, issue 5, 2012.

6 KAUFMANN, S. H. E.; HESS, J. Immune response against *Mycobacterium tuberculosis*: implications for vaccine development. **Journal of Biotechnology**, v. 83, p. 13-17, 2000.

7 GUPTA, A. et al. *Mycobacterium tuberculosis*: Immune evasion, latency and reactivation. **Immunobiology**, v. 217, p. 363-374, 2011.

8 ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**, 6. ed. Philadelphia PA: Elsevier Saunders, 2008.

9 PIGGOTT, D. A.; KARAKOUSIS, P. C. Timing of Antiretroviral Therapy for HIV in the Setting of TB Treatment. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2011, 10 p., 2011.

10 MONTAÑÉS, C. M.; GICQUEL, B. New tuberculosis vaccines. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 29, supl 1, p. 57-62, 2011.

11 PARIDA, S. K.; KAUFMANN, S. H. E. The quest for biomarkers in tuberculosis. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 3/4, 2010.

12 SILVA, B. D. S. et al. MPT-51/CpG DNA vaccine protects mice against *Mycobacterium tuberculosis*. **Vaccine**, v. 27, p. 4402-4407, 2009.

13 MARTIN, C. et al. The live *Mycobacterium tuberculosis phoP* mutant strain is more attenuated than BCG and confers protective immunity against tuberculosis in mice and guinea pigs. **Vaccine**, v. 24, p. 3408-3419, 2006.

14 ORME, I. M. Preclinical testing of new vaccines for tuberculosis: A comprehensive review. **Vaccine**, v. 24, p. 2-19, 2006.

15 CHRISTY, A. J. et al. Epitope based recombinant BCG vaccine elicits specific Th1 polarized immune responses in BALB/c mice. **Vaccine**, v. 30, p. 1364-1370, 2012.

16 ARAÚJO-FILHO, J. A. et al. Cellular responses to MPT-51, GlcB and ESAT-6 among MDR-TB and active tuberculosis patients in Brazil. **Tuberculosis**, v. 88, p. 474-481, 2008.

17 TAYLOR, J. L. HspX-mediated protection against tuberculosis depends on its chaperoning of a mycobacterial molecule. **Immunology and Cell Biology**, v. 90, p. 945-954, 2012. Disponível em: <http://www.nature.com/icb/journal/v90/n10/full/icb201234a.html>. Acesso em: 20 de jan. 2013.

18 ALMEIDA, C. M. C. et al. Humoral Immune Responses of Tuberculosis Patients in Brazil Indicate Recognition of *Mycobacterium tuberculosis* MPT-51 and GlcB. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.15, n.3, p. 579-581, 2008.

19 RABAHI, M. F. et al. Humoral response to HspX and GlcB to previous and recent infection by *Mycobacterium tuberculosis*. **BioMed Central Infectious Diseases**, v. 7, n. 148, 2007.

20 DE SOUSA, E. M. et al. Immunogenicity of a Fusion Protein Containing Immunodominant Epitopes of Ag85C, MPT51, and HspX from *Mycobacterium tuberculosis* in Mice and Active TB Infection. **PLOS ONE**, v. 7, n. 10, 2012.

21 SAITO, S.; NAKANO, M. Nitric oxide production by peritoneal macrophages of *Mycobacterium bovis* BCG-infected or non-infected mice: regulatory role of T lymphocytes and cytokines. **Journal Leukocyte Biology**, v. 59, p. 908-915, 1996.

22 XU, W.; CHARLES, I. G.; MONCADA, S. Nitric oxide: orchestrating hypexia regulation through mitochondrial respiration and the endoplasmic reticulum stress response. **Cell Research,** v. 15, p. 63-65, 2005.

23 PEARL, J. E. et al. Nitric oxide inhibits the accumulation of $CD4^{+}CD44^{hi}Tbet^{+}CD69^{lo}$ T cells in mycobacterial infection. **European Journal of Immunology**, v. 42, p. 3267-3279, 2012.

24 COOPER, A. M. et al. IFN-γ and NO in mycobacterial disease: new jobs for old hands. **Trends in Microbiology**, v. 10, p. 221-226, 2002.

25 YUAN, Y. et al. The 16-kDa alpha-crystallin (Acr) protein of *Mycobacterium tuberculosis* is required for growth in macrophages. **Proceedings of the National Academy of Sciences the USA**, v. 95, p. 9578–9583, 1998.

26 SHI, C. et al. Enhanced protection against tuberculosis by vaccination with recombinant BCG over-expressing HspX protein. **Vaccine**, v. 28, n.32, p. 5237–5244, 2010.

27 ANDRADE, M. R. M. et al. Pathogenic *Mycobacterium bovis* strains differ in their ability to modulate the proinflammatory activation phenotype of macrophages. **BMC Microbiology**, v. 12, n.166, 2012.

ESTUDO DA DIVERSIDADE DA MORTALIDADE POR CÂNCER DE MAMA FEMININO NO BRASIL.

José Augusto SOUZA-NETO[1]; Ruffo FREITAS-JUNIOR[2]; Carolina Maciel Reis GONZAGA[3]; Marta Rovery SOUZA[4].

[1]Aluno bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) – Acadêmico da Liga da Mama / Faculdade de Medicina / Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, Brasil. (Orientando)

[2]Médico do Programa de Mastologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e Professor da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás / Programa de Mastologia HC-UFG. Goiânia, Goiás, Brasil. (Orientador)

[3]Fisioterapeuta e doutoranda em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Goiás / Programa de Mastologia HC-UFG. Goiânia, Goiás, Brasil.

[4]Cientista social do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública / Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, Brasil

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás

Programa de Mastologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás

CEP: 74690-000, Brasil.

Correspondência: augustonetojs@hotmail.com

Revisado pelo orientador: Prof. Dr. Ruffo de Freitas Júnior

RESUMO

Introdução: O câncer de mama é o tipo de neoplasia que mais acomete mulheres no mundo todo, apresentando, no Brasil, uma elevada taxa de mortalidade. A população brasileira é composta a partir de diferentes origens étnicas, culturais e padrões socioeconômicos. Por essa razão, a prestação de serviços de saúde de alto nível e distribuída homogeneamente em todo o país é um desafio. **Objetivo:** estudar a diversidade da mortalidade por câncer de mama feminino no Brasil, em suas macrorregiões e nas Unidades de Federação, no período de 1980 a 2012. **Método:** estudo ecológico de série temporal, com uso de informações sobre óbitos cadastradas no Sistema de Informações em Mortalidade, sobre incidência por meio de Dados dos Registros de Base Populacional e dados da população presentes nos Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde e Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Foi realizada análise bivariada, através de correlação de Pearson e realizada análise das tendências da mortalidade através da regressão de Poisson. **Resultado:** o trabalho foi realizado em 3 vertentes na tentativa de caracterização da tendência temporal de mortalidade por câncer de mama. Na primeira realizou-se a divisão entre capitais e seus respectivos interiores. Na segunda foi realizada uma análise por faixa etária. Na última buscou-se estabelecer o padrão de desigualdade de saúde no Brasil. **Conclusão:** este estudo aumentou o conhecimento sobre a incidência e a mortalidade por câncer de mama no Brasil, permitindo, deste modo, ações que antecipem as necessidades das mulheres e dos serviços de saúde.

Palavras-chave: câncer de mama, mortalidade, tendência, Brasil.

1. INTRODUÇÃO

No atual contexto brasileiro, o câncer é a segunda causa de morte por doença. Na população brasileira feminina, desconsiderando o tumor de pele não melanoma, o câncer de mama é o de maior incidência. Tal neoplasia configura a causa mais freqüente de morte por câncer em mulheres, tanto em regiões em desenvolvimento com nas regiões desenvolvidas. Foi estimado que, no Brasil, em 2012 o número de novos casos de câncer de mama foi de 52.680, com risco provável de 52 casos a cada 100 mil mulheres. Na região Centro-Oeste avaliou-se 47 novos casos para cada 100 mil mulheres, tendo o Estado de Goiás cerca de 1.320 casos[1-3].

Aproximadamente dez mil mulheres morrem anualmente, no Brasil, devido à realização de um diagnóstico tardio, sendo este considerado o principal determinante da ineficácia do tratamento do tumor. A detecção da doença já nos seus estágios avançados ocorre em cerca de 60% dos casos e acaba resultando em tratamentos cirúrgicos radicais de alto custo e de alta taxa de mortalidade. O tempo transcorrido para se diagnosticar o câncer de mama possui uma direta relação com seu prognóstico e evolução, de forma que a precocidade da detecção é diretamente proporcional ao favorecimento do processo de cura[4,5].

Nas últimas análises sobre a tendência da mortalidade por câncer de mama feminino, o Brasil apresentou um padrão de estabilização, correspondendo a um nivelamento e opondo-se aos padrões esperados para os países em desenvolvimento e de baixa renda, sugerindo, dessa forma, avanços no tratamento e na detecção precoce através do rastreamento mamográfico. Entretanto, tais resultados não se aplicam quando adotamos um olhar regionalizado do território brasileiro, revelando um país que apresenta grandes desigualdades regionais, má distribuição dos atendimentos e dificuldade de acesso ao tratamento, principalmente, nos níveis sociais mais baixos. Tal contexto é evidenciado nas diferentes tendências da mortalidade por câncer de mama feminino observadas nas macro-regiões e Unidades da Federação brasileira[6-17].

Atualmente, as ações de saúde direcionadas à prevenção e detecção precoce do câncer de mama têm sido designadas como fundamentais e necessitadas de intensificação. Dados de acesso a serviços, qualidade da atenção morbi-mortalidade, condições de vida e fatores ambientais passaram a ser medidas utilizadas na elaboração de Indicadores de Saúde, que se traduzem em aspectos fundamentais para a quantificação e a avaliação das informações em saúde[18,19].

Dessa maneira, estudos que ressaltem a conjuntura da mortalidade por câncer de mama entre as mulheres brasileiras são indispensáveis para monitorar a saúde no país, determinando o desempenho do sistema de saúde, para trazer informações sobre a doença às autoridades e, consequentemente, para aprimorar a sua gestão.

2. OBJETIVOS

O projeto apresenta como objetivo estudar a diversidade da mortalidade por câncer de mama feminino no Brasil, em suas macrorregiões e nas Unidades de Federação, no período de 1980 a 2012.

3. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo ecológico de série temporal, que foi realizado por meio de coleta de número de óbitos por câncer de mama entre as mulheres brasileiras, para o período compreendido entre 1980 e 2012.

Os dados da população são extraídos do DATASUS, obtidos por meio dos censos (1980, 1991, 2000 e 2010), contagem (1996) e projeções intercensitárias (1981 a 2009), segundo faixa etária e sexo.

A partir da obtenção dos dados de mortes e população, são calculados os coeficientes de mortalidade brutos, específicos por idade para sete faixas etárias, (20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69, 70-79 e 80 anos e mais) e o coeficiente de mortalidade padronizado por idade, utilizando o método indireto, tendo como referência uma população mundial hipotética proposta por Segi (1960), modificada por Doll et al. (1966).

Para identificar as mudanças significativas na tendência da mortalidade por câncer de mama, é utilizado nessa pesquisa o modelo de regressão de *Poisson* a partir do *software Joinpoint*, versão 3.4.3 disponibilizado pelo *National Cancer Institute* – NCI (surveillance.cancer.gov/joinpoint) (NCI 2011), um *software* de estatística utilizado para análise de tendências através de modelos nos quais linhas diferentes são ligadas entre si nos "joinpoints". O *software* recebe os dados dos coeficientes de mortalidade por câncer de mama padronizados por idade, sendo considerado o modelo mais simples de 0 *joinpoint* (linha reta), para única tendência e o modelo de 1 *joinpoint*, para duas tendências. A partir do *software* são criados gráficos para cada modelo analisado.

Para descrever a tendência de cada período, é obtido o APC (*annual percent change*) ou MPA (mudança percentual anual), o intervalo de confiança (IC) de 95%, com resultado significativo quando p<0,05; considerou-se aumento na mortalidade quando houve evolução positiva na tendência e o valor mínimo do IC esteve acima de zero; estabilização da mortalidade quando, independente da tendência, o IC incluiu zero e, redução, quando houve evolução negativa na tendência e o valor máximo do IC esteve abaixo de zero.

É utilizada a regressão linear para correlacionar o Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) e a taxa de mortalidade, e também para comparar a taxa de cobertura mamográfica. Foram utilizadas informações sobre câncer de mama de 17 Registros de Câncer de Base Populacional (RCPB), disponibilizado pelo Instituto Nacional de Câncer, sendo eles: Aracaju (2000-2004), Belém (2000-2001), Belo Horizonte (2000-2003), Campo Grande (2000-2002), Cuiabá (2001-2005), Curitiba (2001-2005), Fortaleza (2001-2005), Goiânia (2001-2005), Jaú (2001-2005), João Pessoa (2001-2005), Manaus (2000-2004), Natal (2000-2004), Palmas (2000-2004), Porto Alegre (2000-2004), Recife (2000-2003), Salvador (2000-2004) 0065 São Paulo (2001-2005).

Para análise geoespacial da mortalidade por câncer de mama feminino no Brasil, é utilizada a variável de coeficiente de mortalidade padronizado inicial e final observada em cada estado a partir do *software* ArcGIS versão 9.

Durante a realização do projeto, ficou como atribuições desempenhadas pelo aluno de iniciação científica o levantamento bibliográfico pertinente aos temas pesquisados, coleta e digitação de banco de dados, auxílio na identificação das características sócio-demográficas, colaboração na escrita de artigo científico para apresentação dos resultados.

Pela internet, o DATASUS disponibiliza as principais informações para tabulação sobre as bases de dados do Sistema de Informações sobre Mortalidade. Esses dados são de acesso livre, não houve, portanto, necessidade da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa para realizar a pesquisa.

4. RESULTADOS

Durante o período de vigência do PIBIC foram desenvolvidas várias vertentes do projeto no qual o mesmo estava inserido, na tentativa de caracterização temporal do câncer de mama feminino no Brasil.

Na primeira vertente buscou-se analisar a tendência temporal da mortalidade por câncer de mama feminino nos estados brasileiros, realizando a disjunção entre as capitais e os seus respectivos interiores.

Na região Sul (Tabela 1), constata-se uma tendência de queda na mortalidade por câncer de mama feminino na capital Porto Alegre com APC = -1,6%, no período de 1993 a 2010. As capitais Curitiba e Florianópolis apresentaram estabilização na mortalidade, com APC = -6,3% (2006-2010) e APC = -3,4% (1996-2010) respectivamente, porém sem significância estatística. No interior dos estados dessa região, foi observada estabilização com APC = 0,9% no Paraná, APC = 0,1% no interior de Santa Catarina e APC = -0,4% no interior do Rio Grande do Sul, porém sem significância estatística.

Na região Sudeste (Tabela 2), verificou-se tendência de queda nas capitais do Rio de Janeiro (APC = -0,9%), São Paulo (APC = -1,7%), Belo Horizonte (APC = -1,2%) e também no interior do estado de São Paulo (APC = -2,8%), a partir de 2002. Na capital Vitória e no interior do estado do Rio de Janeiro, foi observada estabilização na mortalidade por câncer de mama entre as mulheres, enquanto nos interiores do Espírito Santo e Minas Gerais, nota-se uma tendência de aumento na mortalidade, com APC = 2,7% e 1,1%, respectivamente, durante o período analisado.

Na região Centro-Oeste (Tabela 3), todas as capitais apresentaram estabilização na tendência da mortalidade, com queda sem significância estatística, com exceção de Cuiabá que apresentou estabilização com APC = 1,5%. Os interiores de dessa região apresentaram tendência de aumento na mortalidade por câncer de mama feminino.

Na região Nordeste (Tabela 4), apenas Recife apresentou tendência de queda na mortalidade por câncer de mama feminino com APC = -0,9%. As capitais de Teresina, João Pessoa e Fortaleza apresentaram tendência de aumento com APC de 4,6%, 1,6% e 0,5%, respectivamente. As outras capitais apresentaram padrão de estabilização. Todos interiores apresentaram tendência de aumento em suas taxas de mortalidade por câncer de mama.

Na região Norte (Tabela 5), a grande parte das capitais e interiores apresentaram estabilização em suas taxas de mortalidade por câncer de mama. Faz-se necessário ressaltar que os dados de óbito por câncer de mama são incompletos nos estados dessa região, com exceção do Pará. Assim sendo, o período de análise foi diferente entre os estados. Os estados

do Pará e Rondônia apresentaram tendência de aumento, destacando-se a capital Porto Velho (APC = 9,0%).

Na segunda vertente foi realizado um estudo da tendência temporal da mortalidade por câncer de mama feminino por faixa etária nas Unidades Federativas do Brasil. Ao observar as taxas padronizadas de mortalidade por câncer de mama (Figura 1), verificou-se a priori que as taxas de mortalidade por câncer de mama são 3 vezes maiores na faixa etária de 50 a 69 anos durante o período de 1980 a 2010.

Observou-se (Tabela 6) uma tendência de queda significativa da mortalidade por câncer de mama em 3 estados: Rio Grande do Sul, grupo de 40-49 anos (MPA= -1,61%) e grupo de 50 a 69 anos (MPA= -0,73%); Rio de Janeiro, grupo de 50-69 anos (MPA= -0,74%) e grupo de acima de 70 anos (MPA = -0,95%); São Paulo, grupo de 40-49 anos (MPA= -1,80%), grupo de 50-69 anos (MPA= -2,05%) e grupo de acima de 70 anos (MPA= -1,69%). Foi constatado tendência de queda não significativa nos estados da Região Sul, Sudeste e no Distrito Federal.

Foram observadas tendências de aumento na mortalidade por câncer de mama em 19 estados. No estado do Acre, os dados de mortalidade foram muito instáveis, provavelmente devido à baixa qualidade do atestado de óbito, o que dificulta a interpretação.

Na terceira vertente buscou-se fornecer dados sobre o padrão de desigualdade de saúde no Brasil, gerado pelas diferentes taxas de incidência e mortalidade por câncer de mama feminino e sua relação com o IDH, mamógrafos em uso, densidade demográfica e taxa de fecundidade.

Na figura 2 observamos as taxas padronizadas de incidência e de mortalidade por câncer de mama feminino nas cidades brasileiras elegidas. Constatou-se variação nas taxas de incidência de 26,2/100.000 mulheres em Belém (2000-2001) para 92,2/100.000 em Porto Alegre (2000-2004). Verificou-se a priori que a incidência é 3 vezes menor nas cidades menos desenvolvidas. Com relação à mortalidade, houve variação de 9,9/100.000 em Belém para 21,1/100.000 em Porto Alegre.

As maiores taxas de incidência e de mortalidade por câncer de mama foram observadas nas mulheres com idade entre 50 e 69 anos (Tabela 7). Por faixa etária, a incidência chega a ser 3 vezes maior nas cidades mais desenvolvidas. Com relação à mortalidade, houve discreta variação nas taxas entre as mulheres com menos de 50 anos. Nas

mulheres acima de 50 anos as taxas de mortalidade são 2 vezes maiores nas cidades mais desenvolvidas. Não houve correlação significativa entre incidência e mortalidade por câncer de mama com mamógrafos em uso e com a densidade demográfica.

5. DISCUSSÃO

A incidência e a mortalidade pelo câncer de mama estão em crescente aumento em todo o mundo, todavia tal afecção ainda é mais proeminente em regiões desenvolvidas. No contexto brasileiro, as cidades com maior IDH apresentaram as maiores taxas de incidência e mortalidade de câncer de mama e as cidades de renda média e baixa, principalmente cidades da região Nordeste, apresentaram crescente aumento de suas proporções. Essas cidades enfrentam agora o desafio de efetivar o rastreamento e tratamento do câncer de mama[20].

Apesar de nosso estudo não ter encontrado correlação significativa entre taxas de incidência e de mortalidade por câncer de mama e a cobertura mamográfica nacional, as menores taxas de incidência observadas nas cidades das regiões Norte e Nordeste, podem estar relacionadas ao baixo percentual de mamografias realizadas. No Estado de Goiás, a cobertura da mamografia é disposta de maneira heterogênea e o número de exames realizados é inferior ao necessário. Para atingir 70% de cobertura, seria necessário realizar 43.424 mamografias adicionais[21].

Admite-se que a fator principal para o aumento mundial do risco de câncer de mama esteja associado a alterações no estilo de vida das mulheres, incluíndo melhorias socioeconômicas, aumento da expectativa de vida e controle reprodutivo, bem como a adoção de hábitos menos desejáveis, como mudanças alimentares e sedentarismo[22].

Em nossa análise fica bem estabelecida a discrepância na mortalidade por câncer de mama entre as capitais e interiores e também entre as próprias capitais, evidenciando a falta de recursos no interior dos estados, assim como nos estados menos desenvolvidos. Outra plausível justificativa para o problema pode ser as variações de exposição das mulheres aos fatores de risco e às práticas de diagnóstico, ressaltando que o câncer de mama tende a ser diagnosticado em estádios mais avançados nas regiões menos desenvolvidas[9].

As taxas de mortalidade por câncer de mama por faixa etária mais elevadas foram constatadas nos grupos acima de 50 anos. Países de baixa renda, predominantemente na África subsaariana, apresentam maiores taxas de mortalidade nos grupos etários 45-59, o que

configura-se como uma grande adversidade, pois este é o grupo com capacidade laborativa, afetando diretamente a economia e a renda destes países.

A maioria dos estados brasileiros apresentaram tendência de aumento significativo nas taxas de incidendência na faixa etária de 50-69 anos. Dessa forma,é importante a intensificação da cobertura de mamografias de rastreamento neste grupo, ressaltando que a qualidade das mamografias por meio de um programa nacional de qualidade e a ampliação de ações de comunicação devem ser garantidas[23].

Nossa pesquisa não verificou correlação significativa entre densidade demográfica e taxa de incidência e mortalidade por câncer de mama. Entretanto, esclarecer fatores de risco relacionados à densidade demográfica e IDH torna-se indispensável em uma perspectiva de saúde pública para avaliar qual dos dois fatores deve ser usado como principal marcador de risco. Houve correlação negativa entre a taxa de fecundidade e a taxa de mortalidade por câncer de mama. Contudo, mais estudos são necessários para esclarecer o verdadeiro efeito dos fatores de risco reprodutivos sobre o câncer de mama nas mulheres brasileiras.

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, onde o sistema de saúde recebe uma demanda populacional heterogênea, é imprescindível a realização de uma investigação epidemiológica sobre o câncer de mama correlacionada a resultados de pesquisas clínicas, rastreamento, diagnóstico e tratamento. Dessa maneira, entendemos que estudos comparando as faixas etárias poderão identificar fatores de risco nestas populações sub estudadas. O aumento da conscientização pública sobre câncer de mama e do acesso ao rastreamento são estratégias que contribuem para redução da mortalidade por esta neoplasia[24].

Os dados apresentados sobre a tendência temporal da mortalidade por câncer de mama feminino podem ser considerados indicadores para o controle do câncer de mama no país. Certamente, deverão contribuir para um melhor planejamento de ações, apoio à saúde, vigilância e avaliação das intervenções[25].

No Brasil, assim como em outros países em que o rastreamento organizado ainda não é uma realidade, é necessário que as instituições governamentais se apropriem das melhores evidências científicas, para que as propostas de programas de rastreamento ofereçam a melhor relação de benefício para população[26].

6. CONCLUSÃO

Uma grande dificuldade para a determinação da incidência do câncer de mama no Brasil é a limitação dos dados disponíveis. Números de incidência são baseados em dados de pequenas áreas geográficas que, muitas vezes, são agrupados e extrapolados para as macro-regiões e cidades vizinhas. Por conseguinte, a estimativa da incidência pode não refletir verdadeiramente a diversidade sócio-econômica e cultural das mulheres brasileiras e o padrão de desigualdade de saúde. Todavia, as tendências são claras o suficiente para preocupação e criação de soluções.

O aperfeiçoamento e a disseminação de ações de comunicação e educação sobre câncer de mama no Brasil, por meio dos serviços de saúde e dos diversos segmentos sociais, são estratégias importantes para o desenvolvimento do tratamento no país.

A pesquisa foi realizada com base em dados do contexto brasileiro, disponíveis em inquéritos nacionais, sistemas de informação e estudos locais, e constatou lacunas, informações insuficientes e necessidade de estudos em diversas temáticas. Este estudo aumentou o conhecimento sobre a incidência e a mortalidade por câncer de mama no Brasil, permitindo, deste modo, ações que antecipem as necessidades das mulheres e dos serviços de saúde. Apesar das opções de tratamento serem efetivas para o câncer de mama, lamentavelmente, continuam inacessíveis para muitas mulheres que vivem em áreas em desenvolvimento. A negligência de cuidados tem levado a mortes evitáveis. É fundamental intervenções governamentais em todas as esferas políticas para mudança do atual panorama brasileiro.

7. REFERÊNCIAS

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 127(12):2893-2917. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2010.

2. INCA. Ministério da Saúde 2011. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Rio de Janeiro. Disponível em: http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/estimativa20122111.pdf. Acessado em 28 de julho de 2013.

3. Instituto Nacional do Câncer. Consenso para controle do câncer de mama. Rio de Janeiro: INCA/CONPREV; 2004.

4. Piato S. Tratado de Ginecologia. 2ª ed. São Paulo: Artes Médicas, 2002.

5. Freitas NMA, Freitas-Júnior R, Curado MP, *et al*. Tendência da incidência e da mortalidade do câncer de mama em Goiânia: análise de 15 anos (1988-2002). Rev Bras Mastol 2006; 16 (1): 17-22.

6. Gonzaga CMR. Mortalidade por câncer de mama nas mulheres brasileiras no período de 1980 a 2009. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 101 pp, 2011.

7. Chatenoud L, Bertuccio P, Bosetti C, Levi F, Curado MP, Malvezzi M, Negri E, La Vecchia C. Trends in cancer mortality in Brazil, 1980-2004. Eur J Cancer Prev 2010; 19: 79-86.

8. Fonseca LAM, Eluf-Neto J, Wunsch Filho. Trends of cancer mortality in Brazilian state capitals, 1980-2004. Rev Assoc Med Bras 2010; 56: 309-12.

9. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman. Global Cancer Statistics. A Cancer Journal for Clinicians 2011; 61: 69–90.

10. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer Statistics, 2010. CA Cancer J Clin 2010; 60: 277-300.

11. Autier P, Boniol M, LaVecchia C, Vatten L, Gavin A, Héry C, Heanue M. Disparities in breast cancer mortality trends between 30 European countries: retrospective trend analysis of WHO mortality database. BMJ 2010; 341: 1-7.

12. Althuis MD, Dozier JM, Anderson WF, Devesa SS, Brintonet LA. Global trends in breast cancer incidence and mortality 1973-1997. Int J Epidemiol 2005; 34: 405-12.

13. Guerra,MR, Gallo CVM, Mendonça GAS. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. Rev Bras Cancerol 2005; 51: 227-34.

14. Viacava F, Souza-Junior PRB, Moreira RS. Estimativas da cobertura de mamografia segundo inquéritos de saúde no Brasil. Rev Saúde Pública 2009; 43: 117-25.

15. Sclowitz ML, Menezes AMB, Gigante DP. Condutas na prevenção secundária do câncer de mama e fatores associados. Rev Saúde Pública 2005; 39: 340-9.

16. Novaes HMD, Braga PE, Schout D. Fatores associados à realização de exames preventivos para câncer nas mulheres brasileiras, PNAD 2003. Ciência & Saúde Coletiva 2006; 11: 1023-35.

17. Brito C, Portela MC, Vasconcellos MTL. Assistência oncológica pelo SUS a mulheres com câncer de mama no Estado do Rio de Janeiro. Rev Saúde Pública 2005; 39: 874-81.

18. Pelloso SM, Carvalho MDB, Higarashi IH. Conhecimento das mulheres sobre o câncer cérvico-uterino. Acta Scientiarum. Healht Sciences. Maringá 2004; 26(2): 319-24.

19. Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde – DATASUS (Brasil). Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php>. Acesso em: 28 de julho de 2013.

20. Coughlin SS, Ekwueme DU. Breast cancer as a global health concern. Cancer Epidemiol 2009; 33(5):315–8. doi: 10.1016/j.canep.2009.10.003.

21. Correa RS, Freitas-Junior R, Peixoto JE, Rodrigues DCN, Lemos MEF, Marins LAP, Silveira EA. Estimativas da cobertura mamográfica no Estado de Goiás, Brasil. Cad. Saúde Pública 2011; *27*(9):1757-1767. doi: 10.1590/S0102-311X2011000900009.

22. Curado MP, Edwards B, Shin HR, *et al*. Cancer incidence in five continents. Vol. IX. IARC scientific publications nº 160. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2007.

23. Correa RS, Freitas-Junior R, Peixoto JE, Rodrigues DCN, Lemos MEF, Dias CM, *et al*. Efetividade de programa de controle de qualidade em mamografia para o Sistema Único de Saúde. Rev. Saúde Pública 2012; 46(5):769-76.

24. Lee BL, Liedke PER, Barrios CH, Simon SD, Finkelstein DM, Goss PE. Breast cancer in Brazil: present status and future goals. Lancet Oncol 2012 Mar; 13(3): 95–102.

25. Bittencourt AS, Camacho LAB, Leal MC. O Sistema de Informação Hospitalar e sua aplicação na saúde coletiva. Cad Saúde Pública 2006; 22(1):19-30.

26. Silva RCF, Hortale VA. Rastreamento do Câncer de Mama no Brasil: Quem, Como e Por quê? Rev Bras Cancerol 2012; 58(1):67-71.

8. ANEXOS

Tabela 1 | Tendência da mortalidade por câncer de mama feminino nas capitais e interior dos estados da região Sul

Estados	Capitais e interiores	Tendência 1						Tendência 2					
		Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)	Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)
		Inicial	Final	Inicial	Final			Inicial	Final	Inicial	Final		
Paraná	Curitiba	1980	2006	14.5	19.9	0.4	(-0.2–1.0; p=0.21)	2006	2010	19.9	15.2	-6.3	(-16.0–4.5; p=0.22)
	Interior	1980	1995	6.5	10.2	3.9*	(2.8–4.9; p<0.01)	1995	2010	10.2	11.0	0.9	(-0.3–1.7; p=0.16)
Santa Catarina	Florianópolis	1980	1996	9.4	19.0	3.5*	(0.6–6.6; p=0.02)	1996	2010	19.0	17.7	-3.4	(-6.8– 0.1; p=0.05)
	Interior	1980	1998	8.9	11.6	2.0*	(1.2–2.7; p<0.01)	1998	2010	11.6	11.4	0.1	(-1.3–1.5; p=0.92)
Rio Grande do Sul	Porto Alegre	1980	1993	21.6	24.4	1.9*	(0.5–3.2; p<0.01)	1993	2010	24.4	18.6	-1.6*	(-2.4– -0.7; p<0.01)
	Interior	1980	1993	11.6	15.5	2.2*	(1.2–3.3; p<0.01)	1993	2010	15.5	14.3	-0.4	(-1.1– 0.3; p=0.23)

Taxa de mortalidade padronizada por 100.000 mulheres

* estatisticamente significantes; p<0.05

Tabela 2 | Tendência da mortalidade por câncer de mama feminino nas capitais e interior dos estados da região Sudeste

Estados	Capitais e interiores	Tendência 1						Tendência 2					
		Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)	Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)
		Inicial	Final	Inicial	Final			Inicial	Final	Inicial	Final		
Espírito Santo	Vitória	1980	1994	14.5	24.9	2.6	(-1.7–7.1; p=0.22)	1994	2010	24.9	13.6	-2.6	(-6.0–0.9; p=0.13)
	Interior	1980	2010	5.5	10.9	2.7*	(2.1–3.2; p<0.01)						
Rio de Janeiro	Rio de Janeiro	1980	1994	21.1	21.2	0.7*	(0.1–1.4; p=0.03)	1995	2010	21.2	18.2	-0.9*	(-1.4– -0.4; p<0.01)
	Interior	1980	1994	11.7	16.1	2.5*	(1.7–3.3; p<0.01)	1994	2010	16.1	13.9	0.1	(-0.5–0.7; p=0.76)
São Paulo	São Paulo	1980	1998	15.7	20.7	1.2*	(0.7–1.7; p<0.01)	1998	2010	20.7	16.2	-1.7*	(-2.6– -0.9; p<0.01)
	Interior	1980	2002	10.6	13.9	1.3*	(0.9–1.6; p<0.01)	2002	2010	13.9	11.9	-2.8*	(-4.4– -1.3; p<0.01)
Minas Gerais	Belo Horizonte	1980	1991	15.5	18.3	0.9	(-1.0–2.9; p=0.33)	1991	2010	18.3	13.2	-1.2*	(-2.0– -0.4; p=0.01)
	Interior	1980	2010	6.4	8.9	1.1*	(0.7–1.4; p<0.01)						

Taxa de mortalidade padronizada por 100.000 mulheres

* estatisticamente significantes; p<0.05

Tabela 3 | Tendência da mortalidade por câncer de mama feminino nas capitais e interior dos estados da região Centro-Oeste

Estados	Capitais e interiores	Tendência 1						Tendência 2					
		Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)	Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)
		Inicial	Final	Inicial	Final			Inicial	Final	Inicial	Final		
Goiás	Goiânia	1980	1998	8.7	17.0	1.8*	(0.3–3.4; p=0.02)	1998	2010	17.0	12.8	-1.4	(-4.2– 1.4; p=0.31)
	Interior	1980	2010	3.0	8.4	2.7*	(2.0–3.4; p<0.01)						
Mato Grosso do Sul	Campo Grande	1980	2003	15.0	20.2	1.8*	(0.2–3.4; p=0.02)	2003	2010	20.2	14.7	-2.5	(-11.1– 6.8; p=0.56)
	Interior	1980	2010	3.4	11.1	2.9*	(1.7–4.0; p<0.01)						
Mato Grosso	Cuiabá	1980	2010	6.6	13.7	1.5	(-0.0–3.0; p=0.05)						
	Interior	1980	2010	1.6	8.3	6.5*	(5.2–7.7; p<0.01)						
Distrito Federal		1980	2006	11.5	18.4	1.0*	(0.4–1.7; p<0.01)	2006	2010	18.4	12.1	-7.6	(-17.6–3.5; p=0.16)

Taxa de mortalidade padronizada por 100.000 mulheres

* estatisticamente significantes; p<0.05

Tabela 4 | Tendência da mortalidade por câncer de mama feminino nas capitais e interior dos estados da região Nordeste

Estados	Capitais e interiores	Tendência 1						Tendência 2					
		Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)	Período		Taxa mortalidade		APC	(IC95%; p)
		Inicial	Final	Inicial	Final			Inicial	Final	Inicial	Final		
Bahia	Salvador	1980	1994	15.0	16.9	0.5	(-0.8–1.8; p=0.47)	1994	2010	16.9	15.3	-1.0	(-2.1– 0.0; p=0.05)
	Interior	1980	1997	2.7	3.6	1.6*	(0.5–2.7; p<0.01)	1997	2010	3.6	6.6	6.1*	(4.5–7.8; p<0.01)
Rio Grande do Norte	Natal	1980	2010	11.5	10.1	-0.0	(-0.9–0.9; p=0.91)						
	Interior	1980	2010	0.7	8.9	6.6*	(5.3–7.9; p<0.01)						
Maranhão	São Luís	1980	2010	8.1	13.9	0.7	(-0.2–1.6; p=0.11)						

	Interior	1980	1999	0.2	0.6	5.7*	(2.3–9.3; p<0.01)	1999	2010	0.6	4.1	17.6 *	(9.2–26.7; p<0.01)
Piauí	Teresina	1980	1997	7.5	6.2	-1.2	(-3.4–1.0; p=0.28)	1997	2010	6.2	11.4	4.6*	(1.2–8.2; p=0.01)
	Interior	1980	1988	0.9	0.5	-9,2	(-19,2–2.0; p=0.10)	1988	2010	0.5	6.8	10.9 *	(8.1–13.7; p<0.01)
Paraíba	João Pessoa	1980	2010	15.4	13.6	1.6*	(0.7–2.6; p<0.01)						
	Interior	1980	1999	1.9	1.6	0.9	(-0.8–2.7; p=0.27)	1999	2010	1.6	7.8	14.5 *	(10.0–19.2; p<0.01)
Alagoas	Maceió	1980	2010	12.7	13.1	-0.0	(-0.9–0.8; p=0.93)						
	Interior	1980	1996	2.8	1.3	-1.7	(-4.4–1.0; p=0.19)	1996	2010	1.3	6.0	10.8 *	(7.1–14.6; p<0.01)
Sergipe	Aracaju	1980	2010	16.9	16.6	0.9	(-0.3–2.1; p=0.14)						
	Interior	1980	2010	1.5	7.0	6.7*	(-4.8–8.7; p<0.01)						
Ceará	Fortaleza	1980	2010	12.1	14.4	0.5*	(0.1–0.9; p=0.02)						
	Interior	1980	1990	0.8	1.7	5.6	(-0.8–12.4; p=0.08)	1990	2010	1.7	8.3	9.8*	(7.4–12.2; p<0.01)
Pernambuco	Recife	1980	1993	17.2	20.3	1.5*	(0.2–2.7; p=0.02)	1993	2010	20.3	15.0	-0.9*	(-1.7– -0.1; p=0.03)
	Interior	1980	2010	6.5	11.0	2.3*	(1.8–2.7; p<0.01)						

Taxa de mortalidade padronizada por 100.000 mulheres

* estatisticamente significantes; p<0.05

Tabela 5 | Tendência da mortalidade por câncer de mama feminino nas capitais e interior dos estados da região Nordeste

Estados	Capitais e interiores	Tendência					
		Período		Taxa mortalidade		APC	**(IC95%; p)**
		Inicial	Final	Inicial	Final		
Amazonas	Manaus	1997	2010	10.1	11.6	-0.3	(-3.4–2.9, p=0.83)
	Interior	1997	2010	1.6	2.1	3.6	(-4.1–11.9, p=0.33)
Pará	Belém	1980	2010	11.3	11.1	0.8*	(0.2–1.5; p=0.01)
	Interior	1980	2010	1.2	4.6	5.4*	(3.9–6.8; p<0.01)
Rondônia	Porto Velho	1989	2010	0.6	0.9	9.0*	(3.8–14.6, p<0.01)
	Interior	1989	2010	5.1	3.8	5.0*	(2.0–8.0, p<0.01)
Acre	Rio Branco	1994	2010	2.5	0.7	-4.3	(-9.9–1.7; p=0.14)

	Interior	1994	2010	2.3	3.0	0.8	(-5.7–7.7, p=0.80)
Roraima	Boa Vista	1999	2009	6.8	11.4	4.0	(-8.4–18.0; p=0.50)
	Interior	1999	2009	3.4	2.5	2.1	(-9.6–15.4; p=0.70)

Figura 1 | Taxa de mortalidade padronizada de câncer de mama feminino no Brasil, por faixa etária no período de 1980 a 2010. (Taxa ajustada por 100.000 mulheres)

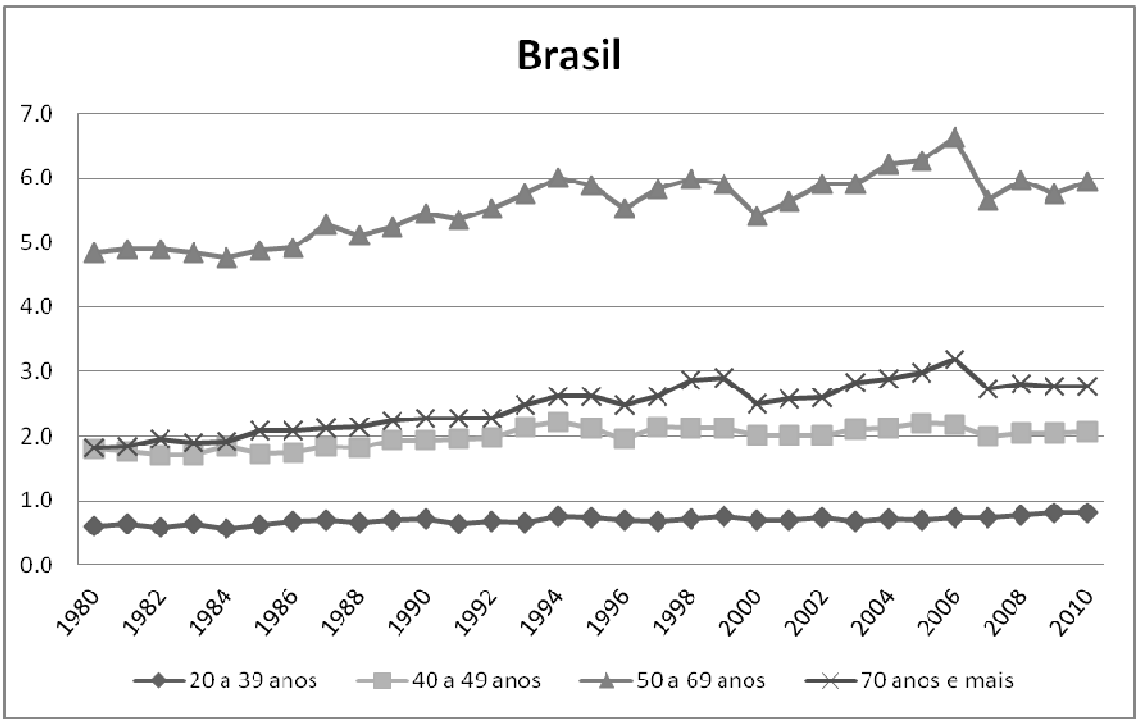


Tabela 6 | Tendência temporal da mortalidade por câncer de mama feminino nos estados brasileiros em diferentes faixas etárias no período de 1980 a 2010.

Estados brasileiros	**20-39 anos**	**40-49 anos**	**50-69 anos**	**70 - mais**
	MPA; IC95% (período)	MPA; IC95% (período)	MPA; IC95% (período)	MPA; IC95% (período)
Paraná	1,64*; 0,9 a 2,4 (1980-2010)	-1,00; -2,2 a 0,2 (1994-2010)	-2,09;-7,3 a 3,4 (2005-2010)	-6,83; -15,3 a 2,4 (2005-2010)
Santa Catarina	1,42*; 0,5 a 2,4 (1980-2010)	-1,41; -3,5 a 0,7 (1995-2010)	1,07*; 0,6 a 1,6 (1980-2010)	-0,12;-2,1 a 1,9 (1994-2010)
Rio Grande do Sul	-1,97; -4,3 a 0,4 (1996-2010)	-1,61*; -2,3 a -0,9 (1992-2010)	-0,73*; -1,5 a -0,0 (1993-2010)	0,11; -1,1 a 1,3 (1994-2010)

Espírito Santo	2,76*; 0,7 a 4,9 (1986-2010)	1,07*; 0,0 a 2,1 (1980-2010)	2,38*; 1,6 a 3,2 (1980-2010)	3,54*; 2,1 a 5,0 (1980-2010)
Rio de Janeiro	0,23; -0,4 a 0,8 (1980-2010)	0,35; -0,0 a 0,7 (1980-2010)	-0,74*; -1,2 a -0,2 (1994-2010)	-0,95*; -1,7 a -0,2 (1994-2010)
São Paulo	-0,95; -2,1 a 0,2 (1995-2010)	-1,80*; -2,6 a -1,0 (1997-2010)	-2,05*; -3,2 a -0,9 (1999-2010)	-1,69*; -2,9 a -0,5 (1999-2010)
Minas Gerais	0,80*; 0,1 a 1,5 (1980-2010)	0,50*; 0,0 a 1,0 (1980-2010)	0,63*; 0,3 a 1,0 (1980-2010)	1,29*; 0,8 a 1,8 (1980-2010)
Distrito Federal	1,47; -1,2 a 4,2 (1980-2010)	-1,03; -2,2 a 0,2 (1986-2010)	-7,80; -19,6 a 5,8 (2006-2010)	-8,80; 35,0 a 27,9 (2006-2010)
Goiás	0,98; 0,4 a 2,4 (1980-2010)	1,80*; 0,7 a 2,9 (1980-2010)	2,04*; 1,4 a 2,7 (1980-2010)	2,77*; 1,7 a 3,9 (1980-2010)
Mato Grosso do Sul	2,36*; 0,2 a 4,6 (1980-2010)	2,22*; 0,9 a 3,5 (1980-2010)	1,92*; 1,0 a 2,8 (1980-2010)	3,59*; 2,1 a 5,1 (1980-2010)
Mato Grosso	4,30*; 1,6 a 7,1 (1983-2010)	2,68*; 1,0 a 4,4 (1980-2010)	4,52*; 3,0 a 6,1 (1980-2010)	7,34*; 5,5 a 9,2 (1985-2010)
Amazonas	0,85; -1,4 a 3,2 (1980-2010)	2,83*; 1,0 a 4,7 (1980-2010)	2,60*; 1,2 a 4,1 (1980-2010)	1,64; -0,2 a 3,5 (1980-2010)
Pará	1,49*; 0,3 a 2,7 (1980-2010)	2,01*; 0,8 a 3,3 (1980-2010)	1,75*; 0,8 a 2,7 (1980-2010)	2,30*; 0,8 a 3,8 (1980-2010)
Rondônia	8,38; -0,7 a 18,3 (1996-2010)	7,24*; 5,2 a 9,3 (1987-2010)	4,62*; 1,8 a 7,6 (1988-2010)	0,37; -7,6 a 9,0 (1998-2010)
Acre	S/I	S/I	-4,12; -8,2 a 0,1 (1994-2010)	S/I
Bahia	2,18*; 1,4 a 3,0 (1980-2010)	2,08*; 1,5 a 2,6 (1980-2010)	3,95*;2,0 a 6,0 (1999-2010)	2,49*; 1,9 a 3,0 (1980-2010)
Rio Grande do Norte	0,45; -1,6 a 2,5 (1984-2010)	2,80*; 1,3 a 4,4 (1980-2010)	3,58*; 2,7 a 4,5 (1980-2010)	4,68*; 2,4 a 7,0 (1980-2010)
Maranhão	10,59*; 2,5 a 19,3 (1998-2010)	6,63*; 4,6 a 8,7 (1980-2010)	11,08*;4,5 a 18,1 (2001-2010)	4,91*; 2,9 a 7,0 (1980-2010)
Piauí	10,16*; 1,6 a 19,5 (1998-2010)	5,58*; 3,4 a 7,8 (1980-2010)	7,24*; 5,1 a 9,4 (1988-2010)	5,64*; 3,5 a 7,8 (1980-2010)
Paraíba	9,85*; 2,5 a 17,7 (1997-2010)	4,09*; 2,8 a 5,4 (1980-2010)	4,64*; 3,4 a 5,9 (1980-2010)	15,19*; 9,6 a 21,1 (2000-2010)
Alagoas	6,02*; 1,9 a 10,3 (1995-2010)	1,98*; 0,6 a 3,3 (1980-2010)	5,91*;3,1 a 8,8 (1996-2010)	4,43*; 2,5 a 6,4 (1980-2010)
Sergipe	4,02*; 1,8 a 6,3 (1983-2010)	8,73*; 1,6 a 16,3 (1997-2010)	2,90*; 1,5 a 4,3 (1980-2010)	4,80*; 2,7 a 6,9 (1980-2010)
Ceará	3,57*; 1,2 a 6,0 (1993-2010)	3,58*; 2,6 a 4,5 (1980-2010)	3,62*; 2,9 a 4,3 (1980-2010)	5,45*; 4,4 a 6,5 (1980-2010)
Pernambuco	2,53*; 1,5 a 3,6 (1980-2010)	1,82*; 1,2 a 2,4 (1980-2010)	2,86*; 2,4 a 3,3 (1980-2010)	3,86*; 3,1 a 4,6 (1980-2010)

Taxa de mortalidade padronizada por 100.000 mulheres

* estatisticamente significantes; p<0.05

MPA = Mudança Percentual Anual

Figura 2 | Taxas padronizadas de incidência e de mortalidade por câncer de mama feminino em cidades brasileiras

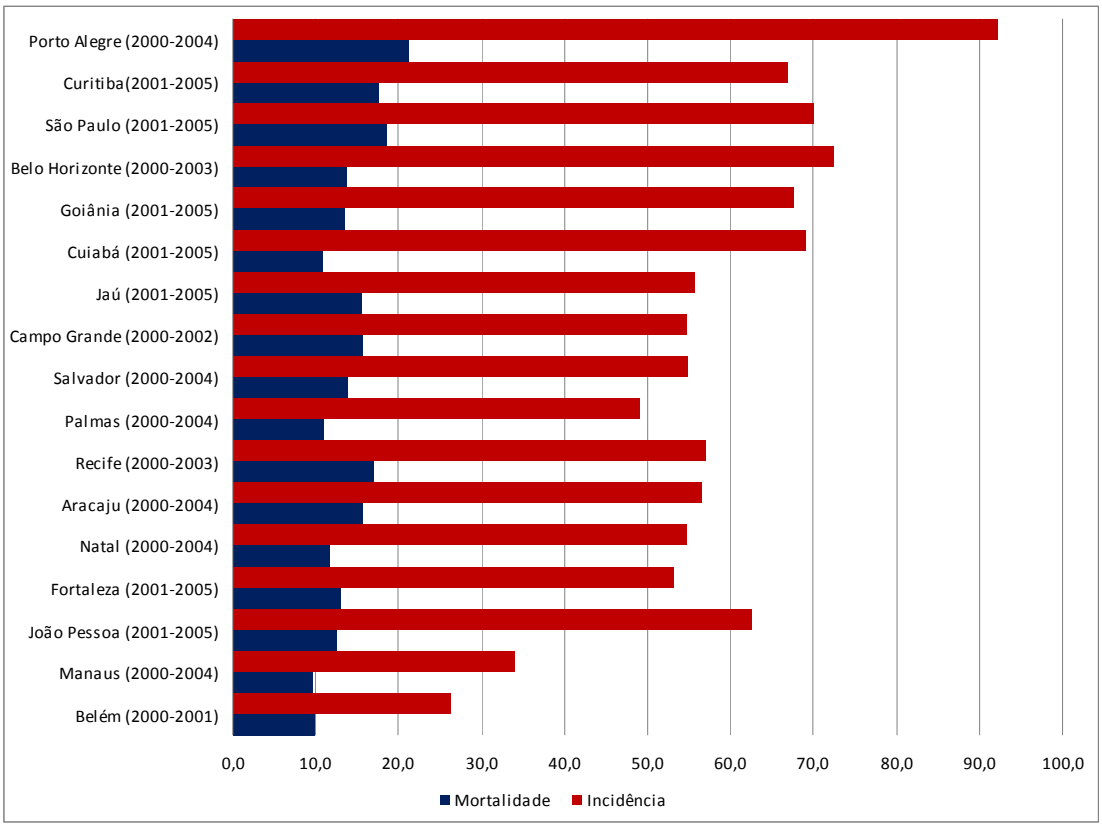


Tabela 7 | Taxas padronizadas do câncer de mama feminino em cidades brasileiras

Local (período)	20 a 39 anos		40 a 49 anos		50 a 69 anos		70 anos e mais		Total	
	Taxa Incidência	Taxa Mortalidade	Taxa Incidência	Taxa Mortalidade	Taxa Incidência	Taxa Mortalidade	Taxa Incidência	Taxa Mortalidade	Taxa Incidência	Taxa Mortalidade
Aracaju (2000-2004)	4,7	1,2	12,7	2,8	28,7	8,6	10,4	3,0	56,5	15,6
Belém (2000-2001)	2,4	0,7	5,6	2,4	13,3	4,7	4,9	2,0	26,2	9,9
Belo Horizonte (2000-2003)	5,0	1,1	15,3	2,1	37,8	6,9	14,2	3,5	72,4	13,6
Campo Grande (2000-2002)	5,9	1,2	10,7	2,7	29,1	9,0	9,1	2,7	54,7	15,6
Cuiabá (2001-2005)	6,7	0,8	16,4	1,8	33,8	5,8	12,0	2,3	69,0	10,7
Curitiba (2001-2005)	5,6	1,0	13,3	2,2	35,0	9,3	12,9	5,1	66,8	17,5
Fortaleza (2001-2005)	4,3	0,8	11,9	2,1	28,1	6,8	8,9	3,1	53,2	12,9
Goiânia (2001-2005)	5,7	0,8	15,5	2,3	36,8	7,7	9,6	2,7	67,6	13,5
Jaú (2001-2005)	5,5	0,7	13,9	3,0	26,4	8,9	9,9	2,9	55,7	15,5
João Pessoa (2001-2005)	4,4	0,4	15,2	2,2	33,1	7,3	9,7	2,6	62,4	12,5
Manaus (2000-2004)	2,9	0,6	7,6	2,1	17,9	5,1	5,5	1,9	33,8	9,7
Natal (2000-2004)	3,7	0,6	13,1	1,9	27,8	6,2	10,0	2,8	54,6	11,6
Palmas (2000-2004)	2,6	0,5	7,4	1,8	24,9	5,4	14,1	3,3	49,0	11,0
Porto Alegre (2000-2004)	6,7	0,8	20,2	3,1	49,0	10,9	16,3	6,2	92,2	21,1
Recife (2000-2003)	4,9	1,0	12,8	3,3	29,9	8,4	9,3	4,2	56,9	16,9
Salvador (2000-2004)	4,1	0,9	11,6	2,4	28,7	7,1	10,4	3,3	54,8	13,7
São Paulo (2001-2005)	5,3	0,9	15,0	2,9	37,0	9,6	12,8	5,0	70,0	18,4

*Valores por 100 mil/ População Padrão Mundial, modificada por Doll et al. (1966) / Fontes: Câncer no Brasil: Dados dos Registros de Câncer de Base Populacional, Volume IV (2010) MS/INCA/Conprev/Divisão de Informação

GRUPOS ESCOLARES EM CATALÃO-GO[1]

Jucemária da Silva Almeida. Graduanda em Pedagogia. Câmpus Catalão/UFG.
jucemariaa@gmail.com.
Ana Maria Gonçalves. Departamento de Educação. Câmpus Catalão.
anamaria.23@uol.com.br

Resumo

O grupo escolar constituiu-se numa nova forma de organização do ensino primário no Brasil. Nas últimas décadas vem tornando-se objeto de estudo de pesquisadores em história da escola pública brasileira. O objetivo deste artigo é analisar o processo de instauração dos grupos escolares no âmbito da política educacional goiana. Nesse sentido, analisa o surgimento desse tipo de instituição no município de Catalão-GO. O presente trabalho pauta-se na abordagem da História Cultural analisando a trajetória dos primeiros grupos escolares desse município, com ênfase na instalação e aspectos administrativos. Utiliza-se como fontes documentos dos arquivos escolares e trabalhos de memorialistas.

Palavras-chave: grupos escolares; escola primária; história da educação em Goiás; educação em Catalão-GO.

Introdução

Este artigo apresenta o resultado final do projeto de iniciação científica, desenvolvido entre agosto de 2012 e julho de 2013, sobre o processo de criação de grupos escolares no município de Catalão-GO. Ele integra o projeto "A instrução elementar em Goiás: currículos e práticas educativas nos grupos escolares (1919-1971)". A escolha desse objeto de pesquisa se justifica pela inexistência de estudos acadêmicos sobre o surgimento dessas instituições de ensino no referido município.

O trabalho destaca as principais características do ensino primário no Brasil, apontando as mudanças introduzidas no campo educacional com o surgimento da escola graduada, ou seja, a substituição e/ou tentativa de substituição das escolas isoladas por grupos escolares nos vários estados brasileiros, particularmente em Goiás. Por fim, discorre sobre o surgimento destas instituições no município de Catalão-GO.

[1] Revisado pela orientadora.

Metodologia

A compreensão de que os estudos atuais sobre a escola não se limitam a legislação sobre o sistema educacional permitiu a realização de um entrecruzamento dessas fontes com documentos escritos presentes em arquivos escolares. A pesquisa se inscreve no âmbito da história da educação, influenciada pelos pressupostos da história cultural, que segundo Burke (1992), se trata de uma reação contrária à história tradicional, a partir do questionamento da ideia de uma história objetiva, neutra e factual, preocupada em apresentar os feitos dos "grandes" homens, numa visão de cima e restrita aos documentos escritos, oficiais. Associada ao movimento da Escola dos Annales, a nova história se interessa por toda atividade humana, partindo da ideia de que "a realidade é social ou culturalmente construída". Desse modo, ascende à escolha por novos objetos de pesquisa, amplia a ideia de fonte, de documento, sinaliza a possibilidade de releitura de documentos oficiais com vistas a novos questionamentos e à compreensão do que se apresenta nas entrelinhas. Nesse sentido, esta pesquisa se sustenta em dois eixos: o recurso à revisão bibliográfica e a leituras das fontes encontradas nos arquivos.

Um dos procedimentos recorrente consistiu na análise e interpretação dos textos. Em um primeiro nível concedeu-se voz ao documento/fonte, lendo-o em seus próprios termos. Em um segundo nível, fez-se a interlocução com os estudos já realizados. Por fim, no nível da crítica aos textos, buscou-se perceber os limites dos textos/fontes e a possibilidade ou não do estabelecimento de relações.

Resultados

A Emergência dos Grupos Escolares no Brasil

Segundo Vidal (2006), os grupos escolares emergiram ao longo das duas primeiras décadas republicanas, sendo que no corpo das leis surgiram primeiro em São Paulo, no ano de 1893. Sua extinção foi produzida pela promulgação da Lei 5.692/71, que criou a Ensino de Primeiro e Segundo Graus. De acordo com a autora, os grupos escolares passaram a promover ensino graduado, criando ainda a figura do administrador, o diretor.

Há que se ressaltar que a hegemonia pretendida através dos grupos escolares não se efetivou por completo em todo o território nacional. O motivo central talvez tenha sido o fato desse novo modelo de escola exigir altos investimentos, pois propunha a construção de

espaços próprios e adequados para o funcionamento das escolas, professores habilitados, mobiliário moderno e abundante material didático.

O crescimento mais significativo dos grupos escolares por todo país ocorreu nas décadas de 1930 e 1940, sendo o agrupamento de escolas isoladas um recurso bastante utilizado pelo poder público para a expansão do ensino através dos grupos escolares. No entanto, onde edificações para o funcionamento de grupos escolares foram construídas, estas se tornaram o maior e mais relevante conjunto arquitetônico de escolas públicas existentes no país. Nesses termos, pode-se afirmar que os mesmos tiveram um papel fundamental na construção da escola primária brasileira e na produção da história da Infância no Brasil.

Segundo Souza e Faria Filho (2006) é de fundamental importância para a história do ensino primário e da escola pública no Brasil a contribuição trazida pelos estudos históricos sobre os grupos escolares, haja vista os mesmos terem se tornado, ao longo do século XX, no tipo predominante de escola elementar, encarnando o sentido da escola primária brasileira. Nessa perspectiva, os autores afirmam que os grupos escolares se instituíram como "uma escola modelar, símbolo do regime republicano e dos ideais de progresso e civilização". (SOUZA e FARIA FILHO, 2006, p. 207)

Souza e Faria Filho relatam que há uma enorme diferença na forma e na temporalidade de implantação dos grupos escolares entre os diversos estados brasileiros, assim como na dinâmica de estabelecimento dos mesmos no meio urbano e rural. Entretanto, eles assinalam que os grupos escolares se constituíram como identidade da educação pública do país, pois foi através deles que se instituiu o ensino de forma seriada. Nesse sentido, reforçam a importância de trabalhos sobre a história dos grupos escolares.

> Portanto recuperar essa história significa valorizar a escola pública reconhecendo o direito que a sociedade tem à memória e ao passado histórico de uma instituição por ela estimada e que vem exercendo ao longo do tempo um papel central na experiência infantil. Configura-se, pois, como contribuição valiosa para a história social e a história da educação. (SOUZA E FARIA FILHO, 2006, p.48)

Segundo Lopes (2006), os Grupos Escolares apareceram como um elemento modernizador do sistema escolar superando o modelo casa-escola, considerado antiquado, buscando tornar a escola "uma repartição pública de verdade". Quanto à diversidade na história dos grupos escolares, o autor diz que no Piauí, por exemplo, "[...] a implantação dos Grupos Escolares foi antecedida pela implantação das escolas reunidas no período de 1905 a 1922". (LOPES, 2006, p.82)

De acordo com Pinheiro o primeiro grupo escolar pernambucano foi criado em 1916, mas a ideia de criação dos mesmos remonta ao ano de 1908. Para o autor, reforçando a tese da

importância desse tipo de instituição, com a inauguração do primeiro grupo escolar paraibano, iniciou-se um novo momento da história educacional deste estado. Pinheiro destaca que primeiros grupos escolares foram alocados em suntuosas edificações adaptadas ou construídas. O autor complementa: "Em suma, os Grupos Escolares não apenas atenderam às exigências estéticas da elite, mas também se prestaram a modernizar e embelezar a Paraíba". (PINHEIRO, 2006, p.121)

Pinheiro destaca que para se perpetuar e demonstrar prestígio e poder, os nomes dos coronéis eram utilizados para denominar esse novo tipo de instituição escolar. O autor afirma que os grupos escolares implicaram ao mesmo tempo o aperfeiçoamento e sofisticação dos mecanismos de controle do Estado sobre uma significativa parcela da sociedade, professores e alunos. Além disso, esse novo modelo de organização também propiciou, segundo a avaliação dos gestores públicos da época, melhoria na qualidade do ensino no Brasil.

Segundo Mota (2006), no Maranhão a questão educacional foi marcada pela instabilidade política local. Os grupos escolares foram instituídos inicialmente na capital São Luiz, no ano de 1903, e nos demais municípios a partir de 1905. E a emergência dos mesmos, ocorre em um momento que a manutenção das instituições escolares existentes era precária. Motta mostra que o período de maior expansão dos grupos escolares no Maranhão ocorreu na década de 1950, onde se deu a criação de 21 grupos escolares.

De acordo com Motta:

> A importância política dada aos Grupos Escolares durante quase meio século no Maranhão foi tamanha que sua localização no interior era na praça principal, ao lado da Matriz, da prefeitura, do fórum e da câmara, constituindo-se um elemento de poder, juntamente com o religioso, o judiciário, o legislativo e o executivo. (MOTTA, 2006, p.151)

Segundo Nascimento (2006, p. 153) "as viagens de estudo e a "importação de técnicos" constituíram estratégias importantes para a política de reforma do ensino e a implantação dos Grupos Escolares em Sergipe, a partir da segunda década do século XX". Quanto à política de construção dos grupos escolares, essa se intensificou mais na década de 1920 e os grupos escolares de São Paulo foram assumidos como modelo a serem seguidos, sendo um "espelho" não só para Sergipe, mas também para os demais estados.

Rocha e Barros (2006) afirmam que na Bahia os grupos escolares não foram representados por prédios luxuosos, os "templos da civilização". Assinalam que os que existiram, em alguns poucos lugares, eram modelos de pouca visibilidade. A escola primária pública na Bahia se caracterizou, portanto, desde o final o século XIX, como uma escola isolada. Destacam, todavia que:

> Apesar de pouco investimento em prédios próprios para escolas, e particularmente, segundo o modelo "grupo escolar", o ensino primário baiano foi objeto de várias reformas, as quais definiram o grupo escolar como a instituição responsável pela difusão do ensino primário, em contraposição à escola isolada. (ROCHA e BARROS, 2006, p.183)

Segundo Araújo e Moreira (2006), no Rio Grande do Norte, os anos imediatos à instalação do regime republicano também presenciaram a materialização de um programa de inovações socioeducacionais.Essas inovações se aceleraram com a instalação concomitante da Escola Normal e do Grupo Escolar Augusto Severo, no ano de 1908, na capital Natal. E assim foram se abrindo gradativamente grupos escolares nos lugares das escolas de primeiras letras multisseriadas, pois os grupos escolares eram o processo civilizatório em marcha.

Segundo Silva (2006):

> A preocupação como progresso social de Mato Grosso impulsionou o governo a investir na reorganização da instrução primária e na formação de professores. Essa preocupação se identifica com o ideal de progresso presente na sociedade brasileira desde o final do século XIX, quando a elite republicana considerava a educação como instrumento de consolidação do novo regime bem como de regeneração da nação. (SILVA, 2006, p.215)

Silva assinala que levando em conta a precariedade da instrução pública em Mato Grosso e a falta de pessoas habilitadas, o governo do estado mandou buscar em São Paulo, dois normalistas paulistas para reorganizarem o ensino público primário e normal.

Segundo Araújo (2006), na política educacional mineira, os grupos escolares foram instaurados a partir de 1906 e estes se apresentaram como "palácios", os quais iriam suplantar os "pardieiros". Instauraram-se focados na regulação do processo social, expressando o sentido republicano buscado. Estas diretrizes estão, segundo o autor, presentes em Minas principalmente nos ideais expressos no governo de João Pinheiro entre 1906 e 1908.

De acordo com Câmara e Barros (2006), no final do século XIX a capital federal, Rio de Janeiro, da recém República proclamada, era alvo de inovações que se ambicionava implantar tendo como questão central o progresso e a modernidade. Entre as iniciativas vislumbradas como ponto de sustentação do novo regime, a educação aparecia como um eixo articulador dos princípios que deveriam orientar e organizar a sociedade. Assim, tencionaram assegurar a legitimidade das propostas, sistematizando uma nova organização e regulamentação para as escolas primárias, com a criação de grupos escolares no final do século XIX.

Segundo Nascimento (2006), nos Campos Gerais (PR), os grupos escolares foram criados no início do século XX e desempenharam papel fundamental para a consolidação das ideias republicanas na região. Quanto às populações isoladas, as escolas isoladas foram a

solução rápida e barata que o governo apresentou para que essas populações tivessem acesso ao ensino.

Silva (2006) destaca que havia um projeto de escolarização para o estado de Santa Catarina, o de substituir gradualmente as "escolas singulares por grupos escolares". Buscava-se implementar algumas ações afinadas com o desenho daquilo que vinha sendo construído nos estados de São Paulo e Minas Gerais, tidos nesse período como referência de modernidade em termos de ensino. A criação dos grupos escolares integra o projeto republicano catarinense de "reinvenção das cidades", as quais deveriam se adequar aos padrões de urbanidade dos grandes centros, ou dos centros que encarnassem de forma mais visível os padrões urbanos de modernidade.

Enfim, pelo breve relato relativo a criação dos grupos escolares em alguns estados brasileiros pode-se dimensionar o papel que assumiram na difusão da educação primária em nosso país. Trata-se de um projeto tipicamente republicano com o intento de modernizar e civilizar a nação.

Grupos Escolares em Goiás

De acordo com Bretas (1991), a desarticulação do ensino primário, desde 1898, foi a grande mazela do regime republicano em Goiás e a ajuda do estado nunca foi precisa nem atuante. Pinto (2012) assinala que em relatório apresentado ao presidente José Xavier de Almeida, no ano de 1905, João Alves de Castro descreve a situação precária em que se encontrava a instrução pública em Goiás, causada principalmente pela descentralização da responsabilidade pela criação e manutenção das escolas primárias no estado.

Em 1917 João Alves de Castro assumiu a Presidência do Estado. Segundo Bretas ele se mostrou zeloso para com a instrução pública, não deixando passar a oportunidade de reorganizar o ensino primário. Seu grande desafio foi centralizar o ensino, visto que a responsabilidade de manter as escolas estava em um vai e vem entre o estado e os municípios. De acordo com o autor, o próprio presidente redigiu um projeto de lei organizando o ensino primário no estado, o qual se transformou na lei nº 631, de 02 de agosto de 1918.

Pinto reforça essa tese ao afirmar que João Alves de Castro era conhecedor dos problemas educacionais goianos e que o mesmo reconhecia que com relação à instrução primária pública não bastava que o estado tão somente criasse novas escolas e contratasse professores. Era preciso ir além, fiscalizar, implantar novos métodos pedagógicos e um bom programa de disciplinas além de prédios próprios com um bom mobiliário para o funcionamento das escolas.

Com essa perspectiva, a partir do ano de 1918 o governo estadual passou a assumir definitivamente toda a responsabilidade pela instrução pública, retirando a autonomia que anteriormente os municípios tinham para poder criar e manter as escolas primárias. Essa decisão foi de fundamental importância para a educação goiana.

Portanto, João Alves de Castro, de acordo com Pinto (2012, p. 303. Grifos meus):

> passara, então, das palavras à ação. [...] Na sua gestão (1917-1921), em 1918 veio a cume a importante reforma educacional que *além de colocar a instrução primária nas mãos da esfera estadual, criou o Grupo Escolar nas terras goianas***.** Além disso, a rede escolar foi ampliada, novos parâmetros para a organização escolar foram postos em circulação e ocorreram incentivos para a adoção de novos métodos de ensino representando a gênese da implementação e difusão do escolanovismo na escola goiana. Além disso, o Governo Alves de Castro, marcou o início de um período marcado com reformas educacionais, que perdurou até o final da Primeira República.

A lei de 1918 não era muito diferente das anteriores ao período republicano do ponto de vista da organização, inova ao chamar para o estado a responsabilidade pelo controle e funcionamento das escolas primárias, visando assim uniformidade do ensino. Segundo Bretas:

> A grande novidade da reforma educacional foi a introdução do Grupo Escolar em Goiás, instituição que já era comum em outros estados da federação. O Grupo Escolar foi o resultado natural da evolução do Ensino Primário no país. [...]. O centro de ensino que comportava várias escolas, seria então, o que se convencionou chamar Grupo Escolar. Várias seriam as vantagens do Grupo Escolar: facilitariam a inspeção e administração do ensino, poder-se-ia juntar todos os alunos e distribuí-los em classes, cada classe reunindo os alunos da mesma idade e mesmo adiantamento, assim, certa homogeneidade e possibilitando ao professor dar uma só lição a toda a classe ao mesmo tempo. Administrados por um professor diretor, os demais professores sentiriam a presença constante de uma autoridade superior, com funções definidas em regulamento, para fiscalizar o desempenho de cada um, exigindo-lhes eficiência no ensino. (BRETAS-1991, p.506)

O primeiro Grupo Escolar a instalar-se em Goiás foi o da capital (Cidade de Goiás). E não foi difícil, pois apenas se transformou o Curso Anexo da Escola Normal em Grupo Escolar, havia dois professores, então bastou contratar mais dois para completar o quadro de quatro professores (número mínimo exigido para o funcionamento de um Grupo Escolar), um para cada série do ensino primário. Para isso o prédio do Liceu foi ampliado com a construção de várias salas de aula. Enfim, foi apenas uma mudança de nome e um aumento no quadro dos professores.

Com a instalação do Grupo Escolar da capital, alguns municípios passaram a pressionar o governo para que lhe dessem também esse benefício, dentre esses municípios estava Catalão. Nesse sentido, o governo autorizou a criação de cinco Grupos Escolares em Goiás por meio da Lei nº 694 de 27 de julho de 1921.

Segundo Bretas:

> As primeiras cidades a valerem-se da Lei 694 foram Catalão, Bonfim (hoje Silvânia) e Rio Verde. Catalão já havia anos que vinha pleiteando o seu Grupo Escolar. Cansado de esperar e vendo que o Estado não teria condições de construir lá um

> prédio adquiriu uma casa velha, grande e adaptou-a fazendo alguns retoques, desmanchando e construindo paredes, até construir 4 salas desiguais para aula. Em seguida ofereceu-a ao governo, apresentando 4 nomes de professores para serem nomeados. Bonfim e Rio Verde construíram prédios próprios e também apresentaram ao governo os nomes de professores normalistas para serem nomeados. Os prédios destas últimas cidades foram aprovados, não acontecendo o mesmo com Catalão. Criou-se então um problema político: Catalão ao receber a notícia, levantou-se em protesto por achar que o governo deu a outros a prioridade que lhe cabia por ter sido o primeiro município a pleitear um Grupo Escolar. O Governo explica através do Diário Oficial: os pedidos de Bonfim e Rio Verde, foram aprovados porque apresentaram prédios novos, construídos sob planta adequada para o fim a que se destinavam e apresentaram nomes de professores normalistas diplomados para ocuparem as cadeiras conforme a exigência da Lei, ao contrário de Catalão, que apresentou candidatos não diplomados. Quanto ao prédio adaptado, poderia o governo relevar, porque essa condição não era ilegal, mas quanto a professores leigos o governo não poderia ceder-lhes, por ser ilegal. (BRETAS-1991, p.511 e 512).

No ano de 1925 surgiram o Regulamento e o Programa dos Grupos Escolares do Estado de Goiás através do Decreto-lei nº 8.538 de 12 de fevereiro de 1925. Reforçando assim a adesão do estado de Goiás à Modernidade Pedagógica. De acordo com Brzezinski (apud PINTO, 2012, p. 63):

> No regulamento dos Grupos Escolares reafirmava-se o ideário pedagógico liberal expresso em seus pontos básicos: ensino básico e gratuito [...], desenvolvido em 4 anos, as lições deveriam levar o estudante ao desenvolvimento do raciocínio e não ao simples treino da memória, as teorias abstratas e enfadonhas deveriam ser abolidas, dando lugar aos ensinamentos práticos e concretos. Os professores deveriam adotar o processo analítico.

Diante desses fatos houve na década de 1920 um crescimento no número de escolas e de crianças matriculadas e frequentes. O número de crianças matriculadas nas escolas teve um aumento de 111% do ano de 1917 para o ano de 1918 (período em que a escola passou a ser mantida pelo Governo Estadual). Mas, infelizmente, a criação dos Grupos Escolares em Goiás restringiu-se apenas a algumas regiões do estado que ficavam mais próximas da capital (cidade de Goyaz) e das cidades progressistas do Triângulo Mineiro. Isso fez com que o restante do estado não vivesse esse mesmo desenvolvimento, o que perdurou durante boa parte do século XX.

Enquanto nas escolas isoladas o curso primário elementar era feito em 4 anos, nos Grupos Escolares era feito em seis anos, o que fez com que muitos filhos das elites, bem como da classe média goiana, deixassem de frequentar as escolas isoladas, passando a frequentar os Grupos Escolares, pois organizados segundo os parâmetros modernos, estes ofereciam uma formação melhor e mais ampla.

Mas, apesar da inovação, essas reformas também preservaram antigas práticas, consolidando velhas tradições e fazendo com que a escola goiana resistisse aos imperativos da modernidade. Pinto alerta, no entanto, que "De qualquer maneira as bases de um sistema

educacional moderno já estavam lançados, bem como novas ideias e concepções de seu papel social e político". (PINTO, 2012, p. 326).

Instauração de Grupos Escolares em Catalão

A história dos grupos escolares em Catalão-GO, de acordo com Chaud (2000), tem início em quinze de janeiro de 1923 quando foi instalado o primeiro Grupo Escolar desse município. Campos (1997, p. 66) afirma que o primeiro nome dessa instituição foi "Grupo Escolar de Catalão, posteriormente Grupo Escolar Dez de Novembro, mais tarde Grupo Escolar Vinte e Nove de Outubro, e finalmente Grupo Escolar Rita Paranhos Bretas".

A trajetória dessa primeira instituição de ensino graduado do município demarca que o poder público não edificou um prédio próprio para sua instalação. Nesse sentido, Campos (1997, p.66) informa que "o grupo funcionou no prédio, onde hoje se localiza a Avenida XX de Agosto (principal avenida da cidade), naquela época, a mesma se chamava Rua das Flores". Ainda quanto ao local de instalação, Vaz (2009, p. 428) assinala: "em 1948, o decreto estadual número 693, denomina de Grupo Escolar vinte e Nove de Outubro, o Grupo Escolar de Catalão, anteriormente denominado de Grupo Escolar Dez de Novembro". Afirma, também, que neste mesmo ano, este grupo passou a funcionar em um novo endereço, em um pequeno prédio, ainda na Avenida XX de Agosto, no qual anos mais tarde funcionaria o extinto Colégio Anchieta.

Segundo Coelho Vaz "O Decreto Estadual número 694 do ano de 1948, autorizou a instalação do Grupo Escolar Joaquim de Araújo e Silva, na cidade de Catalão". (VAZ, 2009, p.412) Este passou a ser o segundo Grupo Escolar instalado nesse município.

O nome deste Grupo homenageia o ilustre cidadão de origem portuguesa, Joaquim de Araújo e Silva, que de acordo com a documentação (histórico a escola), viveu na cidade de Catalão em meados de 1890, juntamente com sua esposa Maria Benvinda D' Araújo e seus 8 filhos.

Joaquim de Araújo e Silva, de acordo com informações de familiares (sobrinhos e netos), era uma pessoa honesta, de espírito inovador e com posses financeiras que lhe permitia visitas frequentes a cidade de São Paulo, de onde trazia informações importantes sobre o que havia de novo nos setores industrial, agrícola e financeiro da época. Isto lhe possibilitou ser o fundador do primeiro curtume da região, como também da primeira maquina de beneficiar arroz do estado de Goiás.

A criação de novos grupos escolares em Catalão, assim como a história de seu primeiro grupo escolar vincula-se a um programa nacional implantado no Governo JK. Entre

1955 a 1958, no governo de Juscelino Kubitschek de Oliveira, foi criado o "Plano Nacional de Erradicação do Analfabetismo". Trata-se de um programa de combate ao analfabetismo, o qual determinou a escolha de algumas cidades em cada uma das cinco regiões brasileiras para a instalação e treinamento de novos métodos a serem adotados na aprendizagem. Nesta época, o então prefeito da cidade de Catalão, Antônio Miguel Jorge Chaud, juntamente com o deputado Wagner Estelita Campos uniram suas atividades e interesses, conseguindo inserir o município dentre as cidades brasileiras selecionadas.

Quanto a esse episódio Campos (1997, p.70) descreve: "estes dois catalanos, Chaud e Estelita, conseguiram que Catalão fosse uma das cidades escolhidas na Região Centro-Oeste, para que fosse aplicado em caráter experimental o novo Pano Nacional de Erradicação do Analfabetismo". Por isso foram construídos em Catalão, em menos de um ano, os prédios onde funcionariam os Grupos Escolares: Wilson Democh, David Persicano, Dona Yayá, Rita Paranhos Bretas e a Escola Complementar de Artes Industriais, mais tarde transformada no Centro de Formação de Professores Primários, prédios estes construídos com verbas e orientações federais. Este último funcionou onde hoje se situa o Câmpus Catalão da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Assim, em 1958, o Grupo Escolar Vinte e Nove de Outubro, passou a se chamar "Grupo Escolar Rita Paranhos Bretas", funcionando a partir de 1960 em um prédio próprio situado próximo a cadeia. Sua planta foi feita pelo Dr. Wilson Barbosa Lima, então chefe da Campanha Nacional de Alimentação Escolar.

O nome Grupo Escolar Rita Paranhos Bretas, segundo Campos, advém de homenagem a uma senhora "descendente da tradicional família Paranhos, casada com o Dr. Enéias Tolentino Bretas". Acrescenta, ainda, que a homenageada "por mais de trinta anos [...] foi uma dedicada e eficiente porteira deste estabelecimento de ensino, pois muito moça ficou viúva, com quatro filhos menores, dedicando-se ao trabalho para sustentá-los".

O Grupo Escolar Rita Paranhos Bretas funcionou como Grupo até o ano de 1972, quando passou a ser denominado Colégio Estadual Rita Paranhos Bretas. Durante o período em que funcionou como Grupo Escolar vários diretores, professores, inspetores, secretários, serventes passaram por esta instituição de ensino. Nas leituras que fizemos de autores locais que contam a história da cidade de Catalão, nos documentos (atas, livros de ponto, livros de matrículas, livros de pagamentos, livros de visitas dos inspetores, livros de protocolos, arquivos, memorial e histórico da escola) deste Grupo Escolar encontramos os nomes e as datas em que vários destes funcionários exerceram suas funções neste estabelecimento.

Dentre os diretores, segundo o histórico da instituição de ensino (presente também no livro de Campos) a primeira diretora foi Dona Pautília, mas não há registro de seu sobrenome nas documentações. O segundo diretor deste Grupo Escolar foi Galeno Paranhos, que exerceu a função de 1923/1930. Ele também foi inspetor de ensino no município de Catalão no ano de 1926. Em um dos relatos feitos numa das atas que fazem parte da documentação do Grupo Escolar de Catalão, relato este, escrito e assinado pela porteira deste estabelecimento, Rita Paranhos Bretas (a qual exerceu durante um longo tempo a função de registrar em ata as reuniões importantes), está descrito o seguinte:

> Diretor efetivo, Galeno Paranhos, nomeado diretor do Grupo Escolar de Catalão por meio do decreto de 25 de Julho de 1923, prestou compromisso legal na Secretaria do Interior e Justiça em 26 de Junho de 1923 e entrou em exercício do cargo em 5 de Julho do mesmo ano. Exerceu o mesmo até o ano de 1926, quando foi designado (devido a motivos de saúde) para exercer a função de Inspetor Escolar por meio do Decreto 9.165, de 22 de Novembro de 19226. Cargo este que executou interinamente, voltando a assumir posteriormente a direção do Grupo escolar de Catalão até 23 de Julho de 1930. (Catalão, 10 de Setembro de 1930. A porteira, Rita Paranhos Bretas).

De acordo com Cornélio Ramos, memorialista catalano, no livro *Catalão: poesias, lendas e histórias*:

> foi ainda no governo de Juscelino (JK), no ano de 1958, através da Campanha Nacional de Erradicação do Analfabetismo, que obtivemos a construção de cinco novos estabelecimentos de ensino em Catalão: os Grupos Escolares Rita Paranhos Bretas, Dona Yayá, Wilson Democh, João Roberto Moreira (posteriormente chamado de David Persicano) e o Centro de Formação de Professores Primárias, que mais tarde foi transformado no Câmpus Catalão da Universidade Federal de Goiás (UFG). (RAMOS, 1997, p.19)

O Grupo Escolar Dona Yayá recebeu este nome em homenagem à senhora Rosentina de Sant'Anna e Silva (mais conhecida como dona Yayá), uma das pioneiras da educação em Catalão. O Grupo Escolar Dona Yayá iniciou suas atividades no dia 24 de maio de 1959, situando-se à Rua Estelita Campos (atual Avenida São João), número 311, Bairro São João em Catalão. A primeira diretora foi a professora Marlene Aires Campos, que permaneceu no cargo até o ano de 1963, quando passou a direção para a professora Ermelinda Matias que administrou as atividades deste Grupo Escolar até o ano de 1968.

O prédio do Grupo Escolar Dona Yayá, foi edificado em um terreno doado pela Prefeitura Municipal de Catalão, na administração do senhor prefeito Ozark Vieira Leite, conforme atesta o documento de doação.

> Certificado de requerimento verbal da parte interessada, que requerendo em cartório a meu cargo, no livro de escrituras n° 100, nele as folhas de 89 à 91, contem o seguinte teor: Escritura pública de doação que faz a prefeitura municipal de Catalão, a Campanha Nacional de Erradicação do Analfabetismo. Saibam quantos virem esta pública escritura de doação, que aos seis (6) dias do mês de setembro do ano de mil novecentos e sessenta e um (1961), nesta cidade de Catalão, Estado de Goiás, em cartório, perante mim tabelião do Segundo Ofício, compareceram partes entre si justas

> e contratadas a saber: De um lado como outorgante doadora, a prefeitura municipal de Catalão, representada pelo prefeito municipal Sr. Ozark Vieira Leite, brasileiro, casado, domiciliado e residente nesta cidade, que esta devidamente autorizado pela lei municipal n° 25 de 05 de setembro de 1961. E de outro lado como outorgada donatária, a Campanha Nacional de Erradicação do Analfabetismo, representada pelo Sr. João Roberto Moreira, coordenador da campanha, e este ato representado por sua procuradora bastante, professora Elina de Campos, diretora do Centro Regional de erradicação do analfabetismo com sede em Goiânia. (Catalão, 06 de setembro de 1961. Carlos José Goulart, tabelião do cartório Mauro Ribeiro Sampaio).

Também no final da década de 1958, em parceria com Governo Federal o estado e município, iniciaram-se as obras da construção do Grupo Escolar inicialmente batizado de Wilsom Barbosa de Lima. O local escolhido para a construção foi feito de forma estratégica, com o intuito de levar educação escolar a lugares mais afastados do centro da cidade, para que assim mais crianças tivessem acesso à rede escolar. A autorização de funcionamento deste estabelecimento de ensino foi reconhecida em 21 de setembro de 1963, pela portaria nº 5760 da Secretaria Estadual de Educação, mas suas atividades só foram iniciadas em 1964. O referido Grupo ficou localizado à Rua Tamoios, nº172, no Bairro Nossa Senhora de Fátima.

Após alguns anos de funcionamento, em decorrência de uma lei que proíbe nomes de pessoas vivas em prédios públicos, o mesmo teve que mudar de nome e passou a ser denominado Grupo Escolar Wilsom Elias Jorge Democh. O primeiro nome deste Grupo Escolar – Wilsom Barbosa Lima –, foi escolhido em homenagem a um de seus idealizadores, que à época de sua construção foi convidado a atuar frente da CNEA (Campanha Nacional de Erradicação do Analfabetismo) em Catalão, abraçando então a causa da campanha.

À frente da CNEA, o Sr. Wilsom Barbosa de Lima participou da projeção e construção deste Grupo Escolar e ainda de outros como: O Grupo Escolar Rita Paranhos Bretas, o David Persicano, o Dona Yayá, assim também como de algumas escolas rurais. Atuou por vários anos como Inspetor Regional na 14º Delegacia Regional de Ensino (hoje Subsecretaria Regional de Educação) e chefe de setor da CNAE (Campanha Nacional de Alimentação Escolar). O Sr. Wilsom Barbosa de Lima foi uma pessoa influente de grande prestígio em Catalão e cidades vizinhas.

Já o nome definitivo deste Grupo Escolar (Wilsom Elias Jorge Democh), foi dado em homenagem a um ilustre escritor, nascido em Catalão aos 4 de dezembro e 1926. As dificuldades de infância pobre não o impediu de estudar. Aprendeu as primeiras letras com a professora Rosentina de Sant'Anna e Silva (Dona Yayá). Fez o curso ginasial no Colégio Dom Bosco em Goiânia, posteriormente, em Belo Horizonte, concluiu o curso técnico de contabilidade.

Regressando a sua terra natal trabalhou pela fundação da Escola SENAC de Catalão, onde foi professor. A paixão pela escrita fez de Wilsom Elias Jorge Democh um atuante jornalista e colaborador de vários jornais de Goiás, Minas Gerais e do Rio de Janeiro. Tornou-se membro da Associação Goiana de Imprensa.

Desde o início de suas atividades este Grupo Escolar sempre funcionou nos períodos matutino e vespertino oferecendo o ensino de 1º à 4º séries. Em janeiro de 1978, através da lei n° 4808, esse Grupo passou se chamar Escola Estadual Wilsom Elias Jorge Democh.

No dia 24 de março de 1959 foi inaugurado o grupo Escolar Dr. João Roberto Moreira, posteriormente Grupo Escolar Dr. David Persicano. Foi Construído na Avenida José Marcelino, n° 228, no Bairro Nossa Senhora de Fátima, Catalão. O primeiro nome deste Grupo foi dado em homenagem a um grande educador que fez parte do Ministério da Educação, o qual foi responsável por sua edificação. João Roberto Moreira coordenou a Campanha Nacional de Erradicação do Analfabetismo (CNEA).

A primeira diretora do Grupo Escolar Dr. João Roberto Moreira foi professora Yolanda Fonseca e a primeira secretária Astéria de Mendonça Vaz. Em 1972 aparece o primeiro registro em ata com o novo nome da instituição Grupo Escolar Dr. David Persicano. A mudança se deu em função da lei que não permite que se coloque o nome de pessoas vivas em instituições públicas. Então no ano de 1971 veio de Goiânia o nome do Grupo, já oficialmente transferido para “Grupo Escolar Dr. David Persicano”.

Dr. David Persicano nasceu em Amparo, no Estado de São Paulo. Diplomou-se em medicina e por 40 anos clinicou no estado de Goiás, destes 35 anos em Catalão. Durante sua vida escreveu vários livros e deixou livros de poesia inéditos. Como escritor é patrono da cadeira nº 3 da Academia Catalana de Letras.

Em 1978, o Grupo Escolar Dr. David Persicano, por meio da Lei nº 8.408 de 19 de janeiro, passou a se chamar Colégio Estadual Dr. David Persicano, mantido pelo poder público estadual administrado pela Secretária Estadual de Educação.

Em suma, esses foram os primeiros grupos escolares instalados em Catalão. Seguindo a lógica da política educacional goiana.

Conclusões

Os Grupos Escolares não corresponderam às expectativas e nem promoveram alterações significativas na realidade escolar de Goiás, visto que sua expansão foi lenta e pouco significativa. O governo estadual quase não investiu na construção de prédios escolares

que abrigassem essa instituição símbolo da escola graduada brasileira. Como pode-se perceber pela trajetória dos grupos escolares catalanos a princípio não havia um espaço próprio para os mesmos.

Assim, diferentemente de algumas cidades brasileiras, em outros estados, que construíram belos e modernos prédios para abrigarem seus Grupos Escolares, em Goiás os prédios eram adaptados, primando pela improvisação.

Referências

BRETAS, Genesco Ferreira. **História da instrução pública em Goiás**. Goiânia: CEGRAF/UFG, 1991.

CAMPOS, Maria das Dores. **Gente Nossa**. Goiânia: CERNE, 1985.

CAMPOS, Maria das Dores. **Catalão, Estudo Histórico e Geográfico**. Goiânia: Editora Bandeirantes, 1979.

CHAUD, Antônio M. J. **Memorial de Catalão**. Goiânia: Editora do Autor, 2000.

MARTINS, João Teixeira. **Agora...Pensar**. Catalão: Editora Modelo, 1998.

PINTO, Rubia-Mar Nunes. Escola Primária em Goiás na Primeira República: tensões e distensões de um jogo de empurra. In: Rosa Fátima de Souza (org) Araraquara: Junqueira & Marin, 2012.

RAMOS, Cornélio. **Catalão: poesias, lendas e histórias**. Catalão: Editora Modelo, 1997.

SOUZA, Rosa Fátima de e FARIA FILHO, Luciano M. de. A contribuição dos estudos sobre grupos escolares para a renovação da história do ensino primário no Brasil. In: VIDAL, Diana Gonçalves. (org.) **Grupos Escolares: Cultura Escolar Primária e Escolarização da Infância no Brasil (1893-1971)**. Campinas-SP: Mercado de Letras, 2006.

VAZ, Geraldo Coelho. **Vultos Catalanos**. 3º edição. Goiânia: Kelps, 2009.

VIDAL, Diana Gonçalves. **Grupos Escolares: Cultura Escolar Primária e Escolarização da Infância no Brasil(1893-1971)**. Campinas-SP: Mercado de Letras, 2006.

APLICAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS PRODUZIDOS A PARTIR DE PROTEÍNA DE SORO DE LEITE IRRADIADA COMO EMBALAGEM PARA ALIMENTOS

Juliana Braga COSTA[1] Celso José de MOURA[2]; Adriana Régia Marques de SOUZA[3]; Ana Paula Stort FERNANDES[4].

[1] Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (EAEA/UFG): juliana_braco@hotmail.com; [2] EAEA/UFG: celsojose@gmail.com; [3] EAEA/UFG: drilavras@yahoo.com.br; [4] EAEA/UFG: ana.stort@gmail.com.

RESUMO

Filmes proteicos de soro de leite apresentam um grande potencial para aplicação como embalagem, evidenciando as características de permeabilidade ao vapor d'água e gases e as propriedades mecânicas. Alguns processos como a aplicação de radiação gama ou variação do pH da solução filmogênica podem afetar as propriedades físicas, mecânicas e a cor dos filmes produzidos a partir da proteína de soro de leite. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da aplicação de filmes biodegradáveis de proteína de soro de leite irradiado como embalagem. A aplicação de filmes elaborados com proteína de soro de leite irradiada não apresentam ser uma boa barreira a perda de umidade quando submetidos à temperatura de 25°C e umidade relativa de 55%, mas são uma ótima alternativa para preservar a cor, evitando o escurecimento das maçãs.

Palavras-Chave: filmes biodegradáveis; embalagem; proteína; radiação.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem surgido um interesse no desenvolvimento de filmes biodegradáveis, em substituição ao uso de polímeros sintéticos, devido à sua ampla utilização na conservação da qualidade dos alimentos e ao problema ambiental gerado. Os filmes biodegradáveis podem aplicados diretamente na superfície de alimentos ou como filmes possuindo estrutura própria e independente. Na conservação de alimentos agem como uma barreira a elementos externos, como sujidades, gases e umidade, compostos aromáticos, controlando a transferência de massa (umidade, oxigênio, dióxido de carbono, lipídio),

*Revisado pelo orientador

servindo de veículos para aditivos, protegendo o alimento e aumentando sua vida de prateleira (PRATES, 2010; HERSHKO; NUSSINOVITCH, 1998).

Para a produção de filmes biodegradáveis basicamente necessita-se de um solvente, um plastificante e um agente formador de filme. Dentre os agentes formadores de filme, um comumente utilizado, é a proteína do soro de leite que, quando processada apropriadamente, representam uma boa alternativa de matéria prima, pois produzem filmes flexíveis, transparentes e sem odores (SILVA, 2011; SOARES, 2012). O soro de leite, um subproduto da indústria de laticínios, representa a porção aquosa do leite separada do coágulo durante a produção de queijo. Suas proteínas possuem propriedades funcionais relevantes, tais como, a gelatinização, emulsificação, solubilidade, formação de espuma, viscosidade, além do valor nutricional, sendo uma excelente fonte de aminoácidos essenciais (PAGNO et al, 2009; GENNADIOS et al., 1994).

Filmes proteicos de soro de leite apresentam um grande potencial para aplicação como embalagem, evidenciando as características de permeabilidade ao vapor d'água e gases e as propriedades mecânicas. Os filmes proteicos podem ser utilizados como um complemento à embalagem sintética, prolongando a vida-de-prateleira garantindo maior qualidade do produto final, além de apresentar um potencial econômico, pois sua matéria-prima é de baixo custo (YOSHIDA E ANTUNES, 2009).

Sabe-se que os materiais poliméricos estão sujeitos à ação de diversos agentes que provocam alterações em sua estrutura. Alguns processos como a aplicação de radiação gama ou variação do pH da solução filmogênica podem afetar as propriedades físicas, mecânicas e a cor dos filmes produzidos a partir da proteína de soro de leite. Estudos mostram que o emprego da irradiação é um método efetivo no aperfeiçoamento da coesão e reticulação de filmes proteicos diminuindo a permeabilidade a vapor d'água (SOARES, 2012; BRAULT et al, 1997; MEZGHENI et al 1998; LACROIX, 1998).

Desta maneira, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da aplicação de filmes biodegradáveis de proteína de soro de leite irradiado como embalagem.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – Materiais

Os filmes foram produzidos nos laboratório do Setor de Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás – UFG, a partir da proteína do soro de leite em pó, doada pela empresa *Arla Foods Ingredients S.A*.

2.2 – Irradiação do soro de leite

A proteína de soro de leite foi irradiada nas doses de 0 (controle) e 50 kGy em um irradiador Gamacell com fonte de ^{60}Co, no Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN) na cidade de São Paulo – SP.

2.3 - Elaboração dos filmes

Os filmes foram produzidos pelo método de *Casting*, de acordo com Soares (2012). A solução filmogênicas foi produzida contendo 5% de proteína, 3,75% de glicerol e 91,25% de água, realizando a completa solubilização da proteína na água para posterior adição do glicerol. Em seguida a solução era aquecida em banho-maria (Marconi – MA 039, Piracicaba, Brasil) à 90°C por 30 mim sob agitação moderada, e resfriadas em banho de gelo ate temperatura ambiente. Posteriormente alíquotas de 65g da solução filmogênica eram dispersas em placas de vidro (22 x 22 cm) encapadas com plástico adesivo. A solução foi seca em estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal – TE 394/3, Piracicaba, Brasil) a 40°C por 18 horas.

2.4- Aplicação do filme

Maçãs argentinas foram lavadas e higienizadas, cortadas na forma sob o eixo principal e secundário gerando 4 partes de dimensões de 4,0 cm de diâmetro e 1,5 cm de espessura aproximadamente. Os sistemas de embalagem estudados foram compostos por potes plásticos de polipropileno de 8 cm de diâmetro, contendo um pedaço de maçã, fechados com filmes proteicos de soro de leite com e sem tratamento da irradiação. Após o corte, as maçãs foram imediatamente colocadas nos potes plásticos, que foram fechados com os filmes proteicos de soro de leite irradiados e sem irradiação, utilizando-se cola de silicone, de acordo com Yoshida e Antunes (2009). As embalagens foram armazenadas na temperatura de 25°C e 55% de umidade relativa em incubadoras BOD (TECNAL, Mod. TE-390).

2.5 – Análises dos filmes e das maçãs

Avaliação da cor

A cor final dos filmes e das maçãs foi medida em colorímetro (Colorquest II, Hunter Associates Laboratory Inc, Virginia). Para os filmes verificaram-se os valores do índice de luminosidade L*, índices de croma a* e b*, croma C* e ângulo Hue h*, e opacidade. A

opacidade foi determinada através da opacidade do material colocado sob um padrão preto (Yb) e a opacidade do material colocado sob um padrão branco (Yw).

Para as maças foram determinados os valores do índice de luminosidade L*, índices de croma a* e b*, croma C* e ângulo Hue h*,

Teor de umidade

O teor de umidade dos filmes, assim como o das maçãs, foi determinado em estufa (Olidef cz – EES1B, Ribeirão Preto, Brasil) à temperatura de 110°C por 24 horas segundo a metodologia descrita pelo AOAC (2000).

Solubilidade proteica

A analise de solubilidade proteica foi realizada somente para os filmes. Uma quantidade de filme conhecida, inicialmente seca por 24 horas à temperatura de 105°C para determinação da matéria seca inicial, foram submersas em 50 mL de água destilada agitadas lentamente por 24 horas em um homogeneizador de soluções. A solução final foi filtrada e a quantidade de proteína solubilizada foi determinada pelo método de *Kjeldhal* (AOAC, 1996).

2.6 – Análise estatística

Foi empregado o pacote Statistica 7.0 (STATSOF, 2004) para obtenção das médias, desvio padrão, coeficiente de variação e a análise de variância (ANOVA), seguido de teste de *Tukey* ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aplicação dos filmes como embalagem

Na avaliação dos filmes como embalagem foram analisadas a perda de massa, a cor das maças e a umidade no decorrer de 9 dias. A Figura 1 representa a perda de massa das maças acondicionadas no sistema de embalagem estudado composto por potes plásticos de polipropileno, contendo um pedaço de maçã, fechados com filmes proteicos de soro de leite com e sem tratamento da irradiação.

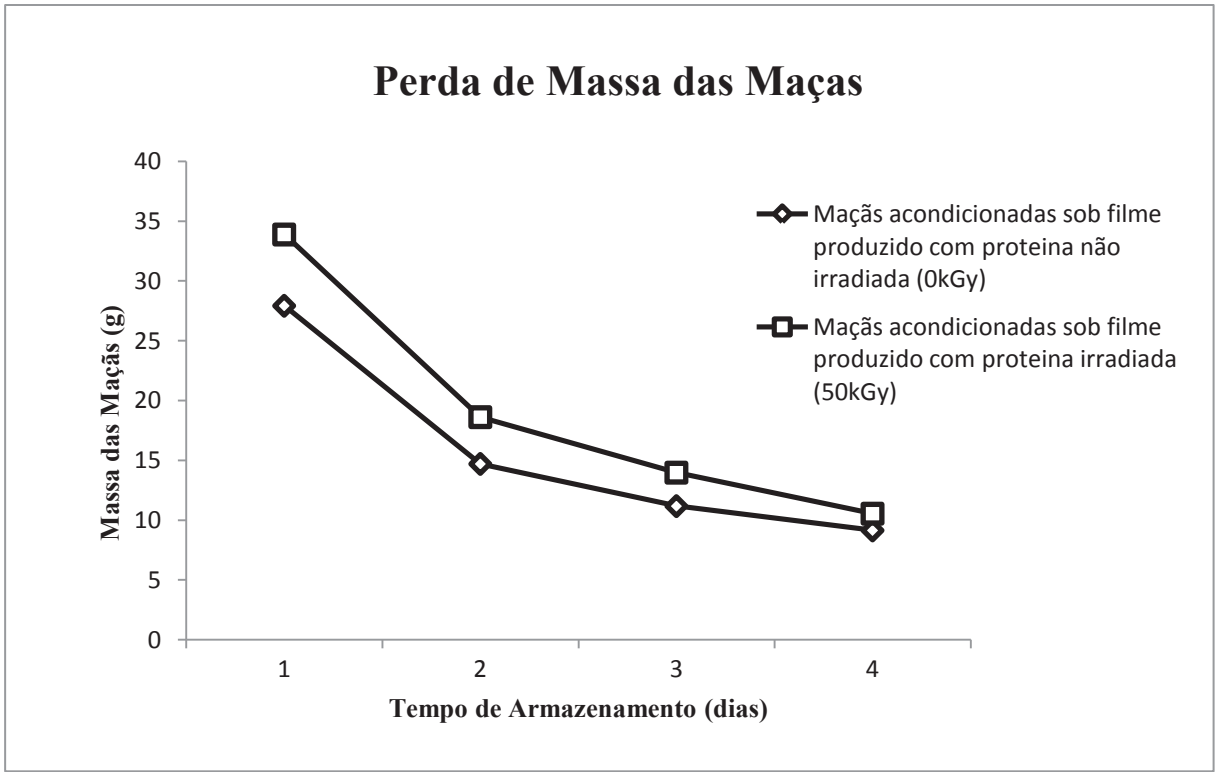


Figura 1: Perda de massa das maças acondicionadas sob filmes produzidos a partir de proteína de soro de leite com (50kGy) e sem tratamento de irradiação (0kGy) ao decorrer do tempo de armazenamento.

De acordo com a Figura 1 a perda de água aumentou gradualmente com o passar do tempo resultando numa perda total maior que 65% de forma similar para os dois tratamentos. O mecanismo de barreira para o fluxo de gases e vapor através do filme é a difusão molecular e tal fator é influenciado pela temperatura e pela atividade de água (Aw) do filme (MALI, 2010). Como a temperatura de armazenamento foi um parâmetro que não sofreu variação, a umidade e hidrofilicidade dos filmes foi o que influenciou na perda de água das maças. A

perda de umidade final das maçãs (Tabela 1) após o tempo de armazenamento confirmou os resultados das curvas de perda de massa.

Tabela 1: Umidade das maçãs acondicionadas sob filmes sem tratamento (0kGy) e filmes tratados por irradiação (50kGy) ao decorrer do tempo de armazenamento.

	Umidade (%)			
Dose	**0 dia**	**3 dias**	**6 dias**	**9 dias**
0 kgy	84,60±0,59 ^{a*A**}	62,31±1,05^{aB}	39,35±0,85^{aC}	35,6±0,65^{aD}
50 kgy	84,94±0,55^{aA}	56,46±0,98^{bB}	47,83±0,62^{bC}	42,87±1,26^{bD}

*letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as doses de irradiação do mesmo dia. **letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre os dias para a mesma dose.

O tempo de armazenamento evidenciou diferenças significativas ($p>0,05$) entre a umidade das maçãs recobertas pelo filme tratado por irradiação e sem tratamento. A perda de água da maçã também está relacionada com a baixa umidade relativa (55%) sob a qual o sistema foi submetido.

A cor das maçãs é facilmente afetada por escurecimento enzimático provocado pela ação da enzima polifenoloxidase, que age somente na presença de oxigênio, oxidando compostos fenólicos. Os filmes biodegradáveis tendem a formar barreira aos gases e impedir a ação desta enzima. A Tabela 2 apresenta os resultados de cor obtidos para a parte da polpa das maçãs acondicionadas em potes de polipropileno fechadas com o filme gerado a partir de concentrado proteico com e sem tratamento de irradiação no decorrer dos 9 dias.

O índice de luminosidade das maçãs diminuiu com o passar dos dias diferindo de forma significativa ($p>0,05$) para os filmes obtidos de proteínas com e sem aplicação de radiação. O valor de croma a* e croma b*, croma *C e ângulo hue h* sofreu um aumento significativo ($p>0,05$) com o decorrer do tempo sendo que este parâmetro está relacionado com o escurecimento enzimático que ocorre em maçãs. Yoshida e Antunes (2009) obtiveram resultados semelhantes para luminosidade e valores de croma a* e concluíram que as embalagens proteicas atuaram com uma barreira moderada ao oxigênio e é uma alternativa para retardar o escurecimento enzimático em maçãs já que o escurecimento de das maçãs ocorreu de forma mais acentuadas sem a barreira feita com o filme.

Tabela 2: Cor das maças das maças acondicionadas sob filmes sem tratamento (0kGy) e filmes tratados por irradiação (50kGy) e ao decorrer do tempo de armazenamento.

Parâmetro		Filme			
	Dose	0 dia	3 dias	6 dias	9 dias
L*	0 kGy	87,33±0,06^{a*A**}	84,94±0,05^{aB}	69,94±0,01^{aB}	64,91±0,05^{aB}
	50 kGy	87,39±0,03^{aA}	86,42±0,02^{bB}	77,42±0,06^{bB}	72,79±0,02^{bC}
a*	0 kGy	0,65±0,09^{aA}	1,29± 0,03^{aB}	7,11±0,07 ^{aC}	8,75±0,05^{aD}
	50 kGy	0,63±0,14^{aA}	1,27±0,01^{aB}	5,04±0,14 ^{bC}	5,93±0,05^{bC}
b*	0 kGy	5,09±0,02^{aA}	11,36±0,10 ^{aB}	21,53±0,08^{aC}	24,54±0,04^{aD}
	50 kGy	5,16±0,03^{aA}	11,33±0,07 ^{aB}	22,33±0,10^{aC}	24,17±0,02^{aD}
C*	0 kGy	5,13±0,05^{aA}	11,43±0,05^{aB}	22,67±0,11^{aC}	26,05±0,04^{aD}
	50 kGy	5,19±0,11^{aA}	11,40±0,08^{aB}	22,89±0,07^{aC}	24,88±0,03^{bD}
h*	0 kGy	82,72±0,09^{aA}	83,52±0,03^{aA}	71,72±0,6^{aB}	70,37±0,05^{aB}
	50 kGy	83,03±0,06^{aA}	83,60±0,09^{aA}	77,28±0,8^{bB}	76,21±0,02^{bB}

*letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as doses de irradiação do mesmo dia. **letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre os dias para a mesma dose.

Os valores de croma a*, croma *C e ângulo h* das maças acondicionadas sob os filmes produzidos com a proteína sem tratamento (0 kGy) e a tratada por irradiação (50 kGy) apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) somente a partir do sexto dia. O valor de hue variando de 83,60 ate 70,37 mostra que as maças perderam a coloração amarelada característica da polpa com o passar do tempo, mas para as maças acondicionadas sob o filme tratado por irradiação esse perda de coloração foi menor.

Avaliação da cor dos filmes

As características óticas de filmes são relevantes para os recobrimentos devido às modificações que podem ocorrer na aparência dos produtos revestidos (CORREA, 2011). O aspecto visual (Tabela 3) está relacionado com a cor e transparência final dos filmes proteicos e foi avaliado pela variação de cor e opacidade entre os filmes produzidos com concentrados proteicos submetidos a diferentes doses de radiação ao decorrer dos dias de aplicação.

Os filmes produzidos apresentaram-se translúcidos com coloração amarelada. Ao analisar o índice de luminosidades é possível observar que todos os filmes apresentaram valores elevados de luminosidade ($L>85,01$) que indica coloração clara e é possível também perceber um decréscimo nos valores de L* com o passar dos dias. Os valores de croma (a*) próximos de zero mostram que os filmes não têm tendências às cores verde e vermelha. Com

os passar dos dias houve um aumento dos valores de croma b*, de croma C* explicado pelo envelhecimento do filme e pela reação de Mailard promovida pela irradiação da proteína.

Tabela 3: Cor dos e filmes sem tratamento (0kGy) e filmes tratados por irradiação (50kGy) ao decorrer do tempo de armazenamento.

Parâmetro	Dose	Filme 0 dia	3 dias	6 dias	9 dias
L*	0 kGy	88,95±0,33^{a*A**}	88,82± 0,2^{aA}	86,27±0,37^{aB}	85,01±0,70^{aB}
	50 kGy	88,72±0,70^{aA}	88,53±0,12^{bA}	87,76±0,60^{bB}	85,41±0,20^{aC}
a*	0 kGy	-0,031±0,03^{aA}	-0,110± 0,01^{aA}	-0,33±0,27^{aA}	-0,39±0,09 ^{aA}
	50 kGy	-0,027±0,18^{aA}	-0,116±0,02^{aA}	-0,20±0,11^{bA}	-0,78±0,05^{bB}
b*	0 kGy	10,56±0,49^{aA}	10,02±0,10^{aA}	14,93±0,18^{aB}	19,63±1,44^{aC}
	50 kGy	10,62±0,24^{aA}	10,65±0,17^{bA}	14,95±0,10^{aB}	20,79±0,52^{aC}
C*	0 kGy	10.55±0,26^{aA}	10,01±0,05^{aA}	14,93±0,22^{aB}	19,63±0,76^{aC}
	50 kGy	10,61±0,21^{aA}	10,65±0,09^{aA}	14,95±0,11^{aB}	20,79±0,28^{aC}
h*	0 kGy	89,83±0,23^{aA}	89,37±0,08^{aA}	88,73±0,17^{aB}	87,86±0,52^{aB}
	50 kGy	89,85±0,25^{aA}	89,38±0,13^{aA}	89,23±0,14^{bA}	88,95±0,64^{bB}
Opacidade (Y)	0 kGy	18,09±0,23^{aA}	18,15±0,39^{aA}	18,69±0,06^{aB}	19,07±0,42^{aB}
	50 kGy	18,16±0,08^{aA}	18,30±0,57^{aA}	18,54±0,18^{aA}	18,35±0,20^{bA}

*letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as doses de irradiação do mesmo dia. **letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (p<0,05) entre os dias para a mesma dose.

Em relação à aplicação da irradiação na proteína utilizada para a formação do filme, os filmes formados apresentaram diferenças significativas (p>0,05) em relação aos valores do ângulo hue (h*) onde o filme produzido com a proteína tratada por irradiação (50kGy) apresentou maior intensidade da cor amarela. Tal resultado é semelhante do encontrado por SOARES (2012) que observou que diferentes doses de radiação aplicadas aos filmes já formados influenciavam na cor final dos filmes, sendo essas intensificadas com o aumento da dose aplicada.

Os filmes apresentaram opacidade significativamente (p>0,05) diferente entre as doses apenas nos últimos dias de armazenamento, já que a irradiação afeta a proteína provocando a desnaturação da mesma, que é aumentada de acordo com o aumento da dose aplicada, onde o aumento da opacidade nos filmes produzidos com a proteína irradiada (50kGy) deve-se a intensificação da cor amarelada que é resultado da reação de Maillard promovida pela irradiação. ZAVAREZE, et al (2012) em seu estudo com filmes

biodegradáveis produzidos à base de proteínas miofibrilares de pescado obteve valores de opacidade entre 12,0 e 13,5, onde a porcentagem de proteína utilizada para produzir os filmes afetava diretamente a opacidade. Segundo Sobral (2000) outro fator que afeta a opacidade dos filmes e a espessura por causa do aumento superficial da concentração de proteínas.

Solubilidade Proteica dos filmes

A solubilidade proteica dos filmes (Tabela 4) foi influencia de forma significativa ($p>0,05$) pela dose de radiação aplicada a proteína assim como pelo decorrer do tempo de aplicação, onde os filmes tratados pela irradiação apresentou maior solubilidade que diminuiu ao decorrer dos dias de aplicação.

Tabela 4: solubilidade em água dos filmes sem tratamento (0kGy) e filmes tratados por irradiação (50kGy) ao decorrer do tempo de armazenamento.

	Solubilidade em água (%)			
Dose	**0 dia**	**3 dias**	**6 dias**	**9 dias**
0 kgy	$29,63\pm 0,56^{a*A**}$	$27,06\pm 0,25^{aB}$	$25,36\pm0,38^{aC}$	$22,52\pm0,27^{aD}$
50 kgy	$37,56\pm 0,84^{bA}$	$34,71\pm 0,11^{bB}$	$29,68\pm0,41^{bC}$	$24,19\pm0,66^{bD}$

*letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as doses de irradiação do mesmo dia. **letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre os dias para a mesma dose.

A maioria dos filmes avaliados apresentara-se intactos, inteiros e maleáveis após o ensaio de solubilidade imersos em água por 24 horas sob agitação. A aplicação da radiação à proteína provocou a formação de uma matriz filmogênica com maior coesividade e favoreceu a formação de ligações dissulfídicas covalentes intermoleculares favorecendo também, a formação da rede proteica, que levaram à formação de um filme menos solúvel em água.

Outro fator que certamente afetou a solubilidade dos filmes é a relação do plastificante com a proteína. Rocha (2009) em seu estudo com filmes biodegradáveis de proteína de soja observou que existe uma interação entre a proteína é o glicerol que dificulta a solubilidade, onde quanto maior o teor de glicerol menor era a solubilidade da proteína em água.

Teor de umidade

A umidade dos filmes (Tabela 5) é um fator que varia facilmente e depende principalmente da umidade relativa aos quais esses são armazenados, é também um fator muito importante na aplicação como embalagem. Os filmes foram mantidos sob umidade relativa de 55%. Os valores para umidade estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5: Umidade dos filmes tratados por irradiação (50kGy) e filmes sem tratamento (0kGy) ao decorrer do tempo de armazenamento.

	Umidade (%)			
Dose	**0 dias**	**3 dias**	**6 dias**	**9 dias**
0 kgy	$30,24\pm0,58^{a*A**}$	$26,49\pm 0,35^{aB}$	$33,54\pm1,09^{aC}$	$32,99\pm 0,811^{aC}$
50 kgy	$29,71\pm0,45^{aA}$	$24,86 \pm0,62^{bB}$	$32,58\pm0,95^{bC}$	$30,52 \pm0,94^{bD}$

*letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as doses de irradiação do mesmo dia. **letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre os dias para a mesma dose.

A porcentagem de umidade dos filmes nas diferentes doses avaliadas inicialmente não possuíam diferenças significativas ($p>0,05$). Segundo Mali, et al (2010) na presença de água, o glicerol, devido à sua higroscopicidade, favorece a absorção de água Ao decorrer do tempo de aplicação dos filmes ouve uma significativa mudança na umidade nas duas doses avaliadas, onde tais variações podem ser explicadas pelo fato de o filme absorver umidade das maças e depois perde-la para o ambiente.

4. CONCLUSÃO

Os filmes produzidos apresentaram uma boa transparência com coloração amarelada onde a cor e a opacidade. Todos esses aspectos assim como a solubilidade protéica e a umidade dos filmes, foram influenciadas pela radiação aplicada à proteína utilizada na produção dos filmes. A umidade final das maçãs acondicionadas sob os filmes não tratados (0 kGy) e pelos tratados por irradiação (50 kGy) assim como a cor final apresentaram diferenças com o passar dos dias de armazenamento. A aplicação de filmes elaborados com proteína de soro de leite irradiada não apresentam ser uma boa barreira a perda de umidade quando submetidos à temperatura de 25°C e umidade relativa de 55%, mas são uma ótima alternativa para preservar a cor, evitando o escurecimento das maçãs.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of analysis**: Food composition, additives, natural contaminants. 16 ed. Maryland, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of analysis**: Food composition, additives, natural contaminants. 17 ed. Washington, 2000.

BRAULT, D.; D'APRANO, G; LACROIX, M. Formation of fi-ee-standing sterilized edible films from irradiated caseinates. / . ***Agrie. Food Chem.,*** v.45, p.2964-2969, 1996.

CORRÊA, S. J. P.**Utilização de filmes a base de pectina contendo extrato de própolis vermelha para recobrimento de sementes de girassol** / Aracaju: 2011. Dissertação (Mestre em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes (UNIT).

GENNADIOS, A.; McHUGH, T.H.; WELLER, C.L.; KROCHTA, J.M. Edible coatings and films based on proteins. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Ed.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Lancaster: Technomic Publ. Co., 1994. p.201-277.

HERSHKO, V.; NUSSINOVITCH, A. Physical properties of alginate-coated onion (*Allium cepa*) skin. **Food Hydrocolloids,** v. 12, n. 2, p. 195-202, 1998.

LACROIX, M, JOBIN, M.; MEZGHENI, E.; SROUR, M., BOILEAU, S. Polymerization of calcium caseinates solutions induced by gamma irradiation. **Radial Phys. Chem**., v.52, n.1-6, p.223-227, 1998.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA. F. **Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, jan./mar. 2010.

MEZGHENI, E.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Formation of sterilized edible films based on caseinates: Effects of calcium and plasticizers. / . ***Agria Food Chem,*** v.46, p.318-324, 1998.

PAGNO, C. H.; BALDASSO, C.; TESSARO. I. C.; FLORES, S. H.; JONG. E. V. **Obtenção de concentrados proteicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas.** Alim. Nutr., Araraquara v.20, n.2, p. 231-239, abr./jun. 2009.

PRATES. M. F. O. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis de amido de fruta-de-lobo e sorbitol e aplicação da cobertura em frutos de morango.** Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Goiás, UEG – 2010.

ROCHA, G. O. **Obtenção e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja**. Dissertação de Mestrado, Universidade Rural do Rio de Janeiro – 2009.

SILVA, E. M. Da. **Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de amido de pinhão.** Trabalho de Diplomação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul – UFRGS, 2011.

SOARES, D.B. **Influência do pH e da irradiação em filmes biodegradáveis de proteína do soro de leite.** Dissertação de Mestrado – Unversidade federal de Goiás - 2012.

SOBRAL, P. J. A. **Proteínas de origem animal na tecnologia de biofilmes**. 2000. 156p. Tese (Tese de Livre Docência) – Universidade de São Paulo. Pirassununga.

STATSOFT. STATISTICA for Windows – computer program manual. Tulsa: Statsoft Inc., 2004.

YOSHIDA, C. M. P.; ANTUNES, A. J. Aplicação de filmes protéicos à base de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.2, p. 420-430, 2009.

ZAVAREZE, E. R. HALAL, M. L. S. TELLES, C.A. PRENTICE-HERNANDEZ, C. **Filmes biodegradáveis à base de proteínas miofibrilares de pescado**. Braz. J. Food Technol., IV SSA, maio 2012, p. 53-57

COMPARAÇÃO DA ADEQUABILIDADE DAS AMOSTRAS DOS EXAMES CITOPATOLÓGICOS ANALISADOS PELOS LABORATÓRIOS CREDENCIADOS PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE E A UNIDADE DE MONITORAMENTO EXTERNO DA QUALIDADE

Juliana Cristina Magalhães[1]; Cinara Zago Silveira Ázara[2]; Rita Goreti Amaral[3]

[1]Aluna de PIBIC do curso de Farmácia/UFG; [2]Aluna de doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências da saúde; [3]Orientadora.

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás;

julianamagalhaesfarma@gmail.com, cinarazago@hotmail.com, ritagoreti26@gmail.com

RESUMO

Introdução: Embora o exame citopatológico seja o método mais difundido mundialmente para o rastreamento do câncer do colo do útero e de suas lesões precursoras, sua vulnerabilidade aos erros de coleta, de preparação da lâmina e a subjetividade na interpretação dos resultados podem comprometer sua sensibilidade e especificidade. **Objetivos:** Avaliar a concordância da adequabilidade da amostra e representação dos epitélios dos exames citopatológicos entre os laboratórios credenciados pelo Sistema Único de Saúde e a Unidade de Monitoramento Externo da Qualidade. **Métodos:** Foram analisados 25.141 exames citopatológicos selecionados no período de 2007 a 2011. Avaliou-se a magnitude da concordância utilizando o coeficiente Kappa. **Resultados:** A concordância da adequabilidade da amostra foi moderada (Kappa=0,30). Para a representação dos epitélios escamoso e glandular, a concordância foi considerada excelente, com o Kappa 0,90 e 0,96 respectivamente, e para o epitélio metaplásico foi considerada boa, com o Kappa 0,61. **Conclusão:** Os resultados desse estudo mostraram a importância do monitoramento externo da qualidade como ferramenta na implementação de estratégias de controle interno de qualidade e aprimoramento das preparações técnicas.

Palavras-chave: Câncer do colo do útero. Exames citopatológicos. Adequabilidade da amostra. Controle de qualidade.

Revisado pela orientadora: Profª Drª Rita Goreti Amaral.

INTRODUÇÃO

Embora o exame citopatológico seja o método mais difundido mundialmente para o rastreamento do câncer do colo do útero (CCU) e de suas lesões precursoras, sua vulnerabilidade aos erros de coleta, de preparação da lâmina e a subjetividade na interpretação dos resultados podem comprometer sua sensibilidade e especificidade (GILL, 2005).

A garantia da qualidade do serviço de citologia requer um sistema operacional orientado para o resultado e que envolva todos os aspectos desde a coleta até a análise do exame e elaboração do laudo, incluindo profissionais capacitados, procedimentos operacionais e controle da qualidade (WIENER et al., 2007).

Tendo em vista que o rastreamento do CCU é comprovadamente eficaz quando realizado pelo método de Papanicolaou (exame citopatológico) e que a qualidade das amostras cervicais, com representação do canal endocervical e da zona de transformação, influencia diretamente na eficácia do rastreamento, a necessidade de sua vigilância ocorre principalmente devido aos altos índices de resultados falso-negativos (SEBASTIÃO et al., 2004; FRANCO et al., 2006).

Os erros de coleta ocorrem quando não é obtido material da lesão; ou quando esse material não apresenta as células alteradas por não terem sido transferidas para a lâmina; ou quando as células estão prejudicadas por artefatos provenientes de fixação inadequada, obscurecidas por sangue ou outros elementos, impossibilitando a análise do esfregaço. Como consequência dessas não conformidades o esfregaço é classificado como negativo ou insatisfatório e, no entanto a mulher apresenta uma lesão (SILVA, 2002).

Numerosas estratégias foram elaboradas para diminuir o impacto e surgiram inúmeras propostas em todo o mundo, com o objetivo de diminuir os erros técnicos associados ao exame citopatológico e consequentemente melhorar sua sensibilidade (FERREIRA, 2004; PLESSIS, 2001).

No Brasil, o Programa Nacional de Controle do CCU estabeleceu normas e recomendações para a rotina de monitoramento interno (MIQ) e externo da qualidade (MEQ) com intuito de avaliar a qualidade dos resultados dos exames citopatológicos dos laboratórios que prestam serviços à rede pública de saúde através da unidade de monitoramento externo da qualidade (UMEQ) (laboratório de referência indicado pelo gestor municipal ou estadual). O MEQ tem como objetivo minimizar a variabilidade interlaboratorial e inter-observador, padronizar os critérios citomorfológicos, os critérios relacionados à adequabilidade das amostras cervicais e interpretação dos resultados, consequentemente reduzir as taxas de resultados falso negativo e falso-positivos (BRASIL, 2013).

Assim, é necessário avaliar a adequabilidade das amostras dos exames citopatológicos do colo do útero, tendo em vista a sua importância na detecção das lesões precursoras, visando identificar as principais causas que tornam essas amostras inadequadas para a realização do exame levando a resultados falso- negativos.

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo avaliar a concordância da adequabilidade da amostra e representação dos epitélios dos exames citopatológicos entre os laboratórios credenciados pelo Sistema Único de Saúde e a Unidade de Monitoramento Externo da Qualidade.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal realizado na Unidade de Monitoramento Externo da Qualidade da Universidade Federal de Goiás (UMEQ/UFG) em parceria com a Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia – GO no período de 2007 a 2011. Participaram deste estudo 12 laboratórios indicados pela Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia-GO para serem monitorados pela UMEQ/UFG.

O tamanho da amostra foi definido através do Sistema Nacional de Informação do Câncer do Colo do Útero (SISCOLO), o qual seleciona aleatoriamente no mínimo 10% dos exames citopatológicos realizados por cada laboratório/mês, de acordo com os critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2002; 2011), totalizando 25.141 exames citopatológicos.

As variáveis estudadas foram: adequabilidade da amostra (propriedade do esfregaço citopatológico que permite descrever suas características, avaliadas pelo escrutinador, de acordo com a presença de elementos celulares e fatores que podem prejudicar parcialmente ou totalmente a análise do esfregaço, classificadas em satisfatória, com fatores obscurecedores prejudicando parcialmente a análise ou insatisfatória para análise e a representação do epitélio (escamoso, metaplásico e glandular) (SOLOMON; NAYAR, 2005, BRASIL 2002).

Para a análise de dados foi utilizado o programa “SAS for Windows” (SAS, 2001). A concordância entre os exames realizados pelos laboratórios de origem e a UMEQ foi mensurada pelo coeficiente Kappa, com seus respectivos intervalos de confiança de 95%. O nível de concordância foi classificado da seguinte forma: menor que 0 - ausência de concordância; de 0 a 0,4- concordância pobre; de 0,4 a 0,6- concordância moderada; de 0,6 a 0,8- concordância boa; de 0,8 a 1,0- concordância excelente; igual a 1- concordância perfeita (LANDIS; KOCH, 1977).

RESULTADOS

Tabela 1: Comparação da adequabilidade da amostra e representação dos epitélios entre os laboratórios credenciados pelo Sistema Único de Saúde e a Unidade de Monitoramento Externo da Qualidade.

Laboratórios	Unidade de Monitoramento Externo da Qualidade			
	Satisfatória	Fatores Obscurecedores	Insatisfatória	Total
Satisfatória	**17.925**	4.285	263	22.473
Fatores Obscurecedores	150	**262**	85	497
Insatisfatória	27	49	**2.095**	2.171
Total	18.102	4.596	2.443	**25.141**
Kappa: 0,42 (0,40 - 0,60)				

Representação Epitelial	Células escamosas		
Células escamosas	**Não**	**Sim**	**Total**
Não	**2.097**	75	2.172
Sim	348	**22.621**	22.969
Total	2.445	22.696	**25.141**
Kappa: 0,90 (0,80 – 1,0)			
	Células glandulares		
Células glandulares	**Não**	**Sim**	**Total**
Não	**8.731**	269	9.000
Sim	222	**15.919**	16.141
Total	8.953	16.188	**25.141**
Kappa: 0,96 (0,80 – 1,0)			
	Células metaplásicas		
Células metaplásicas	**Não**	**Sim**	**Total**
Não	**15.763**	309	16.072
Sim	3.846	**5.223**	9.069
Total	19.609	5.532	**25.141**
Kappa: 0,61 (0,60 – 0,80)			

Dos 25.141 exames citopatológicos analisados, observou-se que 22.473 foram classificados pelos laboratórios como satisfatórios, 497 satisfatórios, mas apresentando fatores que comprometem a análise e 2.171 insatisfatórios. Após as revisões, a UMEQ/UFG classificou 17.925 satisfatórios, 262 satisfatórios, mas apresentando fatores que comprometem a análise e 2.095 insatisfatórios. A concordância da adequabilidade da amostra entre os laboratórios e a UMEQ/UFG foi moderada, com o Kappa 0,42 (Tabela 1).

Em relação à representação dos epitélios, os laboratórios identificaram 22.969 exames citopatológicos com presença de células escamosas, 16.141 com células glandulares e 9.069 com células metaplásicas. Após as revisões, a UMEQ/UFG classificou 22.621 exames citopatológicos com presença de células escamosas, 15.919 com células glandulares e 5.223 com células metaplásicas. A concordância foi excelente para a identificação dos epitélios escamoso e glandular, com o Kappa 0,90 e 0,96 respectivamente, e para o epitélio metaplásico, a concordância foi considerada boa, com o Kappa 0,61 (Tabela1).

DISCUSSÃO

Os resultados do estudo mostraram que a concordância da adequabilidade da amostra entre os laboratórios credenciados pelo SUS e a UMEQ/UFG foi moderada, sugerindo necessidade de uniformização dos critérios relacionados a coleta. Esses resultados são concordantes com o estudo de Ázara et al. (2013) em que a concordância da adequabilidade da amostra também foi moderada. Os erros de coleta ocorrem quando o esfregaço não apresenta células alteradas por não terem sido transferidas para a lâmina, ou quando sua análise está prejudicada por artefatos provenientes de fixação inadequada, obscurecidas por sangue, infiltrado leucocitário, material espesso, entre outros fatores. Devido a isso, a mulher poderá apresentar uma lesão, cujo resultado do exame citopatológico foi inicialmente classificado como negativo ou insatisfatório, o que causará prejuízos individuais e em um contexto maior de saúde pública (MILLER et al., 2000; SILVA, 2002).

Com o objetivo de diminuir estes problemas técnicos sugere-se a implementação de programas de educação continuada e atualização dos profissionais responsáveis pela coleta, melhorando assim a qualidade dos exames citopatológicos (MINTZER et al., 1999; AMARAL et al., 2006; VINCENT, 2007).

Em relação à representação epitelial, este estudo mostrou que a concordância foi excelente para os epitélios escamoso e glandular, e boa para o epitélio metaplásico. A ausência da representação da junção escamo-colunar geralmente é o fator limitante mais frequente encontrado nos esfregaços citopatológicos. Isso pode ser justificado por vários

fatores como, a não visualização da mesma, devido principalmente ao fato do colo ser atrófico como acontece em mulheres parcialmente histerectomizadas sem reposição hormonal, ou mesmo por deficiência na coleta (BRASIL, 2002).

A utilização do percentual de exames citopatológicos com representação de células endocervicais é sugerida como um dos indicadores para avaliação de qualidade pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Sistema Bethesda (SOLOMON; NAYAR, 2005; WHO, 1988). Isso se dá, pois o aparecimento de lesões pré-neoplásicas do colo do útero ocorre na maioria das vezes na região da junção escamo-colunar, sendo assim, a representação das células endocervicais e metaplásicas nos exames citopatológicos possibilitam o diagnóstico, e se diagnosticadas e tratadas precocemente podem reduzir a incidência do câncer do colo do útero (SHIRATA et al., 1998; ZEFERINO et al., 2000; SIEBERS et al.,2003; CARVALHO; CALLAÇO, 2007).

A qualidade das amostras cervicais, com representação do canal endocervical e da zona de transformação, influencia diretamente na qualidade do exame citopatológico, e a necessidade de sua vigilância ocorre principalmente devido aos alarmantes índices de resultados falso-negativos (FN) (MANDELBLATT et al, 2002; GUARISI et al, 2004; SEBASTIÃO et al, 2004; FRANCO, 2006).

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que a concordância da adequabilidade da amostra entre os laboratórios e a UMEQ/UFG foi moderada. Em relação representação do epitélio escamoso e glandular, a concordância foi excelente e para o epitélio metaplásico, a concordância foi considerada boa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse estudo demonstraram a importância do monitoramento externo da qualidade, como ferramenta na implementação de estratégias de controle interno da qualidade e aprimoramento das preparações técnicas.

Devido à moderada concordância diagnóstica da adequabilidade da amostra entre os laboratórios e a UMEQ/UFG, verifica-se a importância de todo laboratório de citopatologia monitorar seus erros e implementar medidas de educação continuada para os profissionais responsáveis pela coleta do exame citopatológico do colo do útero, podendo ser uma alternativa para minimizar problemas referentes à adequabilidade da amostra enviada para

análise. Consequentemente, os laboratórios receberiam um número maior de esfregaços satisfatórios para a análise.

A UMEQ/UFG poderia também realizar educações continuadas nos próprios laboratórios, a fim de se conhecer a rotina, como por exemplo, como é realizada a coloração e montagem das lâminas e, a partir dessas visitas, poderá elaborar estratégias junto aos laboratórios para garantir a melhoria contínua da qualidade dos exames, tanto nos processos pré-analíticos quanto nos analíticos.

Destaque-se também o fortalecimento da parceria da UMEQ/UFG com a Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia-GO, onde a equipe da UMEQ tem participado efetivamente das ações para redução da incidência e mortalidade por câncer do colo do útero, de acordo com as normas estabelecidas pelo Ministério da Saúde-INCA.

REFERÊNCIAS

AMARAL, R.G.; RIBEIRO, A.A.; MIRANDA, F.A.; TAVARES, S.; SOUZA, L.N.A.; MANRIQUE, E.J.C. Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero. **Rev Bras Anal Clin**, v.38, n.1, p.3-6, 2006.

Ázara, C. Z. S.; Manrique, E. J. C.; Souza, N.L.A.; Rodrigues, A. R.; Tavares, S. B. N.; Amaral, R. G. External quality control of cervical cytopathology: Interlaboratory Variability. Acta Cytologica. 2013. DOI: 10.1159/000353843 (no prelo)

BRASIL. Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer. Periodicidade de realização do exame preventivo do câncer do colo do útero: normas e recomendações do INCA. **Rev Bras Cancerol**, v.48, n.1, p.13-5, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Sistemas de Informação do Controle do Câncer de Mama (SISMAMA) e do Câncer do Colo do Útero (SISCOLO). Manual Gerencial. Rio de Janeiro, RJ, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde - Portaria Nº 1.054 de 23 de julho de 2013. Institui a Qualificação Nacional em Citopatologia na prevenção do câncer do colo do útero (QualiCito), no âmbito da Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas. Disponível em < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt1504_23_07_2013.html> acesso em: 06 jul. 2013.

CARVALHO, N.S.; CALLAÇO, L.M. O tocoginecologista, o patologista e o exame de Papanicolaou. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v.29, n.8, p.383-6, 2007.
FERREIRA, D.S.C. Estudo da adequabilidade da amostra do colo do útero para exame citopatológico obtida por espátula de Ayre e escova cervical e por *accellon combi* - Resumo Tese. **Revista Brasileira Ginecologia Obstetrícia**. Rio de Janeiro, v. 26, n. 6, p. 497, 2004.

FRANCO, R., et al. Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino. **Rev Bras Ginecol Obstet,** v. 28, p.479-85, 2006.

GILL, G.W. Blinded Review of Papanicolaou Smears. **Cancer Cytopathol**, v.105, n. 2, p. 53-6, 2005.

GUARISI, R.; HARDY, E.; DERCHAIN, S.F.M.; FONSECHI-CARVASAN, G.A.; BORGES, J.B.R. Rastreamento, diagnóstico e tratamento da lesões precursoras e do câncer invasor de colo uterino no Município de Franco da Rocha, SP. **Rev Brasil Cancerol,** v.50, p. 7-15, 2004.

LANDIS, J.R.; KOCH, G.C. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, p.159-74, 1977.

MANDELBLATT, J. et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. **JAMA,** v. 287, p. 372-81, 2002.

MILLER, A.B. et al. Report on consensus conference on cervical cancer screening and management. **Int J cancer,** v. 86, p. 440-7, 2000.

MINTZER M, CURTIS P, RESNICK JC, MORRELL D. The effect of the quality of Papanicolaou smears on the detection of cytologic abnormalities. **Cancer**, v.87, n.3, p.113-7, 1999.

PLESSIS, J.M.D. et al. Aylesbury and cervitula spatulas. A comparative study to assess the adequacy of cervical smears. **Acta Cytol,** v. 45, p. 675-8, 2001.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT software changesand enhancements though release 8.2. Cary, NC: SAS Institute, Inc. 1999-2001.

SEBASTIÃO, A.P; NORONHA, L.; PINHEIRO, D.L.; CALLAÇO, N.S.; BLEGGI-TORRES, L.F. Influence of specimen adequancy on the diagnosis of ASC-US. **Diagn Cytophatol**, v.31, p.155-8, 2004.

SHIRATA, N.K.; PEREIRA, S.M.M.; CAVALIERE, M.J.; LONGATTO FILHO, A.; UTAGAWA, M.L.; SHIH, L.W.S. Celularidade dos esfregaços cervicovaginais: importância em programas de garantia de qualidade em citopatologia. **J Bras Ginecol**, v.108, n.3, p.63-6, 1998.

SIEBERS, A.G.; DE LEEUW, H.; VERBEEK, A.L.; HANSELAAR, A.G. Prevalence of squamous abnormalities in women with a recent smear without endocervical cells is lower as compared to women with smears with endocervical cells. **Cytopathology**, v.14, n.2, p.58-65, 2003.

SILVA, H.A. A influência da fase pré-analítica no controle da qualidade do diagnóstico colpocitológico. **RBCA,** v. 34, n. 3, p.131-5, 2002.

SOLOMON, D.; NAYAR, R. Sistema Bethesda para citopatologia cervicovaginal. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2005.

VINCENT, S.P. Educação permanente: componente estratégico para a implementação da política nacional de atenção oncológica. **Rev Bras Cancerol**, v.53, n.1. p.79-85, 2007.

WIENER, H.G. et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for cytology laboratories. **Cytopathology**, Boston, v. 18, p. 67-78, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cytological screening in the control of cervical cancer: technical guidelines. Geneva: Who; 1988.

ZEFERINO, L.C.; CATHARINO, J.M.R.; ARAÚJO, M.A.S.; SILVA, L.C.B.; VEDOATO, S.R.; TAMBASCIA, J.K. Desempenho das amostras do canal cervical e do fundo de saco no diagnóstico da neoplasia do colo uterino. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v.22, n.3, p.129-34, 2000.

A INFLUÊNCIA DO ESTRÓGENO NOS EFEITOS CORONARIANOS DA ANG-(1-7) EM RATAS SUBMETIDAS À SOBRECARGA PRESSSÓRICA E OVARIECTOMIZADAS COM E SEM REPOSIÇÃO HORMONAL.

Juliana Estevão Porto; Larissa Matuda Macedo; Álvaro Paulo da Silva Souza; Diego Basile Colugnati; Elizabeth Pereira Mendes; Carlos Henrique de Castro.

Instituto de Ciências Biológicas - Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO,

74.001-970, Brasil.

julianaporto.farm@gmail.com

1. Resumo

A Ang-(1-7) apresenta importantes ações vasodilatadoras, inclusive no leito coronariano. Estudos prévios mostraram que a resposta vasodilatadora da Ang-(1-7) em artérias mesentéricas de ratas é alterada durante o ciclo ovariano. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do ciclo estral e reposição de estrógeno nos efeitos coronarianos e ventriculares da Ang-(1-7). Foram utilizados ratas Wistar nas fases proestro e diestro do ciclo estral e ovariectomizadas com e sem tratamento com estrógeno por 3 e 8 semanas. Os corações das ratas foram perfundidos de acordo com o método de Langendorff com fluxo constante para avaliar o efeito da Ang-(1-7). A Ang-(1-7) não promoveu alteração nas artérias coronárias de ratas fêmeas virgens na fase diestro (3,129 ± 1,504 mmHg, n = 6, NS). Porém, na fase proestro, a Ang-(1-7) induziu uma vasodilatação coronariana (-8,582 ± 3,311 mmHg, n = 5, $p<0,05$). Ang-(1-7) induziu uma ação vasoconstritora coronariana tempo dependente (3 e 8 semanas), nos corações das ratas ovariectomizadas (3,884 ± 2,266 mmHg, n=7 vs. 18,26 ± 5,452 mmHg, n=9 nos ovx 8 sem, $p<0,05$). o tratamento com estrógeno por 8 semanas reverteu este efeito e o peptídeo promoveu uma vasodilatação coronariana (-7,926 ± 1,504 mmHg, n= 8, $p<0,05$). A Ang-(1-7) reduziu a PIS, dP/dtmax, dP/dtmin e FC nos corações das ratas em diestro e nas ratas ovarectomizadas tratadas com estrógeno. Estes resultados sugerem uma importante participação dos hormônios ovarianos nos efeitos coronarianos e ventriculares da Ang-(1-7).

Palavras-chaves: Ciclo Estral. Angiotensina-(1-7). Ovariectomia. Função Cardíaca. Coronárias. Estrógeno.

“revisado pelo orientador”

2. Introdução

O ciclo reprodutivo é composto por uma série de alterações morfofisiológicas que ocorrem em diferentes órgãos e que levam o útero a sofrer alterações endometriais de maneira cíclica e marcante. Estas alterações advêm de oscilações que têm início no hipotálamo. A partir da produção do hormônio de liberação das gonadotropinas (GnRH), no hipotálamo, a hipófise é estimulada a produzir os hormônios luteinizantes (LH) e folículo estimulante (FSH) induzindo a produção de estradiol (E_2) e de progesterona (P_4) no ovário (UZUELLI, 2006).

Tais alterações endometriais ocorrem acompanhando a flutuação dos níveis desses hormônios que variam em períodos cíclicos. O período de variação dos níveis hormonais é conhecido na maioria das espécies de mamíferos como ciclo estral, cuja duração varia segundo a espécie (BAIRD et al., 1975). O ciclo reprodutivo de ratas, ou ciclo estral, tem a duração média de 4 a 5 dias. Esse ciclo é caracterizado por quatro fases: proestro, estro, metaestro (ou diestro I) e diestro (ou diestro II). O proestro dura de 12 a 14 horas e é a fase de grandes alterações hormonais, ocorrendo picos de hormônios luteinizantes (LH), prolactina (PRL) e hormônio folículo-estimulante (FSH). Nessa fase o estradiol, que começa a aumentar no diestro, atinge a concentração máxima, desencadeando um feedback positivo que promoverá a liberação de hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH), indispensável para a ovulação (FREEMAN, 1994).

Segundo UZUELLI, (2006) o estro é o período de 25 a 27 horas em que são observados altos níveis estrogênicos, especialmente se comparados aos de progesterona. Período no qual a rata está receptiva para a cópula, sendo na manhã deste que ocorre a ovulação. Se não houver a concepção, o ciclo continua com o metaestro, cerca de 6 a 8 horas, onde atinge o estradiol atinge as concentrações mínimas. A formação de corpo lúteo nessa fase proporciona elevação significativa nos níveis de progesterona. Já o diestro dura de 55 a 57 horas. Em caso de não haver fecundação, há uma queda nas concentrações plasmáticas de estrógeno e progesterona indicando o início de um novo ciclo.

Assim, quatro hormônios principais participam das variações durante o ciclo reprodutivo: o estradiol (E_2), a progesterona, o LH e o FSH.

Estudos mostram que a variação nos níveis hormonais durante o ciclo estral pode promover alterações no sistema cardiovascular. Manson et al., (2003) relatam que há diferenças relacionadas ao sexo na incidência de hipertensão e doenças cardiovasculares, sendo que as fêmeas têm um risco sigficativamente menor que os homens. É observado que este risco aumenta drasticamente em mulheres na pós-menopausa, o qual sugere um

importante papel dos hormônios esteroidais. Assim, Mendelsohn, (2000) mostra que o estrógeno proporciona um papel significativo contra o desenvolvimento da doença cardíaca.

A descoberta de que os receptores de estrógeno, progesterona e andrógenos estão presentes no coração de uma variedade de espécies, incluindo os seres humanos, pode justificar a idéia de que os esteroides sexuais têm um impacto direto sobre o coração (INGEGNO et al., 1988; LIN et al., 1990; PASANEN et al., 1997; TAYLOR & AL-AZZAWI, 2000). Diferenças entre machos e fêmeas são mais aparentes na expressão de hormônios sexuais esteroidais. Fêmeas adultas na pré-menopausa têm 1/10 da quantidade de testosterona de machos, mas têm 10-20 vezes os níveis de estrógeno (GREENSPAN e GARDNER, 2004). Quando considera-se fêmeas na pós-menopausa, estas têm aproximadamente os mesmos níveis de estrógeno que os homens (LUCZAK e LEINWAND, 2009)

Crofton et al., (1988) observaram um dimorfismo sexual da resposta pressórica da vasopressina em ratos, e determinaram que a ação vasoconstritora da vasopressina é influenciada pela fase do ciclo estral nas ratas. Logo, sabe-se que os hormônios sexuais femininos podem conferir cardioproteção às mulheres, sendo que exercem múltiplos efeitos no sistema cardiovascular, incluindo a composição de lipoproteínas circulantes, mudança dos marcadores de coagulação, inibição do acúmulo de colágeno intravascular, efeito antiproliferativo nas células do músculo liso vascular e efeito vasodilatador direto nos vasos sanguíneos (SANTOS et al., 2010).

Estudos com humanos e animais têm examinado o impacto do sexo na função cardíaca. Mers et al., (1996) relataram que a fração de ejeção ventricular esquerda de descanso é significativamente maior em mulheres saudáveis (idade 54 ± 11 anos) do que em homens com idade semelhante, porém os homens apresentaram maior aumento na função cardíaca em resposta ao exercício do que as mulheres. Logo, o fato de que os homens têm maior reserva funcional do que as mulheres sugere que os eles têm maior capacidade para utilizar sua reserva funcional para manter o desempenho.

Além disso, Voloshenyuk et al, (2010) demonstraram que o estrógeno também limita a hipertrofia crônica induzida por sobrecarga pressórica e melhora a função cardíaca em ratos ovariectomizados. Considerando que esses fatores são determinantes no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, podem traduzir-se em grande impacto em termos de eventos cardiovasculares.

Investigações clínicas em humanos sugerem que o estrógeno participa de diversos mecanismos envolvidos no controle da pressão arterial, como a ativação da via vasodilatadora

mediada pelo óxido nítrico e prostaciclina e inibição da via vasoconstritora mediado pelo sistema nervoso simpático e da angiotensina II, um importante componente do sistema renina-angiotensina (ASHRAF; VONGPATANASIN, 2006).

O sistema renina-angiotensina (SRA) é considerado um dos mais importantes sistemas reguladores da homeostase cardiovascular. A influência desse sistema sobre as funções cardiovasculares e renais é extremamente ampla e complexa, envolvendo múltiplos mediadores, receptores e mecanismos de sinalização intracelular (SANTOS et al., 2000).

A renina é sintetizada e armazenada sob uma forma inativa, denominada pró-renina nas células justaglomerulares dos rins. Quando a pressão arterial cai, reações intrínsecas nos próprios rins fazem com que muitas das moléculas de pró-renina sejam clivadas, liberando renina. Esta enzima age sobre outra proteína plasmática, o angiotensinogênio, liberando a angiotensina I, um peptídeo de 10 aminoácidos. A angiotensina I possui propriedades vasoconstritoras leves e não produz alterações funcionais significativas na função circulatória. Após a remoção de dois aminoácidos mediada pela atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA), o peptídeo angiotensina I se transforma em um potente vasoconstritor, a angiotensina II (Ang II). Este peptídeo exerce dois efeitos principais para a elevação da pressão arterial. O primeiro deles é a intensa vasoconstrição das arteríolas, que aumenta a resistência periférica e, a leve constrição das veias, que promove aumento do retorno venoso do sangue ao coração, ajudando assim este último a bombear contra a pressão crescente (GUYTON e HALL, 1997).

O entendimento do sistema renina-angiotensina foi estendido nos últimos anos com relação ao reconhecimento de que a angiotensina (1-7) [Ang-(1-7)] – um metabólito clivado da Ang I e Ang II – é um produto biologicamente ativo da cascata renina-angiotensina (SCHINDLER et al., 2007). A Ang-(1-7) é formada principalmente, a partir da Ang II, pela ação da enzima homóloga da ECA – chamada ECA2. Esta enzima também pode converter a Ang I em Ang (1-9), que é subsequentemente hidrolisada pela ECA em Ang (1-7) (SAMPAIO et al., 2003).

Os vasos sanguíneos são um local importante para as ações opostas da Ang II e Ang-(1-7). A resposta vascular da Ang-(1-7) difere significadamente daquelas induzidas pela Ang II. Em vasos sanguíneos, a Ang-(1-7) atua principalmente como um vasodilatador e hormônio anti-proliferativo. Além de que possui efeitos antiarrítmicos, modula o sistema nervoso simpático e, estimula a excreção renal de Na^+ e H_2O, sendo um potente agente diurético e natriurético (ROKS et al., 1999).

Estudos prévios têm mostrado que as ações da Ang-(1-7) podem ser modificados por variações hormonais. Segundo estudos apresentados por NEVES et al., (2004), a resposta vasodilatadora da Ang-(1-7) em artérias mesentéricas pode ser alterada em ratas por diferenças na atividade endócrina ovariana. O estudo mostrou que durante a fase proestro do ciclo estral a resposta dilatadora da Ang-(1-7) sobre as artérias mesentéricas é elevada.

Os experimentos realizados previamente pelo laboratório mostraram que efeito vasodilatador coronariano da Ang-(1-7) é abolido em corações hipertrofiados de ratos machos. Voloshenyuk et al, (2010) demonstraram que os corações de ratas são resistentes ao remodelamento e disfunção cardíaca causada por sobrecarga pressórica. No entanto, ainda não se sabe se o estrógeno pode influenciar nos efeitos coronarianos da Ang-(1-7) em corações hipertrofiados.

Desta forma, conhecendo-se o efeito cardioprotetor do hormônio estradiol, inclusive na prevenção da hipertrofia cardíaca em ratas fêmeas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da reposição de estrógeno nos efeitos coronarianos da Ang-(1-7) em ratas coarctadas e ovariectomizadas.

3. Metodologia

O trabalho intitulado "A influência do ciclo estral nos efeitos coronarianos da ANG-(1-7)", protocolo n. 171/11, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA-PRPPG-UFG.

Os animais utilizados no trabalho foram ratos Wistar fêmeas, pesando aproximadamente 200 gramas. A influência do ciclo estral, sobrecarga pressórica e ovariectomia nos efeitos coronarianos da Ang-(1-7) foram estudados utilizando ratas fêmeas distribuídas em seis grupos: (1) proestro, (2) diestro, (3) ovariectomizada (3 e 8 semanas), (4) ovariectomizada + 17β-estradiol (3 e 8 semanas).

Os animais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Goiás (UFG), e os mesmos tiveram livre acesso a água e a comida. Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFG.

- **Análise Citológica**

Nos dias dos experimentos, foi coletada secreção vaginal de ratas fêmeas virgens para a preparação de esfregaços em solução salina 0,9%. A análise citológica dos esfregaços vaginais foi utilizada para avaliar as fases do ciclo estral. Desse modo, as ratas utilizadas no experimento foram aquelas em que encontraram-se nas fases proestro e diestro do ciclo estral.

- **Procedimento cirúrgico**

Ovariectomia

Um grupo de ratas fêmeas foi submetido à ovariectomia bilateral. Para isso os animais foram submetidos a anestesia geral ketamina 7 mg/Kg e xilazina 3 mg/Kg.

- **Reposição hormonal**

Uma semana após o procedimento de ovariectomia bilateral foi injetado 17β-estradiol (0,1mg/100g de peso corpóreo) ou placebo no tecido muscular da pata direita. E após três e oito semanas de tratamento com o hormônio, as ratas serão eutanasiadas para a realização do procedimento de coração isolado.

- **Coração isolado**

As ratas foram decaptadas de 15 a 20 minutos após a injeção intraperitoneal de 200 UI de heparina. O coração foi dissecado e perfundido através de um toco aórtico com solução de Krebs- Ringer. Após um período basal (20 a 30 minutos), os corações foram perfundidos por um período adicional de 20 minutos com Ang-(1-7) (20 pmol/L) na presença ou ausência dos antagonistas angiotensinérgicos.

- **Análise Estatística**

Todos os dados foram expressos através da média dos valores ± erro do padrão médio. Foi realizado o teste de variância ANOVA Two Way seguido pelo pós-teste de Fisher. O limite de significância estatística foi estabelecido em $p<0.05$.

4. Resultados

A Ang-(1-7) não promoveu alteração nas artérias coronárias de ratas fêmeas virgens na fase diestro do ciclo estral. Porém, na fase proestro (altos níveis de estrógeno) houve uma vasodilatação coronariana representada pela queda da Pressão de Perfusão (PP) quando comparada com o grupo diestro. Por outro lado, a Ang-(1-7) induziu uma ação vasoconstritora coronariana com o tempo de ovariectomia (3 e 8 semanas) nos corações das ratas ovariectomizadas. Este efeito foi revertido através do tratamento crônico com estrógeno (3 e 8 semanas) (**Figura 1**).

Além da vasomotricidade coronariana, avaliamos também a força de contração através da pressão intraventricular esquerda. Desse modo, observamos que a Ang-(1-7) induziu uma diminuição significativa da Pressão Intraventricular Sistólica (PIS) nos corações de ratas do grupo diestro, comparado ao grupo proestro. Também foi observado que nas ratas tratadas

com estrógeno o peptídeo promoveu a queda da PIS quando comparado aos grupos não-tratados **(Figura 2)**. Este efeito foi acompanhado de alterações na função diastólica, ou seja, o peptídeo induziu aumento da Pressão Intraventricular Diastólica (PID) nos corações de ratas do grupo diestro. Além disso, o tratamento com estrógeno também aumentou significativamente a PID, demonstrando que este hormônio promoveu aumento da capacidade de relaxamento miocárdica **(Figura 3)**.

Os resultados do tratamento com estrógeno (0,1 mg⁄Kg⁄dia, i.m.) mostraram uma significante queda da dP⁄dt máxima, o que sugere um possível efeito inotrópico negativo deste hormônio, uma vez que a dP⁄dt máxima, assim como a pressão ventricular sistólica, é considerada um marcador da função sistólica e índice de contratilidade miocárdica **(Figura 4)**. A dP⁄dt mínima foi alterada em dois grupos experimentais, o grupo diestro (baixas concentrações endógenas de estrógeno) e nos grupos tratados com estrógeno. Este dado refere-se a um parâmetro de relaxamento do miocárdio, sendo que reflete na função diastólica do ventrículo esquerdo. Logo, nossos resultados indicam uma diminuição da função sistólica destes grupos **(Figura 5)**.

Os resultados para a frequência cardíaca (FC) concordaram com os dados da dP⁄dt máxima. Desse modo, o tratamento com estrógeno também alterou significativamente este parâmetro, e influenciou a Ang-(1-7) na queda da FC, o que causou uma menor contratilidade do músculo cardíaco **(Figura 6)**.

A **(Figura 7)** representa o efeito do ciclo estral (diestro e proestro) e da ovariectomia sobre o peso do útero das ratas. Este é um parâmetro para mensurar indiretamente a concentração plasmática de estrógeno nos diferentes grupos experimentais e correlaciona-los aos efeitos ventriculares e coronarianos da Ang-(1-7).

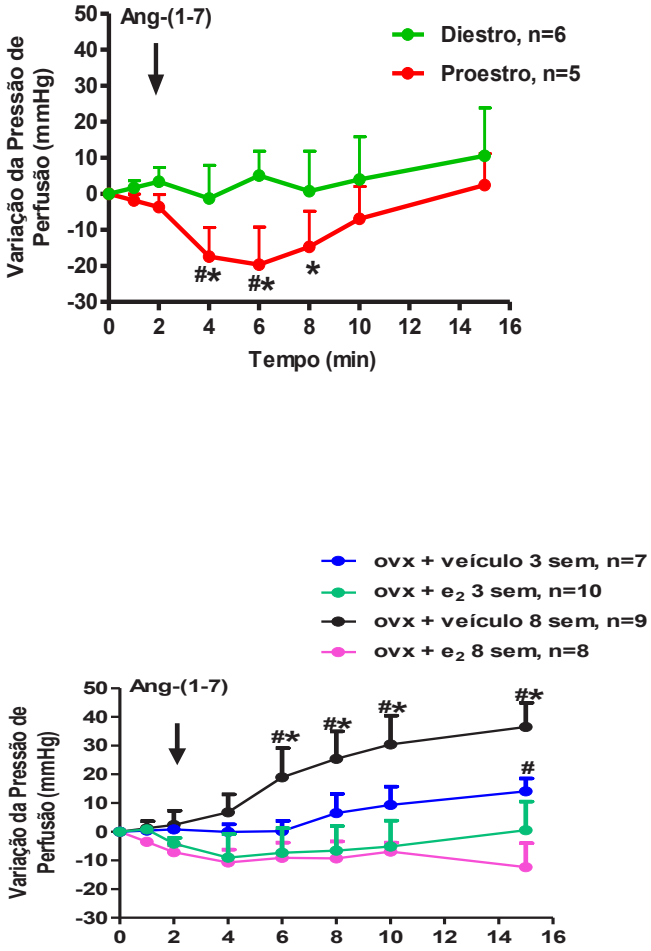


Figura 1. Efeito da Ang-(1-7) na variação da Pressão de Perfusão em corações isolados de ratas. * $p<0,05$ vs respectivo tempo. # $p<0,05$ comparado ao basal. Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média. Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD de Fisher.

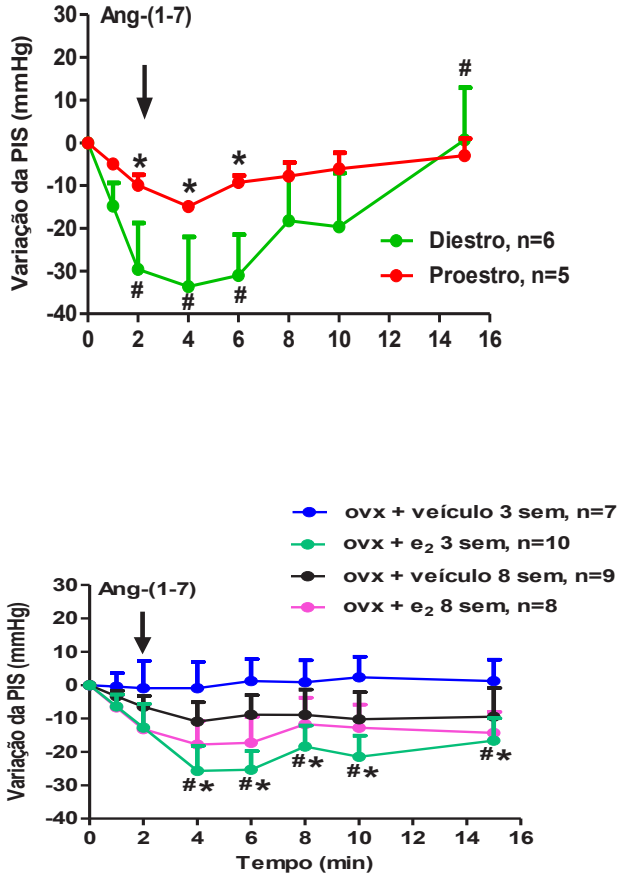


Figura 2. Efeito da Ang-(1-7) na variação da Pressão Intraventricular Sistólica em corações isolados de ratas. * $p<0,05$ vs respectivo tempo. # $p<0,05$ comparado ao basal. Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média. Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD de Fisher.

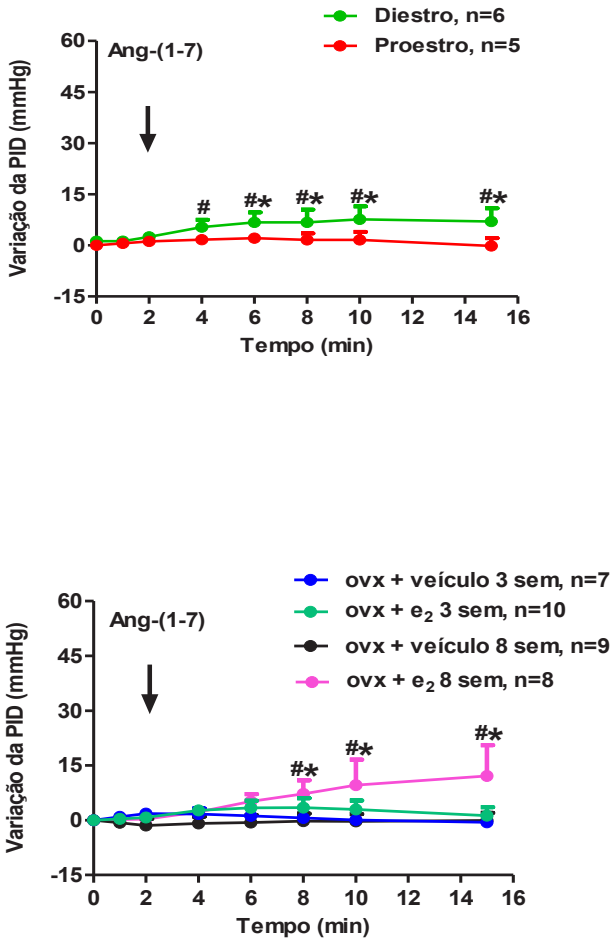


Figura 3. Efeito da Ang-(1-7) na variação da Pressão Intraventricular Diastólica em corações isolados de ratas. * $p<0,05$ vs respectivo tempo. # $p<0,05$ comparado ao basal. Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média. Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD de Fisher.

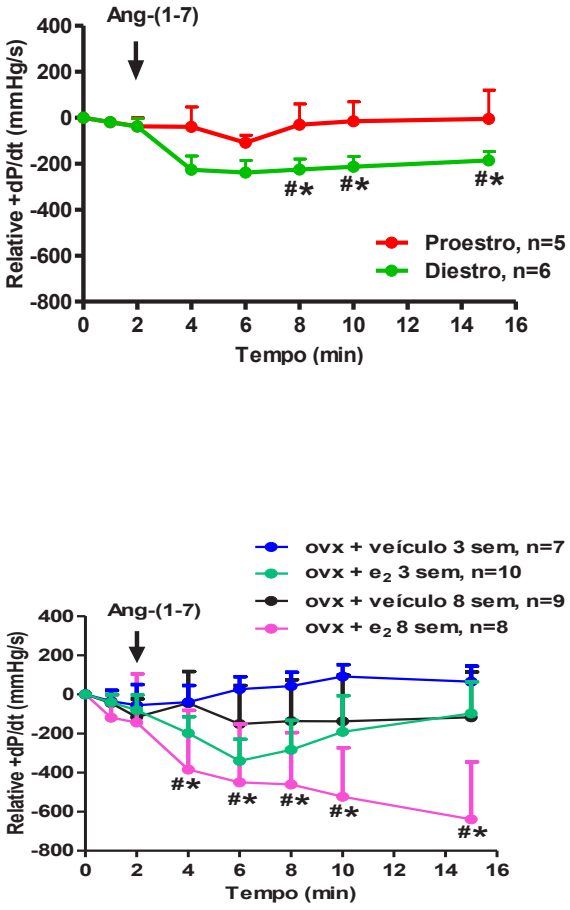
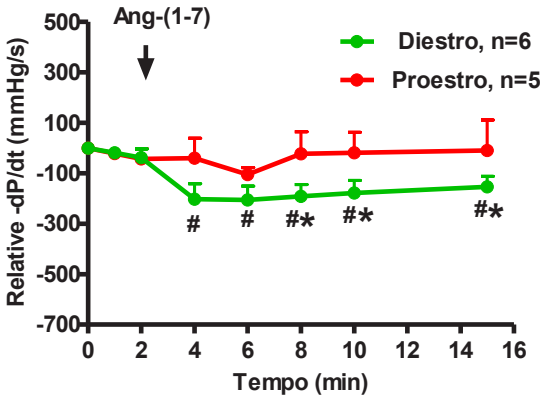


Figura 4. Efeito da Ang-(1-7) na variação da Relação dP/dt positiva em corações isolados de ratas. * p<0,05 vs respectivo tempo. # p<0,05 comparado ao basal. Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média. Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD de Fisher.



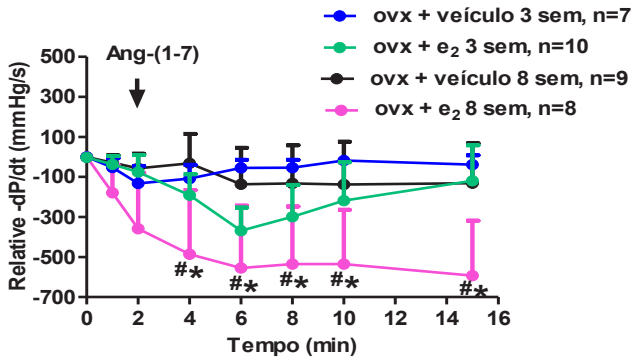


Figura 5. Efeito da Ang-(1-7) na variação da Relação dP/dt negativa em corações isolados de ratas. * $p<0,05$ vs respectivo tempo. # $p<0,05$ comparado ao basal. Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média. Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD de Fisher.

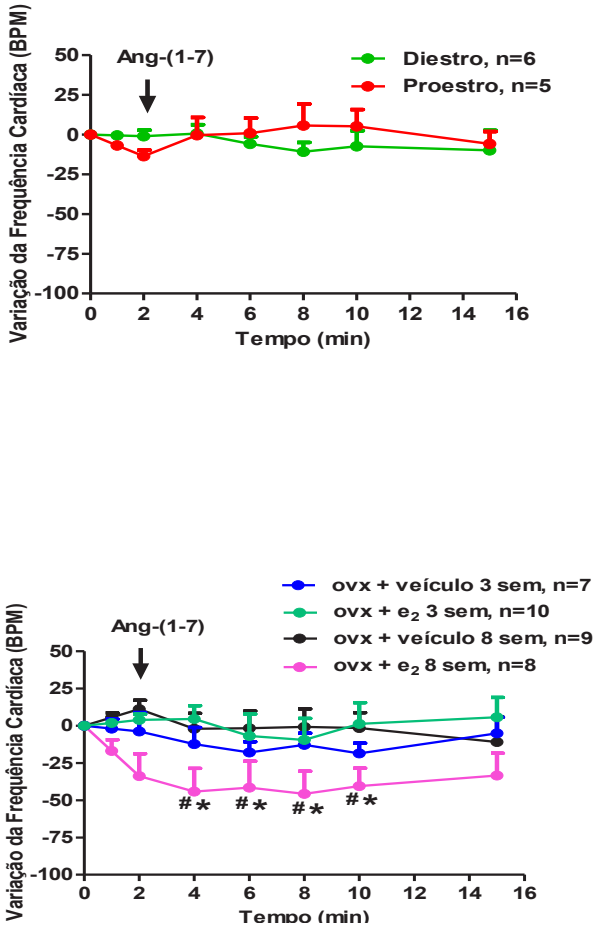


Figura 6. Efeito da Ang-(1-7) na variação da Frequência cardíaca em corações isolados de ratas. * $p<0,05$ vs respectivo tempo. # $p<0,05$ comparado ao basal. Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média. Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD de Fisher.

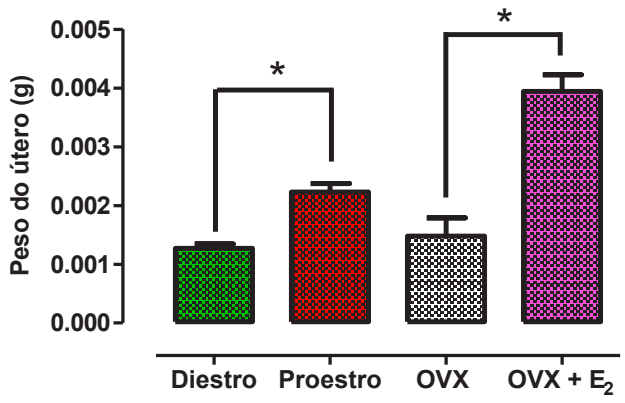


Figura 7. Efeito do ciclo estral e da ovarectomia (8 semanas) com ou sem reposição hormonal no peso do útero de ratas. * $p<0,05$ vs animais não-tratados. Teste t-student não pareado. Cada coluna representa a média ± S.E.M.

5. Discussão

No presente estudo, observamos que nos corações de ratas na fase proestro a Ang-(1-7) promoveu uma importante vasodilatação coronariana. Enquanto nos corações de ratas OVX, a Ang-(1-7) induziu a um efeito vasoconstritor. Estes resultados podem estar relacionados aos efeitos protetores do estrógeno. Vários efeitos vasculares benéficos deste hormônio tem sido sugeridos, incluindo modificação da composição de lipoproteínas circulantes (Santos et al. 2010, Nabulsi et al. 1993, Kilic et al. 2009), mudanças nos marcadores de coagulação (Wilson et al. 2009), inibição do acúmulo intravascular de colágeno (Dimopoulos & Langner 2009), efeitos antiproliferativos nas células do músculo liso vascular (Santos et al. 2010, Bhalla et al. 1997, Sharma et al. 2001, Odenlund et al. 2008) e vasodilatação direta dos vasos sanguíneos (Santos et al. 2010, Miler & Duckles 2008).

O efeito protetor do estrógeno é atribuído, principalmente, às suas ações diretas nos vasos sanguíneos. Este estimula fisiologicamente a liberação de fatores derivados do endotélio (Santos et al. 2010, Santos et al. 2004) e pode desempenhar um importante papel na regulação de canais iônicos nas células do músculo liso vascular (Santos et al. 2010, Han et al. 2007, Alda et al. 2009).

Níveis endógenos de estrógeno podem afetar indiretamente o tônus vascular e a vaso reatividade para diferentes agonistas contráteis ou relaxantes (Santos et al., 2010), inclusive a Angiotensina 1-7. Estudos prévios mostraram que a resposta vasodilatadora da Ang-(1-7) em artérias mesentéricas pode ser alterada em ratas por diferenças na atividade endócrina ovariana (Neves, Averill *et al.*, 2004). O estrogênio tem mostrado importante papel na regulação cardiovascular, inclusive do sistema renina-angiotensina. O estrogênio estimula, especificamente, a produção de angiotensinogênio (Grobe & Katovich, 2005; Healy et al., 1992) e do receptor do tipo II da angiotensina 2 (AT2R) (Armando et al., 2002; Grobe & Katovich, 2005), e para inibir a produção de pró-renina , enzima conversora de angiotensina (ECA) e do receptor do tipo 1 da angiotensina II (AT1R) (Grobe & Katovich, 2005). Essas mudanças na SRA tem o efeito de atenuar os efeitos pressores do SRA, mas potencializando os efeitos depressores. Logo, estes efeitos do estrogênio sobre os componentes do sistema renina-angiotensina podem reduzir a pressão arterial sanguínea e oferecer alguns efeitos cardiovasculares de proteção.

Além disso, estudos humanos e animais têm analisado o impacto do sexo na função cardíaca. Estes trabalhos que investigam as diferenças relacionadas ao sexo na função cardíaca de repouso em homens e mulheres relataram dados contraditórios. Convertino, (1998) e Haykowsky et al., (1998) descobriram que a FC de repouso foi 25% maior em

mulheres jovens do que em homens de idade comparável. Por outro lado, outros não encontraram nenhuma diferença na FC de repouso entre machos e fêmeas da mesma idade (PINES et al., 1998; ZABALGOITIA et al., 1996). Os nossos resultados para a frequência cardíaca em corações isolados mostraram um dimorfismo sexual nas ações da Ang-(1-7) sobre um dos parâmetros da contratilidade miocárdica. Desse modo, o tratamento com estrógeno influenciou na queda da FC, e estes dados não suportam os estudos que relatam uma função inotrópica positiva dos hormônios sexuais femininos.

Outras medidas de inotropismo como a dP/dt máxima e mínima estão relacionados com o débito cardíaco e a fração de ejeção, sendo o aumento da dP/dt máxima um parâmetro de melhora na performance cardíaca. Seu aumento infere uma melhora na propulsão do volume ssanguíneo, e portanto do débito cardíaco. O tratamento com 17-β-estradiol foi capaz de diminuir a dP/dt máxima e mínima, reduzindo a função sistólica (inotropismo) e a taxa de relaxamento miocárdica.

Leblanc et al., (1998) examinaram o efeito da idade nas diferenças relacionadas ao sexo na contratilidade de músculos papilares isolados de ratos sob condições isotônicas e isométricas. Curiosamente, a função foi similar entre os sexos até a idade de 4 meses, mas foi reduzida em fêmeas comparadas com machos, após esta idade. Estas diferenças foram associadas com uma redução significativa de Ca^{2+} transitório citosólico em miócitos de fêmeas. Os dados destes estudos corroboram com nossos resultados de dP/dt máxima e FC, no qual o tratamento com estrógeno altera significativamente este parâmetro e mostra um possível efeito inotrópico negativo.

O estrógeno causou um aumento significativo da massa uterina, como tem sido documentado na literatura (GROBE & KATOVICH, 2006). Este parâmetro pode ser utilizado para mensurar de forma indireta os níveis de estrógeno no organismo do animal. Estas diferenças na massa uterina foi notado também entre os grupos diestro e proestro, no qual o grupo proestro apresentou uma massa significativamente maior que o outro grupo, o que reflete os níveis endógenos aumentado do estrógeno nesta fase do ciclo estral (UZUELLI, 2006).

Sumarizando, nossos dados mostram uma importante participação dos hormônios ovarianos nos efeitos coronarianos e ventriculares da Ang-(1-7).

6. Considerações Finais

Nossos resultados indicam que a flutuação dos níveis endógenos de estrógeno apresenta uma importante influência sobre a ação vasodilatadora da Ang-(1-7) em coronárias e função cardíaca. Atualmente estamos desenvolvendo um trabalho em que avalia-se a influência do tratamento de estrógeno sobre os efeitos coronarianos e ventriculares da Ang-(1-7) em ratas hipertensas.

7. Referências Bibliográficas

Alda, J.O., Valero, M.S., Pereboom, D., Gros, P. & Garay, R.P. Endothelium-independent vasorelaxation by the selective alpha estrogen receptor agonist propyl pyrazole triol in rat aortic smooth muscle. J Pharm Pharmacol 61, 641–646. 2009.

Ashraf, M.S. e Vongpatanasin, W. Estrogen and Hypertension. Curr Hypertens Rep, v.8,n.5, Oct, p.368-76. 2006.

Baird, D. T., Baker, T.G. Relationship between the secretion of the corpus luteum and the length of the follicular phase of the ovarian cycle. J Reprod Fertil, v.45, n.3, Dec, p.611-9. 1975.

Bhalla, R.C., Toth, K.F., Bhatty, R.A., Thompson, L.P. & Sharma, R.V. Estrogen reduces proliferation and agonist-induced calcium increase in coronary artery smooth muscle cells. Am J Physiol 272, H1996–H2003. 1997.

Convertino, VA. Gender differences in autonomic functions associated with blood pressure regulation. Am J Physiol 275:R1909–R1920. 1998.

Dantas, A.P.V. Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão. Ações Cardiovasculares dos Hormônios Sexuais Femininos, São Paulo, v.8, n.5, p.85-90, 2005.

Dimopoulos, G.J. & Langner, R.O. Inhibition of phosphodiesterase has an additive effect on estrogen's ability to inhibit collagen synthesis in vascular smooth muscle cells. Vascul Pharmacol 50, 78–82. 2009.

Freeman, M.E. The ovarian cycle of the rat. The Fisiology of Reproduction. New York, 1994.

Greenspan FS, Gardner DG. Greenspan's basic & clinical endocrinology. Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York, p976. 2004.

Grobe, V.L.; Katovich, M.J. Alterations in aortic vascular reactivity to angiotensin 1-7 in 17-β-estradiol-treated femle SD rats. Regulatory Peptides 133, 62-67. 2006.

Han, G., Yu, X., Lu, L., Li, S., Ma, H., Zhu, S., Cui, X.&White, R.E. Estrogen receptor alpha mediates acute potassium channel stimulation in human coronary artery smooth muscle cells. J Pharmacol Exp Ther 316, 1025–1030. 2006.

Haykowsky M, Chan S, Bhambhani Y, Syrotuik D, Quinney H, Bell G. Effects of combined endurance and strength training on left ventricular morphology in male and female rowers. Can J Cardiol 14:387–391. 1998.

Ingegno MD, Money SR, Thelmo W, Greene GL, Davidian M, Jaffe BM, Pertschuk LP. Progesterone receptors in the human heart and great vessels. Lab Investig 59:353–356. 1998.

Kilic, S.; Yilmaz, N.; Erdogan, G.; Aydin, M., Tasdemir, N.; Doganay, M.; Batioglu, S. Effect of non-oral estrogen risk markers for metabolic syndrome in early surgically menopausal women. Climacteric 8, 1-8. 2009.

Leblanc N, Chartier D, Gosselin H, Rouleau JL. Age and gender differences in excitation-contraction coupling of the rat ventricle. J Physiol 511:553–548. 1994.

Lev EI, Pines A, Drory Y, Rotmensch HH, Tenenbaum A, Fisman EZ. Exercise-induced aortic flow parameters in early postmenopausal women and middle-aged men. J Internal Med 243:275–280. 1998.

Lin AL, Schultz JJ, Brenner RM, Shain AS. Sexual dimorphism characterized baboon myocardial androgen receptors but not myocardial estrogen and progesterone receptors. J Steroid Biochem Mol Biol 37:85–95. 1990.

Luczak ED, Leinwand LA. Sex-based cardiac physiology. Annu Rev Physiol 71:1–18. 2009.

Manson, J.E., Hsia, J., Johnson, K.C., Rossouw, J.E., Assaf, A.R., Lasser, N.L., Trevisan, M., Black, H.R., Heckbert, S.R., Detrano, R., Strickland, O.L., Wong, N.D., Crouse, J.R., Stein, E. & Cushman, M. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease.NEngl JMed349, 523–534. 2003.

Mendelsohn ME (2000) Mechanisms of estrogen action in the cardiovascular system. J Steroid Biochem Mol Biol 74:337–343

Merz CNB, Moriel M, Rozanski A, Klein J, Berman DS. Gender-related differences in exercise ventricular function among healthy subjects and patients. Am Heart J 131:704–709. 2009.

Miler, V.M. & Duckles, S.P. Vascular actions of estrogens: functional implications. Pharmacol Rev 60, 210–241. 2008.

Nabulsi, A.A., Folson, A.R., White, A., Patsch, W., Heiss, G., WU, K.K.; Szklo, M. Association of hormone replacement therapy with various cardiovascular risk factor in

postmenopausal women. The Aterosclerosis Risk in Communities Study Investigators. N Engl J Med 328,1069-1075, 1993.

Neves, L. A., Averill, D. B. *et al.* Vascular responses to Angiotensin-(1-7) during the estrous cycle. Endocrine, v.24, n.2, Jul, p.161-5. 2004.

Odenlund, M., Ekblad, E. & Nilsson, B.O. Stimulation of oestrogen receptor-expressing endothelial cells with oestrogen reduces proliferation of cocultured vascular smooth muscle cells. Clin Exp Pharmacol Physiol 35, 245–248. 2008.

Pasanen S, Ylikomi T, Syvälä H, Tuohimaa P. Distribution of progesterone receptor in chicken: novel target organs for progesterone and estrogen action. Mol Cell Endocrinol 135:79–91. 1997.

Roks, A. J., Van Geel, P. P. *et al.* Angiotensin-(1-7) is a modulator of the human renin-angiotensin system. Hypertension, v.34, n.2, Aug, p.296-301. 1999.

Santos, R.A.M.J.; Campagnole-Santos M.J., et al. Angiotensin-(1-7): na update. Regul Pept, v.91, n.1-3, p,45-62. Jul 28, 2000.

Santos, R.L., Abreu, G.R., Bissoli, N.S. & Moyse´ s, M.R. Endothelial mediators of 17 b-estradiol-induced coronary vasodilation in the isolated rat heart. Braz J Med Biol Res 37, 569–575. 2004.

Santos, R.L., Marin, E.B., Gonçalves, W.L.S.; Bissoli, N.S.; Abreu, G.R.; Moysés, M.R. Sex diferences inthe coronary vasodilation induced by 17 b-oestradiol in the isolated perfused heart from spontaneously hypertensive rats. Acta Physiol v.200, p.203-10, 2010.

Schindler, C.; Bramlage, P. et al. Role of the vasodilator peptide angiotensin-(1-7) in cardiovascular drug therapy. Vasc Health Risk Manag, v.3, n.1, p.125-37. 2007.

Sharma, R.V., Gurjar, M.V. & Bhalla, R.C. Selected contribution: estrogen receptor-alpha gene transfer inhibits proliferation and NF-kappaB activation in VSM cells from female rats. J Appl Physiol 91, 2400–2406. 2001.

Taylor AH, Al-Azzawi F. Immunolocalisation of oestrogen receptor beta in human tissues. J Mol Endocrinol 24:145–155. 2000.

Uzuelli, F.H.P. Metabolismo de radicais livres durante o ciclo estral de rata. 106f. Dissertação (Mestre em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

Wilson, R.; Spiers, A.; Ewan, J.; Jenkins, C.; Carr, S. Effect of high dose oestrgen therapy on circulating inflammatory markers. Maturitas 62, 282-286. 2009.

Zabalgoitia M, Rahman NU, Haley WE, Oneschuk L, Yarows S, Yunis C, Lucas C, Linn W, Krause L, Amerena J. Gender dimorphism in cardiac adaptation to hypertension is unveiled by prior treatment and efficacy. Am J Cardiol 78:838–840. 1996.

ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO E DA MICROESTRUTURA DE CASCOS DE BOVINOS EM DIFERENTES FASES DA IDADE FETAL: AVALIAÇÃO POR HISTOMORFOMETRIA, MICROTOMOGRAFIA TRIDIMENSIONAL E TESTE DE RESISTÊNCIA MECÂNICA

Juliana Ferreira Batista[1]; Rodrigo Pereira de Carvalho[2]; Caroline Rocha de Oliveira Lima[3]; Valcinir Aloísio Scalla Vulcani[4]; Rogério Elias **RABELO**[5].

1.Acadêmica em Medicina Veterinária, Bolsista em Iniciação Científica (PIBIC), do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí; Jataí, Goiás, Brasil, julianavetufg@hotmail.com
2. Acadêmico em Medicina Veterinária, Bolsista em Iniciação Científica (PIVIC), do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí; Jataí, Goiás, Brasil, rodrigo-veet@hotmail.com
3. Doutora em Ciência Animal, Fiscal Agropecuária Estadual (AGRODEFESA).
4.Professor Adjunto II, Setor de Patologia Animal, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Jataí, Goiás, Brasil.
5.Professor Adjunto II, Setor de Cirurgia de Grandes Animais, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Jataí, Goiás, Brasil, rabelovet@yahoo.com.br (Orientador)

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a microestrutura dos cascos de bovinos da raça Holandesa em diferentes fases da idade fetal por histomorfometria, microtomografia tridimensional e teste de resistência mecânica. Verificou-se que na idade fetal as estruturas internas responsáveis pela formação do casco são mais delgadas e as papilas dérmicas se desenvolviam com o decorrer do desenvolvimento fetal. Todavia, pode-se observar que a formação de túbulos córneos permanecia discreta, mesmo nos fetos no final do período gestacional. Apesar de evidentes, estes ainda estariam em desenvolvimento, o que inviabilizaria a mensuração dessas estruturas anatômicas.

Palavras-chave: Desenvolvimento microestrutura, estojo córneo, feto, gado leiteiro.

"REVISADO PELO ORIENTADOR"

INTRODUÇÃO

O conhecimento da anatomia do dígito é essencial para o entendimento de suas alterações. Os bovinos possuem quatro dígitos denominados de II, III, IV e V, não apresentando o primeiro dedo. Nas extremidades distais dos membros dos ruminantes estão presentes os ossos dos dedos III e IV. Cada dígito é composto por estruturas ósseas e tecido mole envoltos por tegumento modificado queratinizado denominado de estojo córneo digital ou casco (GREENOUGH, 2007).

O casco é dividido em regiões envolvendo tanto a epiderme com seu tecido queratinizado (estojo córneo) quanto à derme subjacente. Essa segmentação é baseada nas características das diferentes camadas do tegumento, tendo como partes principais perióplo, coroa, parede (segmento laminar), sola e bulbo (MULLING & BUDRAS, 2011). Em todas as regiões do casco, há sempre uma epiderme viva separada da derme subjacente por uma membrana basal. Nessa área de transição, podem ocorrer alterações importantes no dígito bovino (GREENOUCH, 2007). A epiderme é avascular e recebe seus nutrientes por meio dos capilares na derme subjacente, por difusão (LISCHER & OSSENT, 2002). O perióplo, também conhecido como banda coronária, se estende na transição do casco para a pele e em direção palmar/plantar onde encontra o bulbo (GREENOUCH, 2007; NORONHA FILHO, 2013). Na camada subcutânea do perióplo, especialmente nas regiões dorsal e abaxial, se encontra o coxim perióplico e sua derme forma papilas distribuídas esparsamente. A epiderme recobre a derme formando túbulos córneos prolongando-se por toda extensão do tecido córneo, como continuação das papilas dérmicas (MULLING & BUDRAS, 2011). O tecido córneo do perióplo cresce distalmente por aproximadamente 1,5 centímetros (GREENOUGH, 2007).

Sabendo que a má qualidade dos cascos e as doenças digitais estão relacionadas a causas multifatoriais, diversas linhas de pesquisas direcionam esforços para elucidar os questionamentos acerca do comportamento epidemiológico, clínico e terapêutico das doenças podais que acometem o rebanho bovino. Todavia, pesquisas básicas focadas no aspecto morfofuncional do casco e os fatores que influenciam a resistência e qualidade dos mesmos são escassas, principalmente quando se leva em consideração as raças de aptidão leiteira, que muitas vezes são manejadas em ambientes insalubres, com presença constante de contaminação e excesso de umidade.

Neste contexto, estudos morfofuncionais, utilizando técnicas avançadas de caracterização morfológica, em diferentes fases do desenvolvimento fetal apresentam-se

inéditas do ponto de vista científico e de importância inquestionável à medicina veterinária. Pesquisas sobre o desenvolvimento microestrutural do casco, utilizando ferramentas de avaliação como a histomorfometria, microtomografia tridimensional e testes de resistência mecânica apresentam-se como instrumentos essenciais na elucidação de vários questionamentos que podem implicar na melhoria do bem estar animal e na prevenção de várias enfermidades que acometem os cascos dos bovinos.

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a microestrutura da formação do estojo córneo de bovinos da raça Holandesa em diferentes fases da idade fetal, por meio de avaliações histomorfométricas.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Federal de Goiás, conforme protocolo 093/11. Foram utilizadas peças anatômicas de fetos de bovinos da raça holandesa como modelo experimental, coletadas em frigorífico inspecionado. Para a avaliação histomorfométrica do estojo córneo, preconizou-se um número padrão de dez amostras de extremidades podais, independente de ser o membro torácico ou pélvico, por idade fetal a ser estudada. Definiu-se que as idades fetais seriam distribuídas em quatro categorias, sendo essas: (C1) um a dois meses; (C2) dois a quatro meses; (C3) quatro a seis meses e (C4) seis a nove meses. A estimativa da idade fetal foi realizada seguindo metodologia proposta por GRUNERT & BIRGEL (1984), tendo o comprimento do feto (medida na coluna a partir da articulação occipital até a primeira vértebra coccigiana) como parâmetro. Após essa etapa, as peças anatômicas foram identificadas, acondicionadas sob refrigeração. As colheitas foram efetuadas seguindo metodologia semelhante à citada por MENDONÇA et al. (2003). Foram colhidos espécimes clínicos em dois pontos do casco (muralha e sola) sendo o material encaminhado ao Setor de Patologia Animal do Campus Jataí/UFG. As amostras foram fixadas em solução de formaldeído tamponado a 10%, seguindo metodologia de LUNA (1968) e a coloração efetuada com hematoxilina-eosina (HE). Após preparo das lâminas, avaliou-se o desenvolvimento microestrutural das papilas epidérmicas e formação dos túbulos córneos. Para isso, utilizou-se microscópio óptico modelo Zeiss-EM 10, com dispositivo de captação de imagem para registro dos diversos campos de cada lâmina. Após esse procedimento, realizou-se a descrição do desenvolvimento.

“REVISADO PELO ORIENTADOR”

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame histológico verificou-se que não haviam, ainda, túbulos córneos formados, sendo somente as papilas epidérmicas visibilizadas. Desta forma, ao invés de realizar estudo comparativo de túbulos, procedeu-se a descrição do desenvolvimento dessas estruturas. Este fato mostrou-se pertinente uma vez que não foram encontradas na literatura consultada, quaisquer informações que descrevessem esse dinamismo na espécie bovina. Estudos similares, analisando a microestrutura da extremidade digital de fetos foram resgatados, porém utilizando fetos de ovinos como modelo experimental (REZAIAN, 1998) e de equinos (BANKS, 1992).

Avaliando-se C1, verificou-se que a espessura da epiderme que recobre a extremidade dos membros locomotores apresentava-se bastante variável ao longo de toda a estrutura. Observou-se que as estruturas internas, responsáveis pela formação do casco, apresentavam-se de forma mais delgada na região da extremidade do membro locomotor, onde o mesmo estaria se desenvolvendo. Esta região anatômica em C2 apresentou-se composta por três ou quatro camadas de queratinócitos, formando a camada espinhosa e recoberta por duas ou três camadas de células cuboides, compondo a camada granulosa. Resultados semelhantes foram relatados por REZAIAN (1998) descrevendo que em ovinos aos 68 dias de vida fetal notou-se início da formação das papilas epidérmicas e presença de queratinócitos já em número considerado, em "migração" e tendendo à aglomeração. Nessa etapa, a camada espinhosa mostrava-se mais evidente, como observado neste estudo. Ainda em C2 notou-se espessamento da epiderme, dando início a formações das papilas epidérmicas e discreta formação de túbulos córneos. Evidenciou-se nessa fase da vida fetal que as células germinativas se dividiram intensamente, compondo muitas camadas de células com característica espinhosa. Muitas destas células perderam seus núcleos e outras apresentam núcleos picnóticos. Para REZAIAN (1998) no decorrer do desenvolvimento da extremidade do membro locomotor para formação do casco rudimentar na fase fetal, a perda de núcleos pelas células da epiderme é caracterizada como um processo de diferenciação, onde essas passam a sofrer queratinização, concordando com os resultados observados nesta pesquisa. Ao analisar o desenvolvimento das papilas epidérmicas, percebeu-se que essas tendem a crescer de forma individual, porém, podem surgir agrupadas para posteriormente se individualizarem.

Em C3 as papilas epidérmicas aumentaram consideravelmente de comprimento, porém, ainda apresentavam-se em desenvolvimento. Notou-se que os queratinócitos

apresentaram um dinamismo que, em tese, estariam se organizando para compor outros túbulos córneos. Todavia, a produção de queratina ainda apresentava-se moderada, sendo escassa e limitada a alguns locais. Já em C4 evidenciou-se uma produção de queratina de forma mais intensa, formando uma delgada camada sobre a epiderme. Nessa etapa, pode-se observar que a formação de túbulos córneos ainda permanecia discreta. Todavia, apesar de evidentes, estes ainda estariam em desenvolvimento, o que inviabilizaria a mensuração dessas estruturas anatômicas. Apesar de não detalhar a dinâmica do desenvolvimento e formação dos túbulos córneos durante a fase fetal, outros autores, estudando outras espécies, também mencionaram que o desenvolvimento e, consequente formação de túbulos córneos só pode ser evidenciada na fase final da vida fetal, corroborando com os achados dessa pesquisa (REZAIAN, 1998). Notou-se ainda, que a camada de queratina se limitava à superfície da epiderme e as formações dos túbulos córneos apresentam-se perpendiculares às papilas epidérmicas, de pequeno diâmetro e distribuídos aleatoriamente.

CONCLUSÃO

Notou-se que na fase fetal as papilas epidérmicas presentes na extremidade do membro locomotor, responsáveis pela produção de queratina, aumentaram consideravelmente de comprimento, formando uma delgada camada sobre a epiderme. Todavia, avaliações complementares propostas nesta fase do estudo mostraram-se ineficazes.

“REVISADO PELO ORIENTADOR”

REFERÊNCIAS

1. MENDONÇA, A. C.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; MORAES, J. O. R.; ALMEIDA, C. F.; OLIVEIRA, K. S.; OLIVEIRA, M. P.; SILVA, L. M. Aspectos morfológicos dos dígitos de bovinos das raças Gir e Holandesa. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 4, n. 1, p. 53-60. 2003.
2. GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H. **Obstetrícia veterinária.** Porto Alegre: Sulina, 1984. 325 p.
3. LUNA, L.G. **Manual of histologic staining of the armed forces institute of pathology**. 3. ed. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1968. p. 258.

JUSTIFICATIVA

O projeto de pesquisa apresentado como plano de trabalho do referido aluno faz parte de um projeto já cadastrado no SAPP e com término para **08 de 2013**. Todavia, o projeto inicial, contemplado com uma bolsa PIVIC, apresentava no plano de trabalho o estudo de duas raças de aptidão leiteira, sendo uma da raça taurina (Holandesa) e outra da raça zebuína (Gir). Todavia, justificamos que não foi possível, a contento, cumprir todo o plano de trabalho apresentado devido a vários fatores abaixo especificados:

1) Por ser um projeto laborioso e que o planejamento orçamentário mostrou-se muito superior ao esperado, os recursos direcionados mostraram-se insuficientes, uma vez que vários testes que constavam no plano de trabalho (microtomografia computadorizada e testes de resistência mecânica) dependiam de outras Instituições de pesquisa (EMBRAPA Instrumentação Agropecuária e USP, ambas de São Carlos) e eram de alto custo financeiro.

2) Outro ponto de estrangulamento que dificultou a execução plena do plano de trabalho do aluno PIVIC, foi o fato de escolhermos como representante da raça zebuína, o Gir. Devido ao pequeno número destes animais abatidos em frigorífico em todo o Estado de Goiás, não foi possível colher espécimes clínicos para a condução da pesquisa em tempo hábil para dar prosseguimento às análises, conforme metodologia preconizada no projeto cadastrado. Ressalte-se ainda, que houve contratempos, pois o microtomógrafo apresentou problemas técnicos, demorando um longo período para restabelecimento de seu funcionamento, sendo prioritárias as análises das Instituições parceiras em detrimentos a outras pesquisas.

3) Desse modo, a justificativa apresentada, apresenta-se coerente sendo necessário que o referido plano de trabalho, que com certeza preenche em plenitude, devido ao grau de complexidade, todo o tempo do bolsista, sendo extremamente difícil término do projeto sem auxílio direto desses acadêmicos.

4) Após apresentada a justificativa, coloco-me à disposição para esclarecimentos que se fizerem necessários.

Prof. Dr. Rogério Elias Rabelo

Coordenador do Projeto

"REVISADO PELO ORIENTADOR"

AVALIAÇÃO ECONÔMICA DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS COM FRUTÍFERAS DO CERRADO

FERRARI, Juliana Marques[(1)]; **CARMO,** Maíra Borges do[(2)]; **ABREU**, Cynara Benedito de[(3)]; **SILVA**, Vanderli Luciano da[(4)]; **CORRECHEL,** Vladia[(5)]

Escola de Agronomia – Universidade Federal de Goiás

[1]juliana.ferrari92@gmail.com; [2]mairaborges@hotmail.com; [3]cy.abreu@hotmail.com; [4]vandsilva2001@yahoo.com.br; [5]vladiacorrechel@hotmail.com

Resumo - Os sistemas agroflorestais podem trazer uma série de vantagens ambientais e econômicas como melhoria na estrutura e fertilidade do solo devido a presença de árvores e ciclagem de nutrientes, recuperação de áreas degradadas, utilização de espécies nativas do cerrado como fonte de renda e consequente preservação destas, além de diversificar a produção aumentando a renda familiar. Esse trabalho tem como objetivos: i) estimar a rentabilidade do SAF/EA/UFG para um período de dez anos; ii) difundir técnicas de desenvolvimento sustentável para o Cerrado e alternativas à agricultura tradicional, e iii) monitorar o SAF demonstrativo da EA/UFG. O SAF foi instalado em 2010 na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás e no período de 2012 e 2013 sua área foi expandida. Foram construídas tabelas de avaliação econômica a partir dos preços praticados no mercado e produtividades mais frequentemente encontradas, porém foi detectado um déficit de pesquisa na produtividade por planta, o que é essencial para o estudo de SAFs. Além disso, foi construída uma planilha para ser usada por agricultores possibilitando-os a realizar uma estimativa de custo e lucro de um SAF. As tabelas de avaliação possibilitam confirmar a rentabilidade econômica de um SAF.

Palavras-chave: agricultor, lucro, preservação.

Revisado pela orientadora

Identificação dos autores:
[1]Orientanda: Graduanda de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. PIBIC/CNPq.
[2]Graduanda do Curso de Biologia da Universidade Federal de Goiás.
[3]Graduando do Curso de Biologia da Universidade Federal de Goiás.
[4]Graduando em Tecnologia em Gestão Ambiental da Faculdade Delta. PIVIC/CNPq.
[5]Orientadora: Engª. Agrônoma, Drª., Professora Adjunto IV de Solos da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Caixa Postal 131, CEP: 74690-900, Goiânia, GO.

1 Introdução

Entre as diversas técnicas de manejo utilizadas pela agricultura surgiram os sistemas agroflorestais (SAFs), que consistem em formas de cultivo nas quais são consorciadas, em uma mesma área, espécies arbóreas e cultivos agrícolas e, ou, animais. Os estudos envolvendo tais sistemas têm avançado muito em várias regiões do Brasil, incentivados tanto pelo uso de práticas conservacionistas do solo e da água quanto pela manutenção de produtividades satisfatórias e até mesmo com maiores retornos ao produtor (Salgado et al., 2006).

O estudo dos SAFs produtivos torna-se de suma importância pela inclusão de uma nova variável a ser entendida, ou seja, a interação/relação que ocorre entre os cultivos agrícolas e as árvores presentes nos sistemas agroflorestais. Questões como a erosão e perdas de solo, o comprometimento esperado da produtividade, a competição entre as espécies consorciadas e suas relações abrem um campo atraente à pesquisa, envolvendo a agricultura e a silvicultura conjuntamente (Salgado, 2004).

Segundo Passos & Couto (1997), os SAFs podem trazer vantagens ecológicas, econômicas e sociais em relação aos sistemas de produção agrícola tradicionais. Em relação às vantagens ecológicas, podemos citar melhorias na conservação do solo, da água e do microclima para as plantas e animais, o aumento da biodiversidade, a redução dos impactos ambientais negativos tanto em âmbito local quanto regional, além da redução da pressão exercida pelo homem sobre as vegetações naturais remanescentes, visando à abertura de novas áreas para produção agrosilvopastoris.

Entre as vantagens econômicas, destacam-se a obtenção de produtos agrícolas e florestais em uma mesma área, redução das perdas na comercialização, redução dos custos de implantação e de manutenção florestal e aumento da renda líquida por unidade de área da propriedade. Entre as vantagens sociais, pode ser citada uma melhor distribuição da mão de obra na propriedade ao longo do ano, a diversificação da produção, a melhoria das condições de trabalho no meio rural e a melhoria da qualidade de vida do produtor.

Sistemas agroflorestais podem ser adotados na recuperação de áreas de Reserva Legal em propriedades rurais, podendo gerar renda ao produtor graças ao consórcio agrícola. Sua maior ou menor viabilidade econômica irá depender de um manejo mais intensificado na área para a produção agrícola e de preços satisfatórios para venda no mercado (Rodrigues, 2007).

Segundo Da Croce (1996), uma dificuldade enfrentada em se adotar um SAF é a conscientização do pequeno e médio produtor rural, que reluta em sair do sistema tradicional de plantio para adotar um novo desenho de parcelas. Desta forma aumenta a dificuldade na

manipulação de variáveis, tornando mais difícil comparar a monocultura com o consórcio, pelo tempo necessário, custo da terra e manutenção do projeto. É importante que as instituições de pesquisa mantenham áreas próprias disponíveis ao desenvolvimento de pesquisa quando entra a componente floresta. Os sistemas agroflorestais são complexos e pouco entendidos, comparados com a monocultura. As avaliações e os arranjos de culturas anuais com florestas, bem como as associações no tempo e espaço, dificultam as análises estatísticas do modelo SAF adotado.

Segundo Bentes-Gama (2005), embora os resultados de avaliações econômicas de SAFs serem válidos torna-se necessário o acompanhamento da produção, desenvolvimento financeiro, além de novas tecnologias, tendências de mercado para gerar informações confiáveis aos produtores e técnicos locais para promover uma adoção mais efetiva desse sistema de produção. Avaliações econômicas de SAF continuam dependentes de informação, pesquisa e estudo para permitir o alcance de respostas científicas consistentes.

O objetivo geral desse trabalho foi avaliar a rentabilidade do SAF da EA/UFG, utilizando-se o feijão azuki como cultura de subsistência no sistema. Como objetivos específicos do mesmo, destacam-se: i) estimativa da rentabilidade do SAF/EA para um período de dez anos; ii) difusão de técnicas de desenvolvimento sustentável para o cerrado e alternativas à agricultura tradicional e iii) monitoramento do SAF demonstrativo inicialmente instalado em 2010 na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás

2 Metodologia

A área de estudo está localizada no campus experimental da Universidade Federal de Goiás – UFG, Escola de Agronomia (16° 41” S e 49° 17" W e altitude média local de 741m), conforme mostra a Figura 1. Antes da implantação do experimento, em 2010, a área estava sendo utilizada pela Escola de Veterinária para plantio de sorgo (*Pennisetumglaucum* (L.) R.Br.) para produzir silagem para alimentação de bovinos.

Em 2010, quando o SAF foi implantado, foi realizada a limpeza da áreapara viabilizar o levantamento topográfico do relevo. Depois, foram coletadas amostras de terra e analisadas quanto à fertilidade e estabilidade de agregados do solo, apenas na camada 0 a 20 cm. Com base nos resultados, foi feita a aplicação de calcário para promover a correção da acidez do solo e então o solo foi preparado com grade aradora.



Figura 1. Localização espacial da área na qual o SAF da Escola de Agronomia foi implantado em 2010. Bloco 1 = SAF implantado em 2010 e ampliado em 2011. Bloco 2 = área de SAF ampliada em 2012.

Na área foram plantadas mudas e semeadas diversas espécies: mandioca, abacaxi, cana-de açúcar, bananeira, guariroba, cará, feijão guandu, feijão de porco, crotalária, mucuna preta, mogno, pau-brasil, angico aroeira acerola, tamarindo, banana, graviola, pau-brasil, jatoba, caju, goiaba, cagaita, mangaba, baru, manga, ipê verde, ipê aroeira, acácia, mogno, guatambu, tamboril, angico, amora, mamãozinho, pêra, cajamanga, siriguela, árvore de tento, baobá, chuva de ouro, paineira rosa e limoeiro. Como princípio de prevenção ao ataque de pragas e doenças, foram plantadas nas bordaduras flor do mel, como barreira biológica natural e utilizada cobertura morta para controle de plantas daninhas. Em 2011, mais da metade das mudas plantadas haviam sido eliminadas pelo ataque de formigas e capivaras. Um bom número de plantas foi perdido por falta de água, pois nessa área não há água disponível para irrigação.

No período de 2011/2012, foram replantadas 80 mudas e ressemeadas diversas espécies, entre as quais se destacam as bananeiras e os abacaxizeiros, que tem sobrevivido em campo com maior facilidade de que as demais espécies presentes na área. Na Figura 2 é apresentado um croqui do SAF ampliado na safra 2011/2012. Esquema parecido foi adotado para ampliar, na safra 2012/2013 o SAF da EA, denominado de bloco 2. As Figuras 3 e 4 mostram a disposição das espécies que atualmente estão presentes no SAF nos blocos 1 e 2, respectivamente, e a Tabela 1 mostra as espécies codificadas nas figuras.

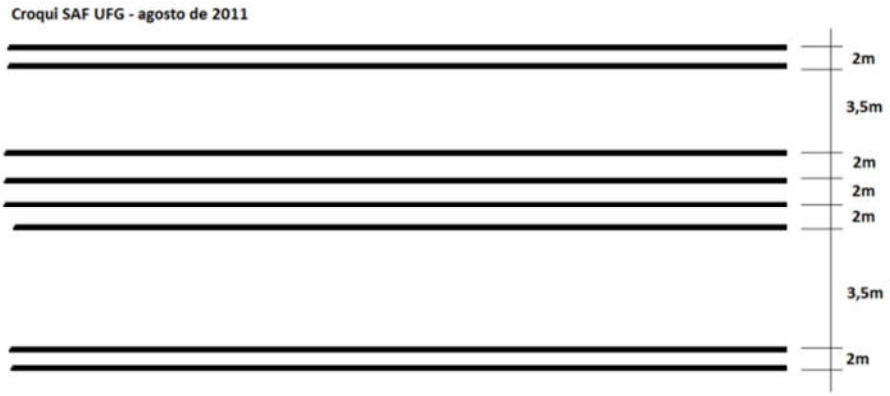


Figura 2. Croqui do SAF ampliado na safra 2011/2012, denominado bloco 1.

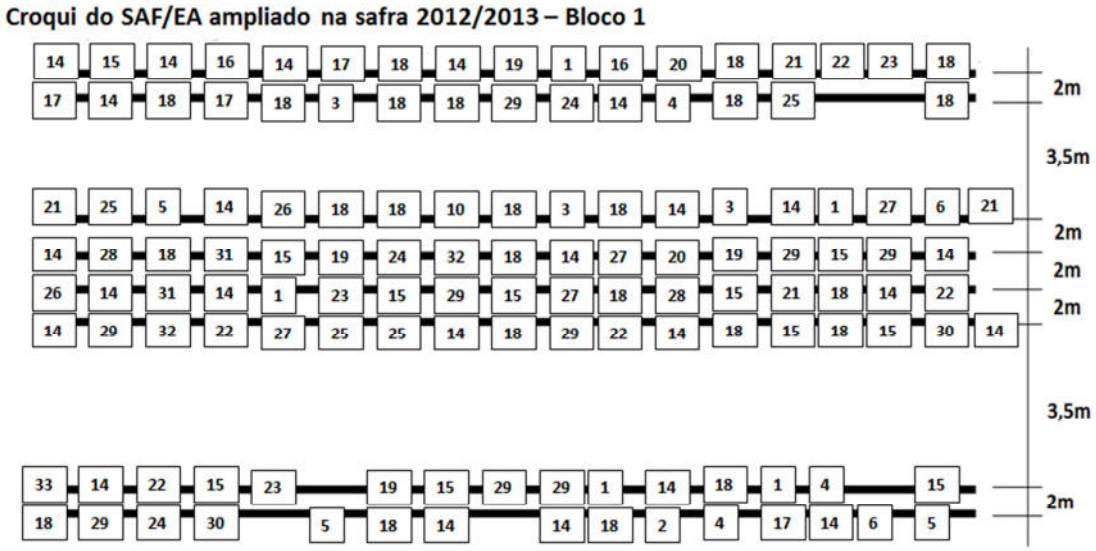


Figura 3. Disposição das espécies no SAF, bloco 1.

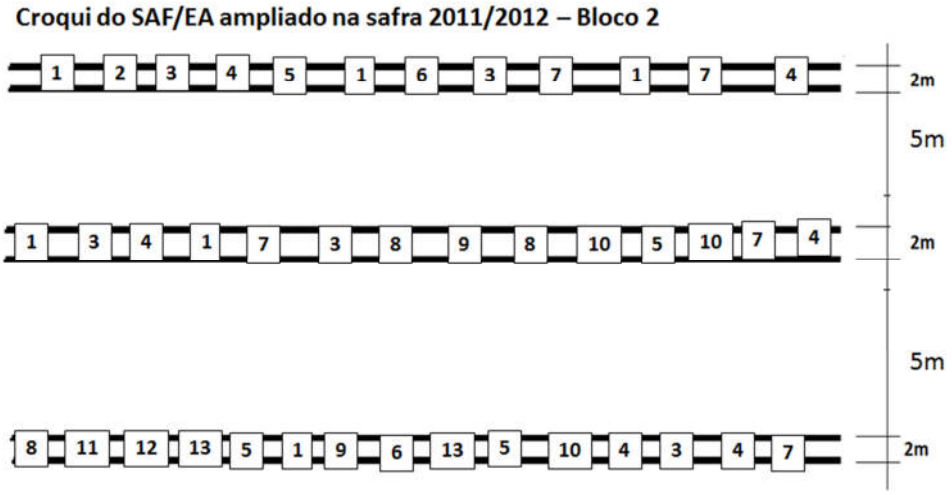


Figura 4. Disposição das espécies no SAF, bloco 2.

Tabela 1. Descrição das espécies que compõe o SAF da EA, com respectiva numeração de correspondência nas Figuras 3 e 4.

Código	Nome Comum	Nome Científico
1	Angico	*Anadenthera colubrina*
2	Pau-Brasil	*Caesalpiniaechinata*
3	Amora	*Morus nigra*
4	Jatobá	*Hymenaeastigonocarpa*
5	Acerola	*Malpighiaemarginata*
6	Tamarindo	*Tamarindus indica*
7	Pingo-de-ouro	*Duranta repens aurea*
8	Flamboyant	*Delonix regia*
9	Limão	*Citrus limon L.*
10	Goiaba	*Psidiumguajava* L.
11	Mamão	*Carica papaya*
12	Será plantada	
13	Paineira-rosa	*Ceiba speciosa*
14	Banana-maçã	*Musa acuminata*
15	Aroeira	*Myracrodruonurundeuva*
16	Mogno	*Swieteniamacrophylla*
17	Graviola	*Annonamuricata*
18	Caju	*Anacardiumhumile*
19	Ipê-verde	*Cybistaxantisyphilitica*
20	Guatambu	*Aspidospermaparvifolium*
21	Manga	*Mangifera indica* L.
22	Tamboril	*Enterolobiumcontortisiliquum*
23	Ipê-rosa	*Tabebuia avellanedae*
24	Mangaba	*Hancorniaspeciosa*
25	Cagaita	*Eugenia dysenterica*
26	Tento	*Adenantherapavonina*
27	Neem	*Azadirachta indica*
28	Pêra-do-cerrado	*Eugenia klotzchiana Berg*
29	Baru	*Dipteryxalata*
30	Coqueiro	
31	Abricó-de-macaco	*Couroupitaguianensis*
33	Pimenta	*Capsicum spp.*

Para alcançar os objetivos do presente estudo, foram elaboradas tabelas contendo a descrição das atividades realizadas no SAF, as quantidades e custo unitário de cada atividade, bem como das mudas plantadas na área durante o período de desenvolvimento do SAF.

Os itens descriminados correspondem à implantação da unidade, ou seja, o ano zero. Com a quantidade de cada item e o valor de cada operação chegou-se a um valor relativo que descreve quanto foi gasto com cada atividade. Considera-se que o período zero é o mais oneroso ao produtor, visto que não há receita. Outra tabela foi dividida em dez períodos (de 0 a 9), onde estão descritas as culturas, e os respectivos períodos aonde se espera a sua produção no SAF.

Depois, uma terceira tabela apresenta a produção esperada de cada cultura, quantificação da produção e receita bruta esperada. Uma quarta tabela mostra o fluxo de caixa do SAF, descrevendo o valor de custeio de cada período, (de zero a nove), associado a sua receita bruta, indicando, assim, o lucro resultante esperado.

Para difundir as técnicas de desenvolvimento sustentável para o cerrado e alternativas à agricultura tradicional foram plantadas no SAF espécies madeireiras nativas do cerrado como angico (*Anadenthera colubrina*), guatambu (*Aspidospermaparvifolium*), aroeira (*Myracrodruonurundeuva*), tento (*Adenantherapavonina*) e ipê (*Tabebuia avellanedae*). A implantação dessas árvores em SAF'spodem ser usadas tanto para a preservação das espécies como potenciais madeiras para o mercado. Além disso, foram plantadas frutíferas do cerrado como cajuzinho do campo (*Anacardiumhumile*), pêra do cerrado (*Eugenia klotzchiana* Berg), baru (*Dipteryxalata*), cagaita (*Eugenia dysenterica*) e mangaba (*Hancorniaspeciosa*).

Todas as análises foram realizadas concomitantemente à manutenção da unidade experimental e atuação em outras linhas de pesquisa associadas ao SAF/EA/UFG, visando o monitoramento da unidade experimental.

3 Resultados e Discussão

Para estimar a rentabilidade do SAF/EA/UFG, foram feitas tabelas utilizando-se preços mais comuns encontrados no mercado, tanto de aquisição de bens e serviços, quanto preço de venda de produtos. As produtividades utilizadas nas tabelas foram oriundas de informações mais frequentemente obtidas. Porém, nas pesquisas realizadas, a grande maioria dos dados de produtividade encontrados eram em toneladas/hectare ou kilos/hectare o que realmente não é aplicável à SAF's, porque quando se trata de sistemas dessa natureza não se tem a mesma cultura plantada em um hectare, ou não se tem o mesmo espaçamento comumente usado. Pelo contrário, a diversificação é o grande diferencial destes,

impossibilitando assim, a utilização de valores em produção/hectare.

Foi detectado, assim, que pesquisas em termos de produção por planta é escassa, por exemplo, não se encontra a produção em kilos/planta ou quantidade/planta o que torna o trabalho de avaliação econômica de SAFs um pouco mais complexo. O trabalho com SAFs é pouco utilizado entre produtores justamente pela dificuldade de lidar com a grande variedade de plantas implantadas.

Para divulgar o trabalho com SAF é preciso mostrar que estes podem sim ser lucrativos, e para isso pesquisas com produtividade tendo cada planta como uma unidade devem ser realizadas e, a partir disso, extrapolar resultados para extensões maiores de terra. Sendo assim o agricultor poderia prever a quantidade produzida a partir da quantidade de plantas que este possui em seu SAF.

A seguir são apresentadas as descrições das atividades realizadas no SAF, bem como a quantidade e o custo unitário de cada uma (Tabela 2), a projeção de produção das culturas estabelecidas no SAF para um período de 10 anos (Tabela 3), a produção esperada de cada cultura, a quantidade da produção e receita bruta esperadas (Tabela4) e a estimativa do fluxo de caixa do SAF (Tabela 5).

Pensando na difusão de alternativas à agricultura tradicional, bem como auxiliar o produtor à realizar a avaliação econômica de um SAF, é que foram elaboradas as tabelas 2 a 5. Para utilizá-las basta que o produtor digite os dados de entrada (valores mais comuns das atividades praticadas no mercado ou por ele já realizadas).

Avaliações econômicas feitas de modo elaborado, baseadas em conceitos de Administração são muito importantes nos dias atuais quando produtores têm suas propriedades como empresas. Porém, um produtor não pode levar em consideração trabalhos realizados em outros estados, ou até mesmo em outras partes do estado. Além do mais, as avaliações econômicas com taxas de TIR e VPL podem ser muito importantes para profissionais da área, porém em geral não tem uma aplicação simples e prática para o dia a dia dos agricultores.

Tabela 2. Descrição das atividades com quantidade e custo unitário de cada uma, onde: (1) Custo/Unidade, R$; (2) Quantidade/SAF/ano; (3) Custo/SAF/ano, R$; (4) Custo/ha/ano, R$; (5) Ano; (6) Custo SAF/10 anos; (7) Custo/ha/10 anos.

Atividade	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Roçagem (hora/homem) linha	10	8	80	1230,4	0,1,2,3,4,5,6,7,8,9	800	12304
Aração (hora/máquina) área agricultável	80	0,5	40	615,2	0,1,2,3,4,5,6,7,8,9	400	6152
Aplicação de calcário (hora/máquina) área agricultável	80	0,5	40	615,2	0,3,6,9	160	2460,8
Nivelação (hora/máquina) área agricultável	80	0,5	40	615,2	0,1,2,3,4,5,6,7,8,9	400	6152
Aplicação de adubação (hora/homem) linhas	10	3	30	461,4	0,3,6,9	120	1845,6
Aplicação de adubação (hora/maquina) área agricultável	80	0,5	40	615,2	0,3,6,9	160	2460,8
Calcário (t)+Frete	80	0,5	40	615,2	0,3,6,9	160	2460,8
Adubação orgânica (tonelada)	25	2	50	769	0,1,2,3,4,5,6,7,8,9	500	7690
Abertura de covas (hora/homem)	10	16	160	2460,8	0	160	2460,8
Capina (hora/homem)	10	80	800	12304	0,1,2,3,4,5,6,7,8,9	8000	123040
Replantio (hora/homem)	10	3	30	461,4	1	30	461,4
Replantio Mandioca e Abacaxi (hora/homem)	10	8	80	1230,4	1,3,5,7,9	400	6152
Plantio da cultura (hora/homem)	10	8	80	1230,4	0,1,2,3,4,5,6,7,8,9	800	12304
Colheita da cultura (hora/homem)	10	8	80	1230,4	0,1,2,3,4,5,6,7,8,9	800	12304
Semente da cultura	0	0	0	0	0	0	0
Mudas							
Acerola	0	0	0	0	0	0	0
Amora	0	0	0	0	0	0	0
Angico	0	0	0	0	0	0	0
Aroeira	0	0	0	0	0	0	0
Banana -maça	0	0	0	0	0	0	0
Baru	0	0	0	0	0	0	0
Cagaita	0	0	0	0	0	0	0
Caju	0	0	0	0	0	0	0
Goiaba	0	0	0	0	0	0	0
Graviola	0	0	0	0	0	0	0
Guatambu	0	0	0	0	0	0	0
Jatobá	0	0	0	0	0	0	0
Limão	0	0	0	0	0	0	0
Mamão	0	0	0	0	0	0	0
Manga	0	0	0	0	0	0	0
Mangaba	0	0	0	0	0	0	0
Mogno	0	0	0	0	0	0	0
Neem	0	0	0	0	0	0	0
Pau-Brasil	0	0	0	0	0	0	0
Pêra-do-cerrado	0	0	0	0	0	0	0
Pimenta	0	0	0	0	0	0	0
Tamarindo	0	0	0	0	0	0	0
Tamboril	0	0	0	0	0	0	0
Tento	0	0	0	0	0	0	0
Total	**10**	**0**	**1590**	**24.454,2**		**12.890**	**198.248,2**

Tabela 3. Período de 10 anos (ano 0 a 9) com descrição das culturas e os respectivos períodos de produção no SAF.

Culturas	**Ano**									
	0	***1***	***2***	***3***	***4***	***5***	***6***	***7***	***8***	***9***
Abacaxi		x		x		x		x		x
Acerola			x	x	x	x	x	x	x	x
Amora		x	x	x	x	x	x	x	x	x
Angico										x
Aroeira										x
Banana		x	x	x	x	x	x	x	x	x
Baru						x	x	x	x	x
Cagaita				x	x	x	x	x	x	x
Caju				x	x	x	x	x	x	x
Guariroba			x							
Goiaba			x	x	x	x	x	x	x	x
Graviola				x	x	x	x	x	x	x
Guatambu										x
Jatobá										x
Limão			x	x	x	x	x	x	x	x
Mamão		x	x	x						
Mandioca		x		x		x		x		x
Manga						x	x	x	x	x
Mangaba					x	x	x	x	x	x
Mogno										x
Pau-Brasil										x
Pimenta	x	x	x							
Tamarindo					x	x	x	x	x	x
Tamboril										x
Tento										x

As tabelas podem servir apenas como uma ferramenta base. Porém, com as planilhas elaboradas o produtor pode realmente avaliar a situação em particular, podendo obter o custo total de produção com os preços de insumos e serviços locais e o lucro com os preços de mercado que o produtor acessa.

A planilha custo (Tabela 2) permite a inserção da quantidade em m² da área que será usada pelo produtor, essa área deve ser menor que 10000 m² (= um hectare). A partir disso, o agricultor poderá inserir o nome das atividades necessárias, o valor de cada uma por unidade de trabalho, e a quantidade de cada uma. Assim, nas colunas Custo aparecerá o custo do SAF e uma projeção para quantidade necessária para um hectare no mesmo ano. Além disso, permite a projeção de custo da área usada do SAF e da área de um hectare para um período de dez anos.

Tabela 4. Produção esperada de cada cultura, quantificação da produção e receita bruta esperada. (1) Cultura; (2) Produção; (3) Unidade; (4) Informação adicional; (5) Preço; (6) Unidade; (7) Tempo de produção (dentro de 10 anos); (8) Quantidade no SAF; (9) Quantidade em um hectare; (10) Receita Bruta SAF/ 10 anos; (11) Receita Bruta/ha/10 anos.

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
Abacaxi	1	unidade/planta	15 mil/frutos /ha	2,5	un	5	50	750	625	9375
Acerola	40	kg/planta/ano		1,2	kg	8	7	105	2688	40320
Amora	3,4	kg/planta/ano	8-16 ton/há por ano	1,2	kg	9	8	120	293,76	4406,4
Angico	5	m3/arvore	31.35m3/ ha/ano	245,83	m3	1	7	105	8604,05	129060,75
Aroeira		m3/arvore	5.5m3/ha /ano		m3	1	11	165	0	0
Banana-nanica	30	kg/touceira/ano	25-30 ton/ha. 4444 covas/ha. 15kg/cacho. Cada touceira 1-2 cachos por ano	1,33	kg	9	25	375	8977,5	134662,5
Baru						5	9	135	0	0
Cagaita	7	kg/planta/ano	500 frutos/arvore. 10g/fruto	1,5	kg	5	4	60	210	3150
Caju	5	kg/castanha/planta	1500kg castanha por ha	1,5	kg	7	26	390	1365	20475
Goiaba	120	kg/planta/ano	10-15 ton/ha	2,1	kg	8	4	60	8064	120960
Graviola	40	kg/planta/ano	10 ton/ha	2,5	kg	7	4	60	2800	42000
Guatambu		m3/arvore			m3	1	2	30	0	0
Ipe		m3/arvore		600	m3		7	105	0	0
Jatobá		m3/arvore		476	m3	1	10	150	0	0
Limão	80	kg/planta/ano		1,5	kg	8	2	30	1920	28800
Mamão	10	kg/planta/ano	10-12 ton/ha. Fruta 500g	1	kg	3	2	30	60	900
Mandioca	1,5	kg/planta/ano	15-20 ton/ha	0,6	kg	5	100	1500	450	6750
Manga	25	kg/planta/ano	15-20 ton 4th e 5th ano 25ton/ha 6th ano	2,08	kg	5	2	30	520	7800
Mangaba		kg/planta/ano	9ton/ha	1,2	kg		3	45	0	0
Mogno		m3/arvore	160 m3 de madeira serrada/ha	1130	m3	1	2	30	0	0
Pimenta	2	kg/planta/ano	10-30ton/ha	1,5	kg	3	30	450	270	4050
Tamarindo	150	kg/planta/ano	12-18 ton/ha	2	kg	6	9	135	16200	243000
Tamboril		m3/arvore		222,5	m3	1	2	30	0	0
Tento					m3	1	2	30	0	0

A planilha Receita Bruta, ilustrada na Tabela 4, permite a inserção do nome da cultura plantada, a quantidade produzida por planta (somente números) e a unidade de produção. Na coluna preço o agricultor pode inserir o preço de venda que ele consegue acessar em sua região/cidade. Na coluna "Tempo de Produção (dentro de 10 anos)" permite ao produtor inserir por quantos anos dentro de 10 anos, determinada cultura irá produzir. Na coluna "Quantidade no SAF" o produtor pode inserir quantas plantas da mesma espécie ele plantou em sua área. A parte da inserção desses valores o produtor terá a estimativa da quantidade da mesma espécie em um hectare, e consequentemente a receita bruta do SAF em dez anos e a extrapolação de um hectare por um período de dez anos.A Tabela 5 mostra o lucro esperado pelo produtor, que está associada aos valores de custo da Tabela 2 e de ganho da Tabela 4, dando assim, o lucro esperado para o agricultor.

Tabela 5. Fluxo de caixa do SAF, valor de custeio associado a sua receita bruta e assim ao lucro resultante esperado.

Fluxo de Caixa	**SAF/10anos**	**ha/10anos**
Custo	12890	198242,2
Receita Bruta	53047,31	795709,65
Lucro	40157,31	597467,45

As frutíferas cultivadas no SAF podem ser amplamente utilizadas na produção de geléias, polpa de frutas para suco, licores, sorvetes, doces ou produção de castanhas e barras de cereais. Apesar de possuírem um alto valor nutritivo e serem de fácil crescimento em solos do Cerrado,existem poucas pesquisas em relação à domesticação das frutíferas do Cerrado brasileiro. Essas espécies ainda não possuem um mercado estabelecido, sendo atualmente mais utilizadas por algumas cooperativas que possuem como objetivos a preservação do Cerrado ou se utilizam destas para a produção de geléias.

Como exemplo do potencial das frutíferas do Cerrado temos a empresa Frutos do Brasil, inicialmente chamada Frutos do Cerrado que acreditou no potencial destes frutos criando picolés e sorvetes das mais variadas frutíferas do Cerrado. Como dito nas palavras do fundador da empresa Clóvis José de Almeida *Eu quero que você conheça o murici, o araticum e o araçá! São sabores da natureza. São frutas encontradas em locais ainda não desmatados pelo homem. É do Cerrado que elas vêm e é dele que veio a nossa história e a nossa inspiração*".

Durante o desenvolvimento do presente projeto, diversos alunos e estagiários de diferentes unidades (Agronomia, da Engenharia Florestal, da Biologia e do Instituto de

Estudos Sócio-Ambientais, Coordenação de Assuntos Internacionais) da UFG, bem como do Senai Roberto Mange, visitaram o SAF da EA/UF (Figura 5), visando a capacitação desses alunos como multiplicadores de conhecimento junto à produtores, técnicos e extensionistas.



Figura 5. Alunos de diferentes unidades acadêmicas participando das atividades relativas ao presente projeto. Foto do autor.

Considerando que um dos objetivos do trabalho era monitorar o SAF demonstrativo inicialmente instalado na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, diversos trabalhos foram feitos no SAF com o intuito de continuar e preservar a respectiva área experimental, tais como: adubação orgânica, produção e plantio de mudas, medição da área, replantio de mudas, implantação da cultura do feijão azuki, capinas, combate a formigas. No início do trabalho o SAF não possuía uma cultura implantada e não tinha a variedade de espécies que existe hoje (Figura 6).



Figura 6. Diversidade de espécies no SAF. Foto do autor.

4 Conclusões

O presente trabalho mostrou que existe um déficit de pesquisa em relação à produtividade por planta o que é essencial para estudos de avaliação econômica de sistemas agroflorestais. Além disso, uma área de 650 m² de sistema agroflorestal orgânico contendo uma variedade de nativas do Cerrado pode possibilitar um lucro em dez anos de R$ 40.157,31 e que uma área de um hectare (10.000 m²) com a mesma estrutura possibilitaria um lucro em dez anos de R$ 597.401,96. Sendo assim a rentabilidade econômica de sistemas agroflorestais foi confirmada.

5 Referências

BENTES-GAMA, M. de M.; SILVA, M. L. da; VILCAHUAMAN, L. J. M.; LOCATELLI, M.. Análise econômica de sistemas agroflorestais na Amazônia ocidental, Machadinho d'Oeste-RO. Revista Árvore, v. 29, n. 3, p. 401-411, 2005.

DA CROCE, D. M. A pesquisa em sistemas agroflorestais no estado de Santa Catarina. Embrapa Florestas- CNPF. Documentos, 26. Nov. 1996.

PASSOS, C.A.M,; COUTO, L. Sistemas agroflorestais potenciais para o Estado do Mato Grosso do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE SISTEMAS FLORESTAIS PARA O MATO GROSSO DO SUL, 1., 1997, Dourados. Resumos. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1997. P. 16-22. (EMBRAPA-CPAO. Documentos,10).

RODRIGUES, E.R.; CULLEN L.JR.; BELTRAME T.P.; MOSCOGLIATO A.V.; SILVA, I.C.. Avaliação econômica de sistemas agroflorestais implantados para recuperação de reserva legal no Pontal do Paranapanema, São Paulo. Revista Árvore, v. 31, n. 5, p. 941-948, 2007.

SALGADO, B.G. Caracterização de sistemas agroflorestais com cafeeiro em Lavras - MG. 2004. 115f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SALGADO, B.G.; MACEDO, R.L.G.; ALVARENGA, M.I.N.; VENTURIN, N. Avaliação da fertilidade dos solos de sistemas agroflorestais com cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em Lavras-MG. Revista Árvore, Viçosa-MG, v.30, n.3, p.343-349, 2006.

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DE LÂMINAS REFERENTES A CICATRIZES DE RATAS COM SUTURAS COM COLA 2-ETIL-CIANOACRILATO E COM FIO DE NYLON 4-0

Universidade Federal de Goiás – Faculdade de Medicina

Juliana Silva Dias[1]; Régis Resende Paulinelli[2]

[1]Acadêmica – Faculdade de Medicina – UFG; [2] Orientador

juliana.s.dias@hotmail.com

RESUMO

As vantagens dos cianoacrilatos em síntese cutânea têm sido sobejamente demonstradas na literatura. Entretanto, esses produtos têm sido subutilizados no Brasil, em decorrência dos elevados custos dos mesmos. Ademais, a forma mais economicamente acessível, etilcianoacrilato, tem sido pouco estudada como adesivo cutâneo. O objetivo deste estudo foi histo-patologicamente 90 lâminas, qualitava e quantitativamente, referentes à cicatrizes de ratas que sofreram incisões e tiveram fechamento do corte com o 2-etil-cianoacrilato, 2-octil-cianoacrilato e de ratas que foram suturadas com fio monofilamentar de nylon 4-0 . Em relação à sutura com fio de nylon 4-0, as colas de cianoacrilatos mostraram semelhante eficiência e mesmo índice de complicações nesse estudo, o que viabiliza seu uso em fechamento de feridas operatórias tanto quanto a primeira.

PALAVRAS-CHAVE: cicatrizes, ratas, sutura, 2-etil-cianoacrilato, 2-octil-cianoacrilato, nylon 4-0

1. INTRODUÇÃO

A sutura é o fechamento de uma incisão, cujo objetivo é restituir a forma e função do tecido após um procedimento operatório. As técnicas mais comuns em cirurgia são as que utilizam linhas, grampos e esparadrapos cirúrgicos. O material utilizado no procedimento de sutura, por mais fino que seja, gera inevitavelmente uma reação devido à presença do corpo estranho no tecido, o que pode levar a complicações além de deixar marcas e cicatrizes na

pele. Devido aos vários problemas associados ao procedimento de sutura, pesquisadores e cirurgiões são motivados a buscar técnicas que diminuam a reação tecidual e que sejam menos traumáticas, mais rápidas e mais simples. Essa busca é ainda intensificada por influência dos usuários finais, que geralmente optam por procedimentos que deixem poucas marcas e cicatrizes (MATSUMOTO; T, 1967).

A evolução dos materiais de síntese culminou com o uso de colas para o fechamento da pele que, além da proposta de redução no tempo cirúrgico (GÓES; CHFS, ARANTES; HL, KAWASAKI; M, 2002) traz consigo a facilidade de manuseio (GOROZPE-CALVILLO; JI, GONZÁLEZ-VILLAMIL; J, SANTOYO-HARO; S, CASTANEDA-VIVAR; JJ, 1999) e menor manipulação das bordas da ferida, uma vez que é a sutura da pele a grande responsável pela preensão mais forte das bordas da ferida com pinças (GRECO JR; JB, CARMO; VM, LOPES FILHO; AL, 2000).

Atualmente existem algumas colas biológicas sintéticas no mercado, sendo as mais utilizadas derivadas do cianoacrilato, sintetizado na década de 50, que é um etil-éster do ácido 2-cianoacrílico que se cura (polimerização aniônica) ao entrar em contato com a umidade do ar (MC DOWELL F, 1977).

O cianoacrilato foi sintetizado em 1949 e o seu uso como cola cirúrgica teve suas primeiras publicações na década de 60, inclusive avaliando-se seu potencial carcinogênico. Em 1981, foi usado com sucesso no fechamento de blefaroplastias.Posteriormente, vários estudos foram realizados, demonstrando também o efeito antibacteriano desta substância. Em nosso meio, Greco Jr. et al., Caloi e Manganello-Souza estudaram a eficiência deste produto na cirurgia plástica (REITER D, 1995).

3. METODOLOGIA

Foram utilizadas 30 ratas adultas para experimento de comparação entre fechamento de incisões de pele e de sutura intradérmica com cola 2-etil-cianoacrilato, cola 2-octil-cianoacrilato e com fio de nylon 4-0. Foram realizadas três incisões no dorso das ratas, de modo que a incisão central sitou-se na linha mediana. Foi utilizado no fechamento de uma das incisões do dorso da rata, segundo a randomização, o 2-etil-cianoacrilato, com nome comercial de Super Bonder® Flex Gel (Loctite®), em uma camada fina, única, estendendo-se

por toda a incisão e ultrapassando um milímetro suas margens. Trata-se de um adesivo em forma de gel, com uso indicado para materiais flexíveis, cuja formulação apresenta-se em uma bisnaga plástica contendo 3 g de gel adesivo, com um bico aplicador fino, que será esterilizada em óxido de etileno. Quando aplicado na pele, o gel polimeriza (seca), criando assim um forte poder de adesão. O tempo de adesão é influenciado pela temperatura e umidade e é medido em segundos por ser muito rápido.

Nas outras incisões do dorso foram realizadas fechamento com a cola 8-octil-cianoacrilato e sínteses com fio monofilamentar de nylon 4-0 preto da Ethicon® (Johnson & Johnson®), com agulha triangular de 20 mm, em sutura intradérmica, deixando-se suas extremidades livres, e com seis pontos simples com nó externo, equidistantes cinco mm entre si, sendo um nó duplo seguido de dois nós simples (controle), obedecendo-se à ordem do sorteio prévio. Os fios foram removidos da pele no sétimo dia pós-operatório. Quarenta dias após os procedimentos, as ratas foram anestesiadas e sacrificadas e as cicatrizes foram ressecadas com margem de 2 mm, sendo o material fixado em formol a 10% e enviado para um médico patologista participante do estudo.

As cicatrizes cirúrgicas ressecadas foram enviadas ao médico patologista, pertencente ao estudo, com a descrição de seu posicionamento no dorso, sem que o médico soubesse qual método foi utilizado no fechamento da pele em cada incisão. O material foi, incluído em parafina, cortado na espessura aproximada de 6 micras, corado (hematoxilina-eosina) e analisado no microscópio óptico.

Foram analisadas e anotadas em folha própria as seguintes características:

- Quantidade em porcentagem de colágeno;

- Reação inflamatória: quantidade de células inflamatórias na periferia da área analisada (infiltrado inflamatório).

Os dados foram anotados em um banco de dados Dbase III+ e duplamente digitados. Os dados paramétricos foram comparados através do teste de *t* de Student e os dados não paramétricos foram analisados em tabelas de contingência, pelo método do qui-quadrado. As variáveis não-paramétricas foram analisadas pela mediana e pelo teste de Wilcoxon, utilizando-se também gráficos de dispersão. Foi considerado significativo $p<0,05$.

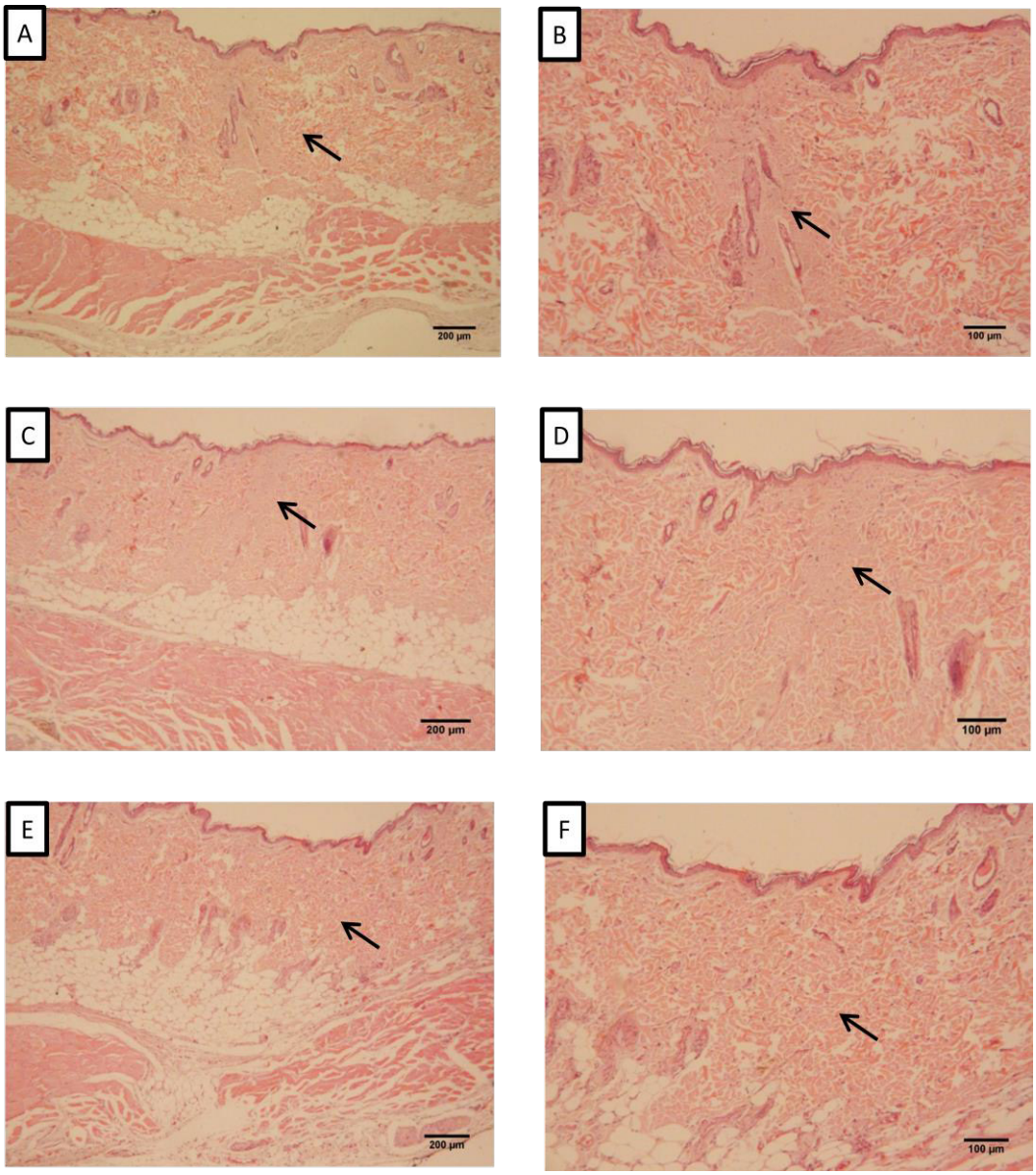
4. RESULTADOS

Foram analisadas em microscópio óptico as lâminas contendo as incisões com os três tipos de fechamentos (sutura com fio nylon 4-0, sutura com cola 2-etil-cianoacrilato e sutura com cola 2-octil-cianoacrilato) quanto aos seguintes critérios patológicos: infiltrado mononuclear, granuloma e angiogênese. A tabela abaixo mostra a quantidade de cada um desses itens em cada tipo de fechamento, na escala de 0 a 2, sendo 0 ausente, 1 discreto e 2 moderado.

INFILTRADO MONONUCLEAR			GRANULOMA			ANGIOGÊNESE		
ETIL	OCTIL	SUTURA	ETIL	OCTIL	SUTURA	ETIL	OCTIL	SUTURA
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1
1	0	0	0	0	0	1	0	1
0	0	0	0	0	0	1	1	0
1	2	1	0	0	0	1	1	1
0	0	1	0	0	0	1	0	1
0	1	1	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	1	1	0
2	0	1	0	0	0	1	0	1
0	0	0	0	0	0	1	1	0
0	0	1	0	0	0	0	1	0
1	0	1	0	0	0	1	1	1
0	1	1	0	0	0	1	0	1
2	2	1	0	0	0	2	1	0
0	2	2	0	0	1	1	0	1
2	2	2	0	1	0	1	1	1
0	1	1	1	0	0	0	1	0

1	1	1	1	0	0	0	0	1
1	2	0	1	0	0	0	1	0
1	1	1	0	0	0	1	0	1

A figura abaixo mostra fotomicrografias da fase proliferativa da regeneração da pele de ratas 40 dias após incisão e submetidas aos diferentes tipos de fechamentos.



Fotomicrografia da fase proliferativa da regeneração da pele de ratas 40 dias após incisão e submetidas a diferentes tratamentos: Em (A) sutura com área de reepitelização e remodelação da derme, (B) detalhe da figura anterior destacando a região de fibrose; (C) Etil com área de reepitelização e remodelação da derme (D), detalhe da figura anterior destacando a região de

fibrose; (D) octil com área de reepitelização e remodelação da derme, (E) detalhe da figura anterior destacando a região de fibrose.

Analisou-se também as microfotografias realizadas dos três tipos de fechamentos de diferentes animais, quanto a porcentagem de colágeno presente em cada uma, obtendo-se como resultados, a tabela abaixo:

PORCENTAGEM DE COLÁGENO (%)			
MICROFOTOGRAFIAS	ETIL	OCTIL	SUTURA
LÂMINA 1	31,2	63,1	67,1
LÂMINA 2	52,9	49,2	41,6
LÂMINA 3	46,9	39,3	43,8
LÂMINA 4	35,5	49,3	34,3
LÂMINA 5	41,8	53,9	45,9
LÂMINA 6	60,9	54,5	33,3
LÂMINA 7	74,9	56,3	46,8
LÂMINA 8	64,9	34,7	73,6
LÂMINA 9	71,3	68,7	62,6
LÂMINA 10	69,1	69,4	20,4
LÂMINA 11		83,8	4,2

5. DISCUSSÃO

O estudo para avaliar os diferentes tipos de fechamentos de feridas operatórias é muito importante em se tratando tanto de avaliar a escolha a ser utilizada para uma melhor cicatrização, em questão qualitativa de conteúdos histopatológicos (como colágenos, infiltrados, angiogêneses) e quanto ao custo-benefício dos produtos a serem utilizados.

No processo de reparação tecidual, a regeneração e a cicatrização devem ser consideradas como eventos distintos, que agem em conjunto a fim de restaurar a estrutura

anatômica e a função da região afetada. Este fenômeno envolve vários fatores e o desequilíbrio ou a ausência de compostos histopatológicos, principalmente os envolvidos na formação do colágeno, compromete o resultado final da cicatrização, o que torna o estudo valioso para se avaliar qual o melhor método de fechamento de ferida operatória.

Fatores que afetam a cicatrização vêm sendo pesquisados continuamente. Embora existam diversos estudos experimentais sobre a relação entre a cicatrização com as colas biológicas e com a sutura, a multiplicidade metodológica dificulta sua avaliação.

Os dados do presente trabalho indicam que, apesar de as colas demorarem mais para conferir uma resistência adequada à cicatriz e também provocarem uma inflamação maior na primeira semana, após 21 dias, a cicatrização da pele não foi diferente com os três métodos, do ponto de vista patológico. O resultado pôde ser comprovado microscopicamente com os dados obtidos analisados através teste de *t* de Student e do método do qui-quadrado. Na terceira semana todas as feridas encontravam-se no mesmo estádio cicatricial, ou seja, na fase de maturação, mostrando tecido conectivo bem formado e rico em fibras colágenas ordenadas, estado do qual foram retiradas as lâminas analisadas.

É interessante destacar que nenhum animal desenvolveu infecção de ferida operatória, excluindo-se assim qualquer possibilidade alteração do material devido a fatores externos. Atribuímos esse fato à resistência natural dos ratos aliada aos cuidados de anti-sepsia operatória e aos curativos pós-operatórios diários. A provável ação anti-séptica das colas biológicas podem ter contribuído para manter a ferida limpa, mas é importante ressaltar que os retalhos suturados também não tiveram infecção.

As cicatrizações não tiveram diferenças significativas quanto aos processos patológicos como infiltrado mononuclear, granulomas e angiogênese, como analisado no estudo, o que demonstra histopatologicamente o mesmo índice de processo inflamatório.

A porcentagem de colágeno foi equivalente nas cicatrizações dos três diferentes tipos de materiais utilizados, o que corrobora com o resultado obtido da análise dos processos patológicos quanto a semelhante eficiência dos três métodos de fechamento.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados do presente trabalho em ratos, as colas biológicas parecem ser, a médio prazo, uma alternativa para a síntese de feridas cutâneas tão boa quanto a sutura, não

havendo também diferenças significativas entre os dois tipos de colas. Não houve diferenças histopatológicas relevantes entre os diferentes materiais utilizados.

7. BIBLIOGRAFIA

1. BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. Brasilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v.41, n.1, jan./mar., 2005.

2. FREITAS-JUNIOR, R; PAULINELLI, RR; RAHAL, RM; MOREIRA, MA; OLIVEIRA, EL; AIKO, KF; APPROBATO, MS. The use of 2-octyl cyanoacrylate or nylon suture for skin closure produces similar modifications in scar tissue (an animal model). J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2008 Aug;61(8):990-2.

3. GÓES, C.H.F.S.; ARANTES, H.L.; KAWASAKI, M.C. Princípios básicos da técnica em cirurgia plástica. In: Mélega JM, editor. Cirurgia plástica fundamentos e arte – princípios gerais. Rio de Janeiro: Medsi 2002. p. 25-37.

4. GOROZPE-CALVILLO, J.I.; GONZÁLEZ-VILLAMIL, J.; SANTOYO-HARO, S.; CASTANEDA-VIVAR, J.J.. Closure of the skin with cyanoacrylate in cesarean section. Ginecol Obstet Mex. 1999; 67: 491-6.

5. GRECO JR, J.B.; CARMO, V.M.; LOPES FILHO, A.L.Uso do 2-octil-cianoacrilato em síntese tecidual: estudo experimental em camundongos. Rev Soc Bras Cir Plast. 2000;15(2):47-54.

6. MATSUMOTO, T. Carcinogenesis and cyanoacrylate adhesives. JAMA. 1967;202(11):1057.

7. MC DOWELL F. The Source Book of Plastic Surgery. Baltimore: Williams and Wilkins Company, 1977.

8. MÉLEGA, J.M.; FREITAS, A.G. Biologia da Cicatrização. In: Mélega JM, editor. Cirurgia plástica fundamentos e arte – princípios gerais. Rio de Janeiro: Medsi 2002. p. 9-14.

9. REITER; D. Methods and materials for wound closure. Otolaryngol Clin North Am.1995; 285: 1069.

10. ROCHA JÚNIOR, A.M.; ANDRADE, L.C.F.; OLIVEIRA, R.G.; AERESTRUP, F.M.; FARIAS, R.E. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. An. Bras. Dermatol. 2006, 81(2): 150-6.

11. TROT, A.T. Cyanoacrylate tissue adhesives – an advance in wound care. JAMA. 1997; 277(19): 1559-60.

12. UEDA, E.L.; HOFLING-LIMA A.L.; SOUSA L.B. ET al. Avaliação de um cianoacrilato quanto à esterilidade e atividade biocida. Arq Bras Oftalmol. 2004; 67: 397-400.

PREVALÊNCIA DE SINAIS E SINTOMAS DE DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS EM ASSENTADOS DA REGIÃO SUDOESTE DE GOIÁS

Juliana Stéphani de Santana Alcântara Crispim[1], Rafael Alves Guimarães[2], Sheila Araujo Teles[3]

[1]Orientanda. Acadêmica de Enfermagem; [2]Acadêmico de Enfermagem; [3]Orientadora. Doutora em Ciências Parasitárias, Professora Associada da Faculdade de Enfermagem

Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Enfermagem

CEP 74605-080, Goiânia, GO, Brasil

e-mail: ju_step@hotmail.com; sheila.fen@gmail.com

Resumo

Para estimar a prevalência e fatores de risco associados ao relato de sinais e sintomas de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) em assentados de Jataí e Perolândia, Goiás, foram entrevistados 377 indivíduos de maio de 2011 a julho de 2012. Um roteiro estruturado foi utilizado para coleta de dados sóciodemográficos, clínicos e comportamentais dos assentados. Foi considerado DST o relato de corrimento uretral ou vaginal e/ou ferida/úlcera na genitália nos últimos 12 meses. Do total de participantes, 77 (20,4%) relataram antecedentes de sinais e/ou sintomas de DST, sendo que 17,6% referiram corrimento vaginal ou uretral e 7,5% ferida/úlcera na genitália. Verificou-se uma proporção maior de sinais/sintomas de DST em indivíduos do sexo feminino ($p < 0,001$), com idade superior a 20 anos ($p < 0,01$) e história de acampamento ($p < 0,05$). Os resultados deste estudo sugerem uma elevada prevalência de DST nos indivíduos investigados. Contudo, mais estudos são necessários para avaliar a real dimensão destas infecções nesta população rural emergente.

Palavras-chave: Doenças Sexualmente Transmissíveis; Abordagem Sindrômica; Assentados.

Revisado pelo Orientador.

1 INTRODUÇÃO

As Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) representam um grave problema de saúde pública em todo mundo (LOW et al., 2006; BRASIL, 2012). Estima-se que ocorram anualmente, cerca de 340 milhões de novos casos de DST, sendo de 10 a 12 milhões no Brasil (WHO, 2001).

Essas doenças causam diversas consequências, como infertilidade, incapacidades e morte, além da transmissão vertical, determinando abortos espontâneos, infecções congênitas e perinatais. Ainda, essas infecções aumentam o risco para aquisição e transmissão do vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (ELEY et al., 2005; JUNIOR; SHIRATSU; PINTO, 2009).

Uma estratégia de identificação das DST é a *Abordagem Sindrômica* (AS) que define o tratamento dessas doenças pelo conjunto de sinais e sintomas, e não a partir de exames complementares, possibilitando uma maior cobertura da população e interrupção mais rápida da cadeia de transmissão. Essa abordagem apresenta-se como uma alternativa viável e de baixo custo para estudos epidemiológicos, principalmente em países em desenvolvimento, ma vez que possibilita a identificação de casos sintomáticos (RAY et al., 2009; ADAMS et al., 2003; CLARCK et al., 2009; CARRET et al., 2004).

De acordo com esta estratégia, os sinais e sintomas de DST podem ser agrupados em quatro síndromes: a) síndrome do corrimento vaginal, caracterizado, por corrimento vaginal, prurido, disúria, dispareunia, edema e hipermia de vulva; b) síndrome do corrimento uretral, cujos sinais e sintomas mais comuns são o corrimento com odor fétido, prurido e polaciúria; c) síndrome da úlcera genital, caracterizado por úlceras e linfanopatia local ou generalizada e d) síndrome do desconforto ou dor pélvica, que se apresenta como sintomas dor ou desconforto pélvico, corrimento cervical, dispauneria e febre (BRASIL, 2012; MOHERDAUI, 2000).

No Brasil, ocorrem anualmente aproximadamente 1.967.200 de clamídia, 1.541.800 de gonorréia, 937.000 casos novos de sífilis, 685.400 de infecção pelo papiloma vírus humano (HPS) e 640.900 de herpes genital (WHO 2001). Contudo, estimativas sobre a epidemiologia das DST se baseiam frequentemente em dados oriundos de áreas urbanas (BRASIL, 2008; HERKENHOFF et al., 2012; BARBOSA et al., 2010; BARCELOS et al., 2008; CARRET et al., 2004).

Os assentados representam uma população rural emergente com características próprias e experiências prévias que os distinguem da população em geral (GIRARDI, 2008).

Estudos têm demonstrado que as famílias assentadas são numerosas, possuem baixa escolaridade e vivem em precárias condições de vida. Além disso, algumas viveram previamente em acampamentos, em condições que favorecem a ocorrência de doenças infecciosas e parasitárias (CARNEIRO et al., 2009; VEIGA; BURLANDY, 2001). Informações sobre DST nesta população inexistem.

Em Goiás, estima-se que existam aproximadamente 270 unidades de assentamentos (GIRARDI, 2008; MASCARENHAS, 2002). Assim, conhecer a distribuição de DST por meio de sinais e sintomas referidos pelos assentados pode possibilitar novos estudos e intervenções nesta população, que muitas vezes fica a margem dos serviços públicos de saúde.

2 OBJETIVO

Estimar a prevalência e fatores associados ao relato de sinais e sintomas de DST em assentados de Jataí e Perolândia, região sudoeste de Goiás.

3 METODOLOGIA

Estudo observacional, analítico, de corte transversal. A coleta de dados foi realizada de maio de 2011 a julho de 2012. A população constituiu-se de indivíduos dos assentamentos *Rio Claro, Santa Rita,Guadalupe, Terra e Liberdade (3T), Gurita, Lagoa do Bonfim e Três Pontes*, localizados no sudoeste de Goiás (municípios de Jataí e Perolândia). Esses assentamentos têm sido assistidos pela Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, por meio do Núcleo de Estudos, Pesquisa e Extensão em Agricultura Familiar (NEAF). Existem em média 17 famílias no Ast. Rio Claro, 23 famílias no Ast. Santa Rita, 53 famílias no Ast. Guadalupe, 85 famílias no Ast. Terra e Liberdade (3T), 61 famílias no Ast. Gurita, 87 famílias no Ast. Lagoa do Bonfim, 43 famílias no Ast. Três pontes. Foram critérios de inclusão para o estudo*:* ter iniciado atividade sexual e ser assentado. O critério de exclusão foi viver em assentamento há menos de seis meses.

Inicialmente foram feitas reuniões com os representantes dos assentamentos visando à apresentação do projeto e esclarecimento das dúvidas. Na ocasião foram pactuadas estratégias de mobilização e sensibilização dos assentados para participação no estudo.

Todos os participantes foram entrevistados em um local privativo, na sede dos assentamentos. Aqueles que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A seguir, todos foram entrevistados utilizando um roteiro estruturado, sobre características sóciodemográficas, comportamentos e fatores de risco para DST. Foi considerado como variável de desfecho, o relato de sinais e sintomas de DST (corrimento uretral ou vaginal e/ou feridas/úlceras na genitália) nos últimos 12 meses.

Os dados das entrevistas foram digitados em microcomputador e analisados em programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Foram calculadas frequências relativas e absolutas, mediana, média e desvio-padrão das variáveis categóricas e contínuas. Os testes de *t* de student, x^2 e *fisher* foram utilizados quando apropriados.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, protocolo n. 127/2010 e é financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), edital/chamada: edital MCT/CNPq 14/2010 – Universal – Faixa C, número do processo: 479148/2010-4.

4 RESULTADOS

Foram entrevistados 377 indivíduos de assentamentos do sudoeste de Goiás. As características sóciodemográficas dos participantes são apresentadas na tabela 1. Do total de participantes, a maioria possuía mais de 40 anos (63,7%) e era da cor parda (58,1%). Homens representaram 51,2% da população. Quanto à escolaridade, 43,8% dos indivíduos possuiam até quatro anos de estudo. O movimento social predominante foi a FETAEG – Federação dos Trabalhadores na Agricultura do Estado de Goiás (49,9%), seguida pelo Movimento Terra, Trabalho e Liberdade (25,7%). Aproximadamente 42,8% residiam nos assentamentos Guadalupe ou Gurita e 28,2% no assentamento Terra e Liberdade.

Tabela 1. Dados sóciodemográficos dos 377 indivíduos assentados de cidades do sudoeste de Goiás, 2011-2012.

Variável	N	%
Faixa etária		
14-20 anos	33	8,8
21-30 anos	42	11,1
31-40 anos	62	16,4
41-50 anos	85	22,5
51-60 anos	107	28,4
> 60 anos	48	12,8
Sexo		
Masculino	193	51,2
Feminino	184	48,8
Escolaridade		
<= 4 anos	165	43,8
5-8 anos	135	35,8
9-11 anos	67	17,8
>= 12 anos	10	2,8
Cor autodeclarada		
Branca	91	24,1
Preta	64	17
Parda	219	58,1
Outra	3	0,8
Movimento		
MST	6	1,6
FETAEG	188	49,9
MTL	97	25,7
SINTRAF	26	6,9
Outro	26	6,9
Sem informação	34	9
Assentamento[a]		
Santa Rita	41	10,9
Rio Claro	19	5,1
Guadalupe	80	21,3
Terra e Liberdade	106	28,2
Gurita	81	21,5
Lagoa do Bonfim	23	6,1
Três Pontes	26	6,9

[a]Sem informação para um participante.

Neste estudo, cerca de 7,5% dos assentados referiram antecedentes de ferida/úlcera na genitália e 17,6% relataram corrimento vaginal ou uretral. Considerando a presença de pelo menos um desses sintomas, a prevalência de sinais/sintomas de DST foi de 20,4% (Tabela 2).

Tabela 2. Sinais e/ou sintomas DST nos últimos 12 meses em 377 assentados de cidades do sudoeste goiano, 2011-2012.

Sinais de DST	Não (%)	Sim (%)	Não se lembra (%)
Ferida/úlcera na genitália	332 (92,2)	27 (7,5)	1 (0,3)
Corrimento pela vagina ou pênis[b]	290 (81,2)	63 (17,6)	4 (1,1)
Ferida/úlcera ou corrimento	300 (79,6)	77 (20,4)	-

aSem informação para 17 participantes.

bSem informação para 20 participantes.

Verificou-se uma proporção maior de sinais/sintomas de DST em assentados do sexo feminino (<0,001), com idade superior a 20 anos (<0,01) e com história de acampamento ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela3. Análise univariada dos fatores relacionados à presença de sinais e/ou sintomas de DST em 377 assentados de cidades do sudoeste de Goiás, 2011-2012.

Variável	Total	*Sinal de DST*		x^2	*P*
		Negativo (%)	Positivo (%)		
Sexo					
Feminino	184	122 (66,3)	62 (33,7)	39,0	< 0,001
Masculino	193	178 (92,2)	15 (7,8)		
Faixa etária					
14 -20 anos	33	30 (90,9)	3 (9,1)		
21-30 anos	42	33 (78,6)	9 (21,4)		
31-40 anos	62	39 (62,9)	23 (37,1)	17,45	< 0,01
41-50 anos	85	65 (76,5)	20 (23,5)		
51-60 anos	107	92 (86)	15 (14)		
> 60 anos	48	41 (85,4)	7 (14,6)		
História de Acampamento[a]					
Não	104	92 (88,5)	12 (11,5)		
Sim	272	207 (76,1)	65 (23,9)	7,05	< 0,01
Assentamento[a]					
Santa Rita	41	33 (80,5)	8 (19,5)	4,52	> 0,05
Rio Claro	19	15 (78,9)	4 (21,1)		
Guadalupe	80	63 (78,8)	17 (21,2)		
Terra e Liberdade	106	78 (73,6)	28 (26,4)		
Gurita	81	68 (84)	13 (16)		
Lagoa do Bonfim	23	20 (87)	3 (13)		
Três Pontes	26	22 (84,6)	4 (15,4)		
Consumo de álcool					
Sim	126	96 (76,2)	30 (23,8)	1,33	> 0,05
Não	251	204 (81,3)	47 (18,7)		
Tatuagem/*piercing* no corpo[b]					
Sim	19	15 (78,9)	4 (21,1)	0,005	> 0,05
Não	353	281 (79,6)	72 (20,4)		
Relação sexual homoafetiva[c]					
Sim	8	5 (62,5)	3 (37,5)		
Não	347	274 (79)	73 (21)	1,26	> 0,05
Frequência do uso do preservativo nos últimos 12 meses[d]					
Nunca	257	199 (77,4)	58 (22,6)	0,74	> 0,05
Raramente	55	45 (81,8)	10 (18,2)		
Sempre	38	31 (81,6)	7 (18,4)		

[a]Sem informação para um participante.
[b]Sem informação para quatro participantes.
[c]Sem informação para 22 participantes.
[d]Sem informação para 27 participantes.

5 DISCUSSÃO

No Brasil, ainda são poucos os estudos sobre as condições de saúde em populações de assentamentos (SANTOS, 2011; FERREIRA, 2007; CARNEIRO et al., 2008; CARNEIRO et al., 2009; VEIGA; BURLANDY, 2001), e este representa a primeira investigação sobre DST em população de assentados da Região Centro-Oeste.

No Brasil, o número de famílias assentadas cresce a cada dia e somente em 2012, 23.075 famílias receberam terra do INCRA (Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária) para moradia e trabalho e aproximadamente, 10% se instalaram em Goiás (BRASIL, 2013). Assim, torna-se pertinente a realização de inquéritos sobre a epidemiologia das DST em populações de assentamentos, uma vez que estes indivíduos possuem condições de saúde mais precárias em comparação com a população urbana (CARNEIRO et al., 2008).

Ferreira (2007), ao analisar as características sóciodemográficas de 200 indivíduos de um assentamento de Juruena, Mato Grosso, verificou uma predominância de mulheres (64%), adultos entre 32 e 59 anos (67%) e de assentados com baixa escolaridade (88,5%). Nesta investigação, houve uma proporção equilibrada quanto ao sexo masculino e feminino (52,2% *versus* 48,8%) e uma predominância de indivíduos com idade superior a 40 anos (63,7%), da cor parda (58,2%) e da com escolaridade menor que oito anos de estudo (79,6%).

Do total de assentados, 20,4% referiram a presença de sinais/sintomas de DST. A prevalência de DST varia conforme a população e localidade geográfica. Um estudo conduzido no Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, constatou que de 251 adolescentes de 12-19 anos, 31,1% eram portadoras de DST (Taquette et al., 2005). Por outro lado, Barcelos et al. (2008) ao investigar a prevalência de DST em uma população de Unidades Básicas de Saúde em Vitória, Espírito Santo, das 299 mulheres investigadas, 5% relataram DST prévia, 46,6% corrimento gential ou 3% úlcera genital. Já no estudo de Silva, Lima e Hamman (2010), aproximadamente 10% dos 208 quilombolas da área rural das cinco regiões do país relataram antecedentes de sinais/sintomas de DST nos últimos seis meses.

Houve uma proporção maior de relato de sinais de DST em mulheres (33,7%) em relação aos homens (7,8%). De fato, mulheres são mais suscetíveis biologicamente e culturalmente mais vulneráveis as DST (CARRET et al., 2004). As DST mais comuns nesta população são as infecções que causam verrugas, feridas ou úlceras na região genital, como a infecção pelo HPV, sífilis e herpes genital (BRASIL, 2012).

Verificou-se um gradiente positivo de relato de DST com o avançar da idade, o que coincide provavelmente com início e manutenção da vida sexual (BESERRA et al., 2008;

BORGES; SHOR, 2005). Neste estudo, a prevalência de DST em indivíduos na faixa etária de 14-20 anos foi de 9,1% e este percentual aumentou para 21,4% na faixa etária de 21-30 anos, alcançando quase 40% nos assentados de 31-40 anos.

Uma proporção maior de história de vida em acampamento foi observada entre os indivíduos que referiram sinais/sintomas de DST. Estes resultados sugerem que a vida em acampamentos favorece a aquisição de DST. Assim, especula-se que o isolamento social desta população e as dificuldades de acesso aos programas e ações de prevenção de DST, planejamento familiar e saúde da mulher (SCOPINHO, 2010) podem ter contribuído para estes achados.

6 CONCLUSÃO

Neste estudo, a prevalência de sinais/sintomas de relato de DST foi de 20,4%, o que sugere um risco elevado dos assentados investigados para estas doenças. Contudo, deve-se ressaltar que esta estimativa pode estar superestimada ou subestimada devido a natureza da coleta de dados (relato verbal). Assim, o presente estudo aponta a necessidade de novos estudos que permitam a avaliação da real dimensão destas infecções nesta população rural emergente.

REFERÊNCIAS

ADAMS, E.J.; GARCIA, P.J.; GARNETT, G.P.; EDMUNDS, W.J.; HOLMES K.K. The cost-effectiveness of syndromic management in pharmacies in Lima, Peru. **Sex. Transm. Dis.**, v. 30, n. 5, p. 379-87, 2003.

BARBOSA, M.J.; MOHERDAUI, F.; PINTO, V.M.; RIBEIRO, D.; CLEUTON, M.; MIRANDA, A.E. Prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection in men attending STD clinics in Brazil. **Rev.Soc. Bras. Med. Trop**., v. 43, n.5, 2010.

BARCELOS, M.R.B.: VARGAS, P.R.M. de; BARONI, C.; MIRANDA, A. E. Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 30, n. 7, p. 349-54, 2008.

BESERRA, E.P.; PINHEIRO, P.N.C.; ALVES, M.D.S.; BARROSO, M.G.T. Adolescência e Vulnerabilidade Às Doenças Sexualmente Transmissíveis: uma pesquisa documental. **J. Bras. Doenças Sex. Transmi.,** v. 20, n.1, p.32-35, 2008.

_____. Ministério da Saúde**. Prevalências e freqüências relativas de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) em populações selecionadas de seis capitais brasileiras, 2005**. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2008.

_____. Ministério da Saúde. Departamento de DST-AIDS e Hepatites Virais.**Boletim Epidemiológico Aids e DST – 2012**. Brasília-DF: Ministério da Saúde,2012. 28 p.

_____. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Secretaria de Planejamento e Investimentos Estratégicos. **Plano Mais Brasil PPA 2012-2015:** Relatório Anual da avaliação: ano base 2012. Brasília-DF: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, 2013.

CARNEIRO, F.F.; TAMBELLINI, A.T.; SILVA, J.A. da; HADDAD, J.P.A.; BÚRIGO, A.C.; SÁ, W.R. de et al. Saúde de famílias do Movimento dos Trabalhadores Sem Terra e de bóias-frias, Brasil, 2005. **Rev. Saúde Pública,** v.42, n. 4, p. 757-63, 2008.

_____; SÁ, W.R. de; BÚRIGO, A.C.; VIANA, F.C.; BERTOLINI, V.A.; TAMBELLINI et al. Trabalho rural e condições de saúde das famílias do MST e dos boias-frias: o caso de Unaí-MG. **Actas em Saúde Coletiva**, v. 4, n. 4, p. 38-52. 2009.

BORGES, A.L.V.; SHOR, N. Início da vida sexual na adolescência e relações de gênero: um estudo transversal em São Paulo, Brasil, 2002. **Cad. Saúde Pública**, v. 21, n.2, p. 499-507, 2005

CARRET, M.L.V.; FASSA, A.G.; SILVEIRA, D.S. da; BERTOLDI, A.D.; HALLAL, P.C. Sexually transmitted diseases symptoms in adults: prevalence and risk factors. **Rev. Saúde Pública**, v. 38, n. 1, p. 76-84, 2004.

CLARCK, J.L.; LESCANO, A.G.; KONDA, K.A.; LEON, K.A.; JONES, F.R.; KLAUSNER, J.D. et al. Syndromic management and STI control in urban Peru. **Plos One**, v. 4, n. 9, 2009.

ELEY, A.; PACEY, A.A.; GALDIERO, M.; GALDIERO, M.; GALDIERO, F. Can *Chlamydia trachomatis* directly damage your sperm? **Lancet Infect Dis.** p. 53-7, 2005.

FERREIRA, I. M. **Fatores associados à ocorrência da malária em área de assentamento, Município de Juruena/MT**. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, 2007. 79 p.

GIRARDI, E.P. **Proposição teórico-metodológica de uma cartografia geográfica crítica e sua aplicação no desenvolvimento do altas da questão agrária brasileira**. Presidente Prudente: Universidade Estadual Paulista, 2008.

HERKENHOFF, M.E.; CAULKE, R.; VIEIRA, L.L.; FERREIRA, P. da S.; PITLOVANCIV, A.K.; REMUALDO, V.R. Prevalência de Chlamydia trachomathis em amostras endocervicais de mulheres em São Paulo e Santa Catarina pela PCR. **J. Bras. Patol. Med. Lab**., v. 48, n. 5, 2012.

JUNIOR, W.B.; SHIRATSU, R.; PINTO, V. Approach in sexually transmitted diseases. **An. Bras. Dermatol.**, v. 84, n. 2, 2009.

KHAN, M.R.; BERGER. A.T.; WELLS, B.E.; CLELAND, C.M. Longitudinal associations between adolescent alcohol use and adulthood sexual risk behavior and sexually transmitted infection in the United States: assessment of differences by race. **Journal of American Public Health**, v. 102, n. 5, p. 867-76, 2012.

LOW, N.; BROUTET, N.; ADU-SARKODIE, Y.; BARTON, P.; HOSSAIN, M.; HAWKES, S. Global control of sexually transmitted infections. **The Lancet**: The Lancet Sexual and Reproductive Health Series. 2006. 16 p.

MASCARENHAS, J. D.; LEITE, J.P.; GABBAY, Y.B.; FREITAS, R.B.; OLIVEIRA, C.S.; MONTEIRO, T.A., et al. Rotavirus G serotypes and p[], G genotypes identified in cases of reinfection among children participating in a trial with rhesus-human reassortant tetravalent vaccine (RRV-TV) in Belem, Brazil. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 48, n. 2, p. 93-97, 2002.

MOHERDAUI, F. Abordagem sindrômica das doenças sexualmente transmissíveis. **J. Bras. Doenças Sex. Transm.**, v. 12, n.4, p. 40-9, 2000.

RAY, L.; MURALIDHAR, S.; BALA, M.; KUMARI, M.; SALHAN, S.; GUPTA, S.M. et al. Comparative study of syndromic and etiological diagnosis of reproductive tract infections/sexually transmitted infections in women in Delhi. **Int. J. Infect. Dis.**, v. 13, n. 6, p. 352-9, 2009.

SANTOS, J. C. B. dos. **O movimento dos trabalhadores rurais sem-terra e as relações entre saúde, trabalho e ambiente em um assentamento rural no estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2011. 155 p.

SCOPINHO, R.A. Condições de vida e saúde do trabalhador em assentamento rural. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, supl. 1, p.1575-84, 2010.

SILVA, M.J.G. da; LIMA, F.S. da S.; HAMANN, E.M. Uso dos serviços públicos de saúde para DST/HIV/Aids por comunidades remanescentes de quilombos no Brasil. **Saúde Soc.**, v.19, supl.2, p.109-120, 2010.

TAQUETTE, S.R.; ANDRADE, R.B. de; VILHENA, M.M.; PAULA, M.C. de. A relação entre as características sociais e comportamentais da adolescente e as doenças sexualmente transmissíveis. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 51, n. 3, p.148-52, 2005.

VEIGA, G.V.; BURLANDY, L. Socioeconomic and demographic indicators and nutritional status of children in a rural land settlement in Rio de Janeiro. **Cad. Saúde Publica**, v. 17, n.6, p.1465-72, 2001.

WHO. World Health Organization. **Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections:** overview and estimates. Genebra: WHO, 2001.

Comunicação Quântica na Presença de Ruídos

Jullianna Cristina de Oliveira Castro [1*], Norton Gomes de Almeida [1ς]
[1] Universidade Federal de Goiás, Instituto de Física, 74001-970, Goiânia, GO, Brasil.
[*] Orientando: e-mail: jullianna.castro@hotmail.com
[ς] Orientador: nortonfis@gmail.com

1. Resumo

Estudei o formalismo da mecânica quântica desenvolvido nos anos de 1925/26 por Heisenberg e Schroedinger e também o formalismo mais conveniente para os estudos mais aprofundados da Óptica quântica, o formalismo de Dirac. Analisei também a tese de doutorado da professora Dra. Célia Maria Alves Dantas, que fala sobre a equivalência entre um potencial não local e um potencial dependente da velocidade, e como construir um potencial não-local sendo capaz de gerar estados comprimidos. Reproduzi os gráficos mostrados na tese e também variei os parâmetros a fim de entender como o sistema se comporta quando os mesmos são alterados.

2. Introdução

Erwin Schroedinger, baseado nos postulados de de Broglie e de Einstein chegou a equação que leva seu nome, a cuja solução é a função de onda que descreve um sistema quântico.

Da equação clássica para energia total, temos:

$$E = K + V \tag{1}$$

Sendo a Energia cinética K dada por:

$$K = \frac{p^2}{2m} \tag{2}$$

Considerando uma função de onda e sua derivada de primeira ordem sendo: finitas, contínuas e unívocas, substituí na equação da energia e cheguei à equação de Schroedinger dependente do tempo:

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\frac{\partial^2\Psi(x,t)}{\partial x^2} + V(x)\Psi(x,t) = i\hbar\frac{\partial\Psi(x,t)}{\partial t} \tag{3}$$

Ao olhar a construção da equação pelo lado da álgebra, cheguei também ao operador momento, que é dado por:

$$p[\Psi(x,t)] = -i\hbar \frac{\partial[\Psi(x,t)]}{\partial x} \quad (4)$$

e analogamente, ao operador energia:

$$E[\Psi(x,t)] = i\hbar \frac{\partial\Psi(x,t)}{\partial x} \quad (5)$$

E então, voltando a Equação (1) obtive novamente a equação de Schrodinger.

Utilizando o método de separação de variáveis passei a trabalhar com a equação de Schroedinger independente do tempo. Como a solução temporal para qualquer potencial considerado é a mesma passei então a procurar apenas a solução espacial, que é chamada de autovalor da função de onda. Então a função de onda é do tipo:

$$\Psi(x,t) = \psi(x)\exp\left(-i\frac{E}{\hbar}t\right) \quad (6)$$

Estudei diferentes potenciais como: Degrau, Barreira, Poço Quadrado Finito, Poço Infinito e Oscilador Harmônico. Ao resolver a equação para os potenciais Finito, Infinito e Oscilador Harmônico pude observar que os valores possíveis de energia dentro dos poços são quantizados, isso é, a energia assume valores múltiplos de $h\nu$.

A função de onda em si não tem significado físico, mas se considerarmos o produto dela pelo seu conjugado, obtém-se resultados interessantes como:

$$P = \int_{-\infty}^{\infty} \Psi(x,t) * \Psi(x,t)dx \quad (7)$$

e, para estados estacionários,

$$P = \int_{-\infty}^{\infty} \psi(x) * \psi(x)dx \quad (8)$$

Onde P é a densidade de probabilidade do elétron estar nesse domínio. Pude obter também o momento médio:

$$\bar{p} = \int_{-\infty}^{\infty} \Psi(x,t) * p\Psi(x,t)dx \quad (9)$$

Analogamente tem-se a posição média da partícula:

$$\bar{x} = \int_{-\infty}^{\infty} \Psi(x,t) * x\Psi(x,t)dx \quad (10)$$

2.1. Notação de Dirac

Um vetor do espaço de estados é descrito por um símbolo | > chamado Ket. Um elemento dual desse espaço é chamado Bra e é representado pelo símbolo < |. Fazendo o produto escalar entre eles obtém-se: < | > (Bra-ket).

Se tivermos um operador Ô e seus autoestados, sendo |o >, temos:

$$\hat{O}|o >= o|o > \tag{11}$$

sendo "o" os autovalores.

Os autoestados do operador posição:

$$\hat{X} = \hat{x}\vec{\imath} + \hat{y}\vec{\jmath} + \hat{z}\vec{k} \tag{12}$$

São escritos como:

$$|\vec{x} > \tag{13}$$

A expressão abaixo é a representação do estado |o >, que levamos em consideração, na representação das coordenadas:

$$< \vec{X}|o >= \psi_0(\vec{X}) \tag{14}$$

Agora olhando a notação em termos dos autovalores e autoestados temos a relação:

$$\hat{H}|n \geq E_n|n > \tag{15}$$

Onde | n > são os autoestados e En os autovalores. A condição de ortonormalização desses autoestados é escrita como:

$$< n'|n >= \delta_{nm} \tag{16}$$

$$\delta_{nm} = \frac{\{1\ se\ n = m\}}{\{0\ se\ n \neq m\}}$$

Seja uma base do espaço dos estados formada pelos Kets |n >, |n' >, e seja um operador Ô, então os elementos de Ô na base do espaço de estados serão os números complexos:

$$< n'|\hat{O}|n > \tag{17}$$

Como são complexos temos a seguinte propriedade:

$$< a|\hat{O}|b >= (< b|\hat{O}^+|a >)^* \tag{18}$$

Então ficamos com:

$$< n'|\hat{O}|n >= (< n'|\hat{O}^+|n >)^* \tag{19}$$

Existe também a classe de operadores que são definidos pela atuação sobre um Ket, que é escrito como:

$$\sum_n |n><n| = \hat{I} \tag{20}$$

Se tivermos um espectro contínuo, a soma pode ser escrita como integral:

$$\int d\vec{X}|\vec{X}><\vec{X}| = \hat{I} \tag{21}$$

Seja < n|n'> um produto escalar, então:

$$< n|n' > = < n|\hat{1}|n' > = < n| \int d\vec{X}|\vec{X}><\vec{X}|\, n' > \tag{22}$$

A representação da função de onda na notação de Dirac é:

$$< \vec{X}|n > = \psi_n(\vec{X}) \tag{23}$$

Sejam $|\vec{p}>$ os autoestados do momento, temos sua relação de completude dada por:

$$\int d\vec{p}|\vec{p}><\vec{p}| = \hat{I} \tag{24}$$

Então a função de onda de |n > agora em termos do momento é:

$$\psi_n(\vec{p}) = \int d\vec{X} < \vec{p}|\vec{X} > \psi_n(\vec{X}) \tag{25}$$

2.2. Estados Comprimidos

Um dos estados descobertos na década de 70 e o que analisei mais detidamente, é denominado estado comprimido. Este estado é caracterizado pelo fato de possuir flutuação em uma de suas variáveis conjugadas canonicamente com o campo que corresponde com a flutuação do estado coerente, sem violar o principio da incerteza, desde que a compressão de uma das variáveis tenha como consequência a expansão na outra variável. É gerado pela interação de dois fótons.

3. Metodologia

Analisei a tese de doutorado da Prof. Dra. Célia Maria Alves Dantas [1]. Em sua tese ela retrata a equivalência entre um potencial não local e um potencial dependente da velocidade, e como construir um potencial não-local sendo capaz de gerar estados comprimidos. Reproduzi[1] os gráficos feitos pela autora variando alguns dados.

[1] Todos os gráficos foram feitos em linguagem Fortran no Gnuplot.

4. Resultados e Discussões

O primeiro gráfico que construí foi do estado coerente comprimido, a equação que descreve esse estado é:

$$< \Delta\hat{n} >^2 = |\alpha|^2 \left[e^{-2r} \cos^2\left(\varphi - \frac{\theta}{2}\right) + e^{2r} \sin^2\left(\varphi - \frac{\theta}{2}\right)\right] + 2\sinh^2(r)\cosh^2(r) \quad (26)$$

Primeiro escolhi um valor conveniente de α=1, que é o parâmetro de deslocamento, tendo em vista que α é apenas uma constante e não alteraria os gráficos significativamente. Fixei os valores de φ e θ, φ = θ = 0, que são os parâmetros relacionados aos operadores de deslocamento e compressão, variando apenas os valores de r, que dá a magnitude de compressão. Veja no Gráfico 1 abaixo:

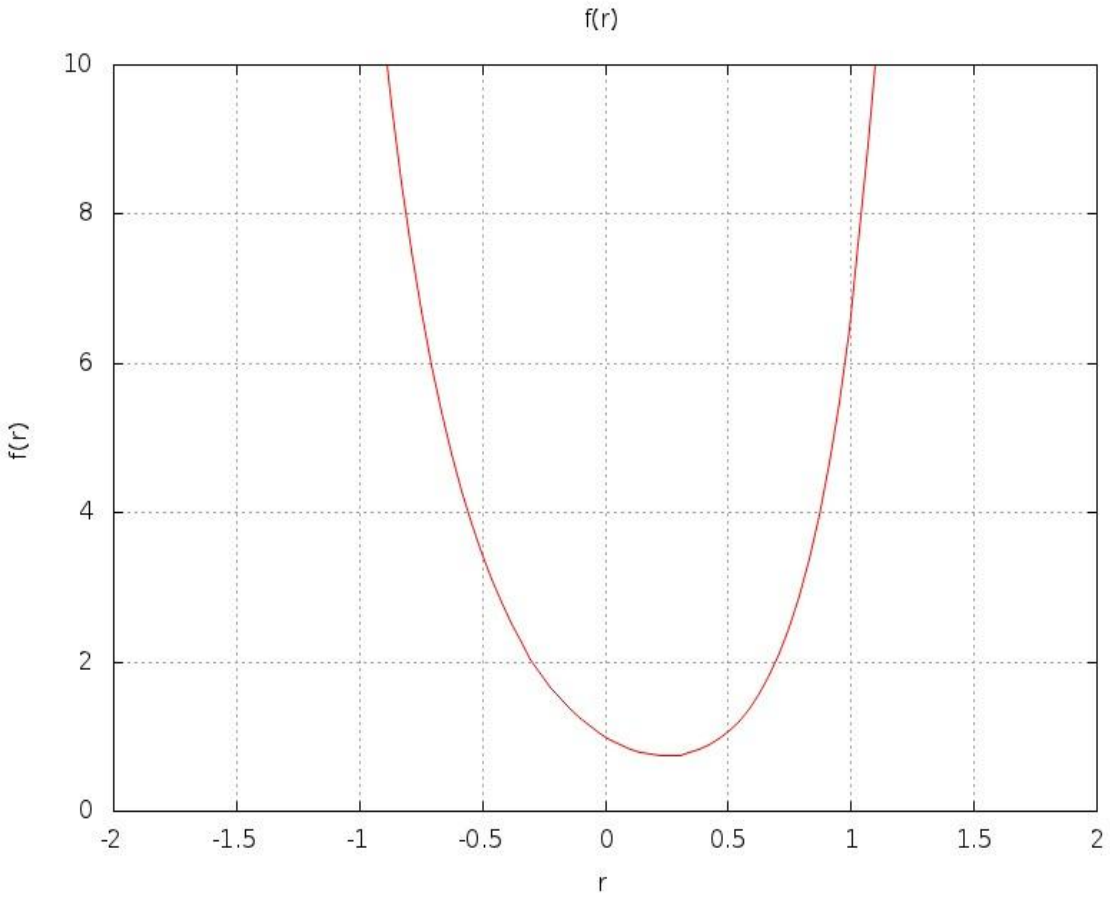


Gráfico 1: Estado coerente comprimido variando o parâmetro da magnitude de compressão r.

A curva se assemelha a uma parábola.

Usando a mesma equação construí o Gráfico 2, agora variando os valores dos parâmetros r e φ. O valor do parâmetro de compressão θ foi fixo e igual à zero. Veja o Gráfico 2 abaixo:

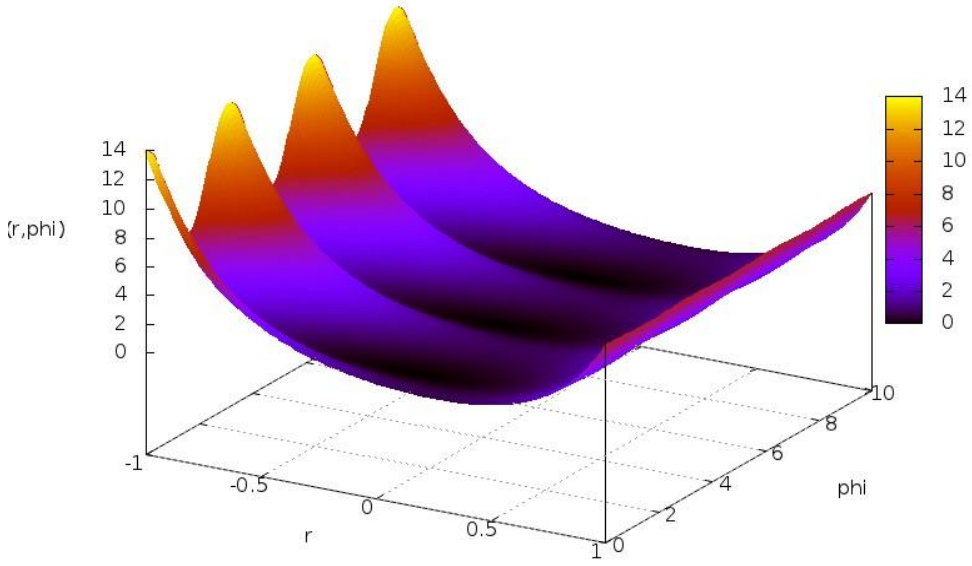


Gráfico 2: Estado coerente comprimido variando os parâmetros da magnitude de compressão r e dos operadores de deslocamento φ.

Como pude observar, ao se fixar também o valor de r no Gráfico 2, tem-se então a função variando apenas em φ, que dá uma curva senoidal e a amplitude está diretamente ligada ao valor atribuído a r.

No Gráfico 3 fiz variar também os valores de r e θ . Veja o Gráfico 3 abaixo:

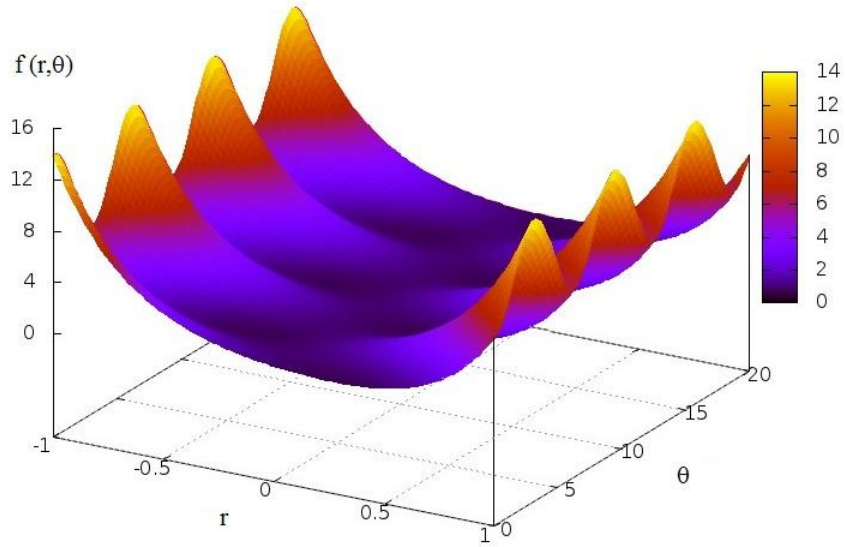


Gráfico 3: Estado coerente comprimido variando os parâmetros da magnitude de compressão r e dos operadores de compressão θ

O valor fixo para φ neste caso foi igual a zero, Pude observar também que ao fixar o valor de r neste gráfico a curva será senoidal e novamente e a amplitude da curva também está diretamente ligada ao valor atribuído a r.

Ainda usando a equação (26) construí o Gráfico 4 fixando agora o valor da magnitude de compressão r = 0,5, tendo em vista que se eu considerasse o valor de r igual à zero a curva obtida seria uma reta variando apenas com o valor escolhido para α o que não é tão interessante,então após fixar esse valor de r variei os valores de φ e θ. Veja abaixo o Gráfico 4:

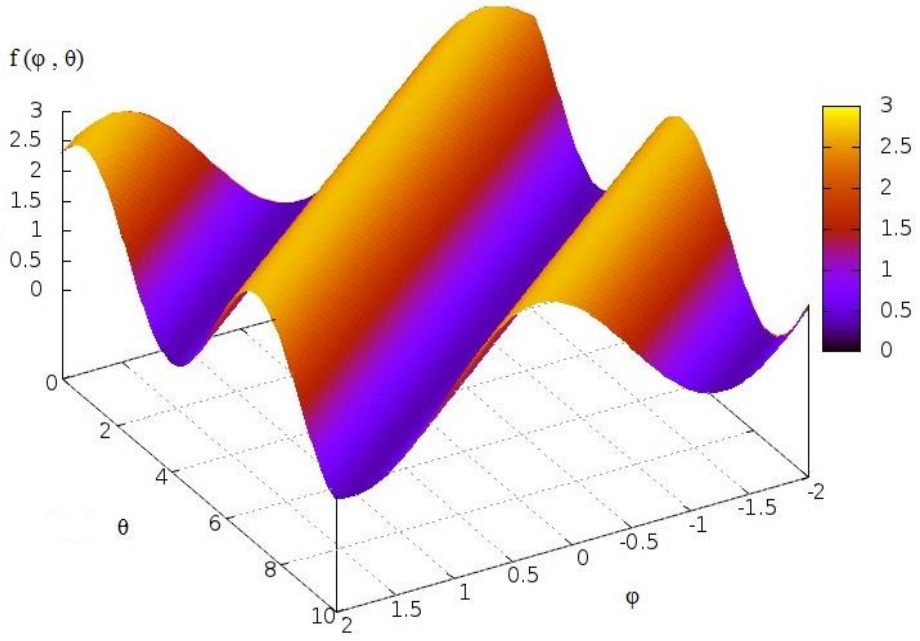


Gráfico 4: Estado coerente comprimido, variando os parâmetros φ e θ, fixando r = 0,5.

Analisando também a distribuição de número de fótons do estado coerente comprimido através da equação abaixo:

$$P_m = |< n|\hat{S}(z)|\alpha >|^2 \qquad (27)$$

O gráfico da P_m pode resultar numa estatística super-Poissoniana, Poissoniana ou sub Poissoniana, dependendo da escolha de valores para r. No mesmo gráfico reproduzi as três curvas, para valores de r = -0,5, r = 0 e r = 0,5. Usei também os valores sugeridos pela autora de φ=θ=0 e |α| =5. Veja o Gráfico 5 abaixo:

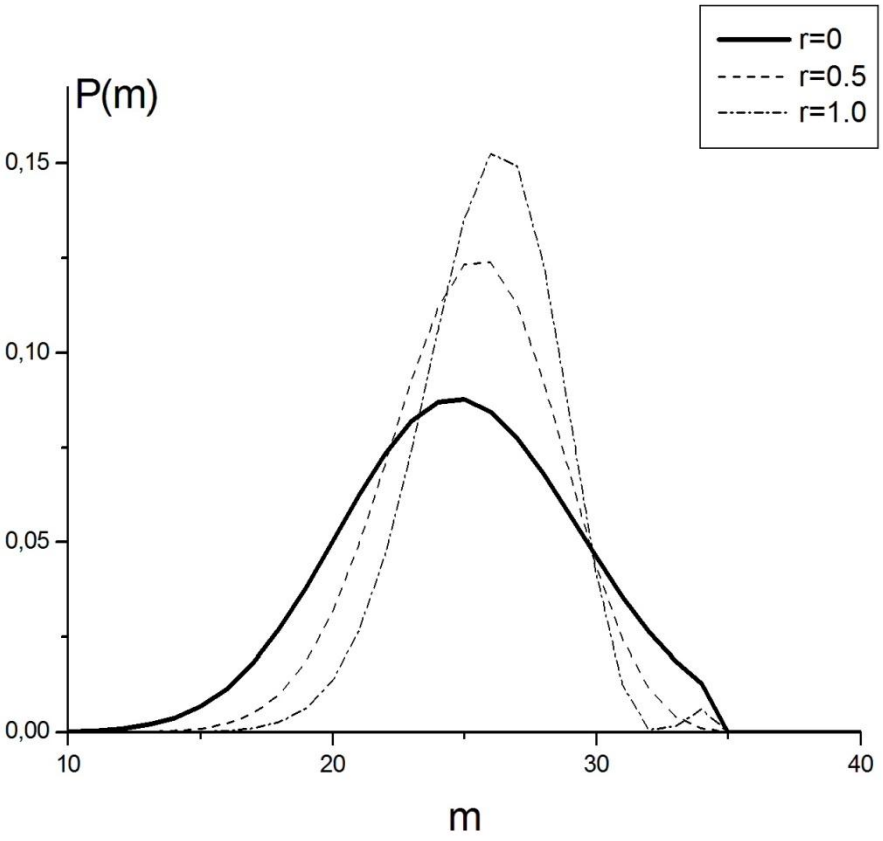


Gráfico 5: Distribuição de número de fótons para um estado coerente comprimido para os parâmetros |α|=5;φ=θ=0; r=0,r=-0,5 e r=0,5.

5. Conclusão

Estudei o antigo formalismo da mecânica quântica e a notação de Dirac, que é a notação utilizada atualmente e muito útil para o que trabalhamos.

Também analisei a tese de doutorado da Prof. Dra. Célia Maria Alves Dantas a qual fala sobre os novos mecanismos para gerar estados comprimidos. Reproduzi os gráficos contidos na tese. Observei como o sistema se comporta com cada variação. Variei primeiro apenas o parâmetro r e obtive uma curva que se assemelha a uma parábola, depois variei os parâmetros r e φ, e ceguei a uma curva senoidal podendo ser observada também se fixarmos o r, tendo apenas uma mudança na amplitude para cada valor de r escolhido. Depois r e θ e a curva que obtive foi análoga à anterior. Variei então φ e θ e cheguei também a uma curva senoidal, porém agora com um valor de r fixado em 0,5. Ainda construí um gráfico para distribuição de fótons com valores fixados de |α|, φ, θ e utilizando 3 valores para r chegamos a três curvas Poissonianas para cada valor de r.

5. Referências Bibliográficas

[1] Tese de doutorado da Prof.Dra. Célia Maria Alves Dantas, *Problemas atuais em Óptica Quântica: Novos Mecanismos Para Gerar Estados Comprimidos e um Modelo para Determinar o Estado Quântico do Campo*, apresentada ao Departamento de Física e Ciência dos Materiais da Universidade de São Paulo - Instituto de Física de São Carlos em 1995.

[2] Eisberg, Robert; Resnick, Robert*; Física Quântica – Átomos, Moléculas, Sólidos, Núcleos e Partículas*,1979

[3] Halliday, David; Resnick, Robert; *Física* vol. 4; 4ºedição, Rio de Janeiro.

[4] Young, Hugh D.; Freedman, Roger A.; *Física IV* , São Paulo,2003.

[5] Nussenzveig, Moysés; Um curso de Física Básica, vol.4 Ed. Edgar Bliicher,1999.

[6] Cohen, Tannoudji; *Quantum Mechanics,* 1977

[7] w.w.w.hfleming.com/qm31.pdf;*Mecânica Quântica;* visitada em Novembro de 2012.

O romance e seus dilemas em *Senhora*, de José de Alencar

Jullyana Correa Ribeiro (orientanda, FL/UFG, jullyanaribeirooo@gmail.com)

Cássio Tavares (orientador, FL/UFG, cassio.ufg@gmail.com)

RESUMO: A partir de estudos sociológicos, historiográficos e literários, o presente trabalho examina o romance *Senhora*, de José de Alencar, para rastrear nele o início do processo de aclimatação da forma romanesca à realidade histórico-social brasileira. Nesse processo, confirma-se a tese de Roberto Schwarz de que o vigor mimético de Alencar é inseparável de sua insconsistência formal em relação ao modelo romanesco europeu.

PALAVRAS-CHAVE: Romance brasileiro; Formação do Brasil; José de Alencar; Mimese

1. Introdução

Esta pesquisa é, de certa maneira, produto de minha participação, no período 2012–2013, das atividades do Núcleo de Estudos "Brasil: Sociedade e Produção Simbólica na Periferia do Capitalismo". Este estudo, que agora apresento, destaca o processo de adaptação da forma do romance no momento culminante da formação da literatura brasileira, que gerou certos "desvios" nos paradigmas europeus, devido aos fatores sociais e culturais vigentes no Brasil, os quais não correspondem aos padrões ideológicos europeus e, por isso, geram conflitos nesta espécie de "importação" da narrativa romanesca que apreciaremos em José de Alencar, mais especificamente em *Senhora* — publicado em 1875.

Tendo em vista a crítica dialético-materialista como um importante meio de estabelecer relações entre diversas realidades sociais e a literatura propriamente, buscamos verificar

Revisado pelo orientador

essa adaptação formal da narrativa romanesca no Brasil, de modo a integrar campos diferentes do saber, a fim de compreender os conflitos sociais neste período, século XIX, os quais influenciaram de modo decisivo na reelaboração formal realizada por Machado de Assis em *Memórias Póstumas de Brás Cubas* e que estão em uma espécie de pano de fundo em *Senhora*, de Alencar.

É verdade que este estudo se propôs, inicialmente, a estabelecer uma pesquisa no momento de transição Alencar-Machado, entretanto, dentro dessa mesma perspectiva, focalizamos na adequação do romance realizado por Alencar devido à motivação que adquirimos com as leituras em relação a este autor, bem como a necessidade de verticalizar o estudo. Mas, como se pode observar no decorrer do artigo, buscamos ainda assim contemplar alguns aspectos da obra de Machado de Assis.

Devemos ressaltar que os estudos de Roberto Schwarz, Antonio Candido, Sérgio Buarque de Holanda — entre outros críticos, teóricos, historiadores, etc. —, orientam esta pesquisa e nos concedem respaldo na defesa de que o contexto social, econômico e histórico é elemento importante no processo de adaptação da forma do romance por Alencar, e é também um fator fundamental no processo de reelaboração formal por Machado de Assis.

2. Objetivos

O presente estudo objetiva, por meio do confronto com o paradigma europeu do romance, localizar nos "desvios" alencarianos algumas das soluções e alguns dos problemas verificados na adaptação, por Alencar da forma romanesca "importada", buscando relacioná-las com o ambiente cultural e ideológico naquele momento histórico da segunda metade do século XIX. Além disso, é nosso objetivo tratar acerca da distinção formal do romance efetivada em Alencar e em Machado.

3. Metodologia

O presente estudo se estrutura na base de pesquisa bibliográfica e análise da forma estético-literária, nos moldes estabelecidos por Antonio Candido e Roberto Schwarz. Foram estudados textos de diversos campos do saber — como economia, história, sociologia, letras, etc. —, que forneceram subsídios para a análise. As etapas foram:

1. Leitura da bibliografia básica do plano de trabalho;
2. Fichamento dos textos de apoio selecionados;
3. Anotações iniciais acerca das obras literárias selecionadas, de Alencar e Machado;
4. Revisitação dos textos de apoio, à luz das observações acerca da obra de Alencar e Machado;
5. Análise preliminar das obras literárias selecionadas;
6. Apresentação dessa análise preliminar aos participantes do Núcleo de Pesquisa, para debate e problematização;
7. Revisão e aprimoramento da análise.

4. Resultados e Discussões

Sobre o gênero romance originariamente europeu e dentro desta perspectiva, sabemos que o que mais se evidencia é a questão da proximidade estabelecida entre a representação literária e a realidade em sua aparência empírica. Esta, no contexto europeu, implica a individualidade como experiência humana universal, observável nos diversos âmbitos da vida, inclusive no que há de mais cotidiano — daí a exclusão de "tipos" sociais gerais e a representação do caráter particular e único de indivíduos singulares; daí a descrição do espaço/ambiente como meio de caracterização das personagens (o ambiente às vezes influencia as personagens, às vezes desencadeia neles fluxos de consciência, e pode chegar a ser extensão ou corporificação de sua personalidade); daí a coincidência da identidade das personagens com o seu desenvolvimento no decorrer do tempo.

Estes conceitos basicamente correspondem, segundo Ian Watt em *A ascensão do romance* (2007, p. 29), às principais inovações do romance, que o coloca em contradição frontal com os valores literários anteriores ao seu surgimento. Obviamente, esta contradição se estabelece por meio do método da narrativa romanesca, que está intrinsecamente ligado à vocação empirista desta forma de narrativa. Diz Watt:

> O método narrativo pelo qual o romance incorpora essa visão circunstancial da vida pode ser chamado de seu realismo formal; formal porque aqui o termo "realismo"

> não se refere a nenhuma doutrina ou propósito literário específico, mas apenas a um conjunto de procedimentos narrativos que se encontram tão comumente no romance e tão raramente em outros gêneros literários que podem ser considerados típicos dessa forma. […] Há diferenças importantes no grau em que as diferentes formas literárias imitam a realidade; e o realismo formal do romance permite uma imitação *mais imediata* da *experiência individual* situada num contexto temporal e espacial do que outras formas literárias. (2007, p. 31-32.)

Então, este "realismo formal" que compreende o gênero envolve não só uma ruptura estilística na direção de uma linguagem mais referencial, como também maneiras particulares de apreciação das coisas do mundo e da vida.

Naturalmente, podemos aparentemente identificar todas estas características no romance alencariano, mas o que realmente nos interessa aqui diz respeito ao aspecto temático das obras que modifica, por vezes, a forma. Evidentemente, incorporamos vários aspectos formais do gênero, mas como o caráter ideológico europeu, que é integrante dessa forma, se relaciona com a "matéria local" de um país (Brasil) escravista, recém-saído de sua condição colonial?

Na Europa, em especial na Inglaterra, onde o Capitalismo se estabeleceu de maneira clássica seguindo todas as suas fases, às estruturas econômicas e histórico-sociais correspondiam ideais ditados pela ascensão burguesa incluindo princípios como a igualdade, fraternidade e liberdade, que na essência serviam de meio para encobrir a exploração do trabalhador formalmente livre pelo capital. Questão que evidencia o raciocínio econômico burguês, o qual visava à acumulação, por meio da racionalização produtiva, entre outros dispositivos, o que corresponde ao pensamento dominante no comércio internacional, este que se prende a nossa economia. Apesar de no Brasil prevalecer o raciocínio econômico burguês, o país — mesmo após a Declaração dos Direitos Humanos em 1824 — ainda manteve a escravidão e com isso, as contradições são postas a nu porque a impraticabilidade destes ideais europeus se conjuga com a impossibilidade de nos desvencilharmos deles.

A sociedade brasileira, "fundada" na escravidão produziu três classes sociais baseadas no monopólio de terra, como nos apresenta Schwarz (1992, p.16): o latifundiário, o escravo e o "homem livre". Sobre os dois primeiros sabemos como se relacionam socialmente e economicamente, entretanto, é dado novo o que o "homem livre" produz na nossa sociedade. Observe o que Schwarz, em *Ao vencedor as batatas*, diz sobre essa classe:

> Nem proprietários nem proletários, seu acesso à vida social e a seus bens depende materialmente do *favor*, indireto ou direto, de um grande. O agregado é a sua caricatura. O favor é, portanto, o mecanismo através do qual se reproduz uma das grandes classes da sociedade, envolvendo também outra, a dos que têm. Note-se ainda que entre estas duas classes é que irá acontecer a vida ideológica, regida, em conseqüência, por este mesmo mecanismo. Assim, com mil formas e nomes, o favor atravessou e afetou no conjunto a existência nacional, ressalvada sempre a relação produtiva de base, esta assegurada pela força. Esteve presente por toda a parte, combinando-se às mais variadas atividades, mais e menos afins dele, como administração, política, indústria, comércio, vida urbana, Corte etc. […] O favor é a nossa mediação quase universal […]. (1992, p.16)

Assim como Schwarz, Antônio Candido (2004) no ensaio "Dialética da Malandragem" (1993), ilumina indiretamente a questão do "favor" ao postular a dialética da "ordem e desordem" no romance *Memórias de um Sargento de Milícias*, evidenciando esta dinâmica que está profundamente arraigada nos costumes do povo brasileiro. Isto reforça a afirmativa de Schwarz (1992, p. 16) a respeito da "mediação quase universal" efetivada pelo favor, sem mencionarmos os diversos escritores — como Manuel Antônio de Almeida — que incorporam esse elemento em sua representação do Brasil.

O mesmo processo, visto de outro ângulo, foi discutido por Sérgio Buarque de Holanda (1995), por meio do conceito de "cordialidade". A cordialidade deriva do tipo de família patriarcal originariamente estabelecido no Brasil, que cristalizou, para dentro e para fora da família, um padrão de relações voltadas quase que exclusivamente para o âmbito familiar, que serve de modelo geral e impõe seus princípios e condutas à vida social. Diz Buarque de Holanda, em *Raízes do Brasil*:

> A escolha dos homens que irão exercer funções públicas faz-se de acordo com a confiança pessoal que merecem os candidatos, e muito menos de acordo com as suas capacidades próprias. […] No Brasil, pode dizer-se que só excepcionalmente tivemos um sistema administrativo e um corpo de funcionários puramente dedicados a interesses objetivos e fundados nesses interesses. Ao contrário, é possível acompanhar, ao longo de nossa história, o predomínio constante das vontades particulares que encontram seu ambiente próprio em círculos fechados e pouco acessíveis a uma ordenação impessoal. Dentre esses círculos, foi sem dúvida o da família aquele que se exprimiu com mais força e desenvoltura em nossa sociedade. E um dos efeitos de-

> cisivos da supremacia incontestável, absorvente, do núcleo familiar — a esfera, por excelência dos chamados "contatos primários", dos laços de sangue e de coração — está em que as relações que se criam na vida doméstica sempre forneceram o modelo obrigatório de qualquer composição social entre nós. Isso ocorre mesmo onde as instituições democráticas, fundadas em princípios neutros e abstratos, pretendem assentar a sociedade em normas antiparticularistas. (1995, p. 146)

É característica elementar da nossa sociedade o desejo de efetivar relações intimas/familiares em qualquer esfera da sociedade. Ele se manifesta em qualquer âmbito da vida social brasileira, mesmo nas relações que deveriam ser impessoais para garantir a "emancipação" geral dos indivíduos que a condição suposta de cidadão implica — há aí também a superposição de laços familiares, com cargas emotivas às quais ficam sujeitas mesmo as relações econômicas no país. Diz Buarque de Holanda:

> O desconhecimento de qualquer forma de convívio que não seja ditada por uma ética de fundo emotivo representa um aspecto da vida brasileira que raros estrangeiros chegam a penetrar com facilidade. E é tão característica, entre nós, essa maneira de ser, que não desaparece sequer nos tipos de atividade que devem alimentar-se normalmente da concorrência. Um negociante de Filadélfia manifestou certa vez a André Siegfried seu espanto ao verificar que, no Brasil como na Argentina, para conquistar um freguês tinha necessidade de fazer dele um amigo. (1995, p. 148-149)

Observe que a cordialidade caminha de maneira inseparável do favor, pois institui uma forma de sociabilidade em que o favor encontra seu solo adequado, tornando-se mecanismo preferencial das relações sociais. Com isso, e dada a norma individualista europeia, observa-se uma espécie de desencontro entre o modelo narrativo europeu e sua adaptação no Brasil, uma vez que o dado formal do romance (carregado de valores liberais e individualistas) e sua matéria — dada pela experiência social brasileira — não se correspondem e de certo modo se contradizem.

Isto posto, é possível perceber no romance *Senhora* de Alencar, primeiramente, uma oposição entre *dinheiro* e *amor*, de maneira tão intensa que chegamos ao ponto em que o amor se torna efetivamente mercadoria — tema corrente no romance europeu e dele herdado. Entretanto, ao nos orientarmos para o aspecto formal do romance, é notável, como nos aponta

Schwarz (1992), um descompasso entre os personagens que são colocados em duas esferas, isto é, enquanto os personagens primários, representantes da elite carioca, articulam conflitos que seguem uma linha balzaquiana — para se manter um parâmetro europeu mais claro —, os personagens secundários, os quais representam o "povo humilde brasileiro", ficam enquadrados na sua condição real de dependência (não liberdade), de modo que perdem eficácia como agentes efetivos interessados no conflito central. A protagonista do romance, Aurélia, personifica, por outro lado, não somente a individualidade tão marcada pela ideologia burguesa (enquanto capacidade de produzir o seu próprio destino), como também se eleva à condição de heroína. Ora, sabemos que o herói romanesco é definido pelo seu potencial de superação diante de obstáculos relevantes, ou seja, notavelmente grandes, embora em princípio[1] passíveis de ser superados. Entretanto, a heroína não é confrontada com nenhum antagonista à altura, capaz de manifestar uma vontade contrária suficientemente poderosa. Este fato está em desacordo com o modelo europeu, ao qual o herói é sempre confrontado de alguma maneira por indivíduos igualmente livres, igualmente fortes, e igualmente empenhados.

Observe que os personagens secundários — como Sr. Lemos, D. Firmina, as irmãs e a mãe de Seixas etc. — compõem a matéria mais marcadamente nacional, mas ficam no pano de fundo do romance, pois é impossível vê-los como indivíduos plenos, uma vez que estão na dependência de outrem, detentor de bens e dinheiro, até o limite em que neles não se constitui um *agente* em plena posse de si, livre e no vigor de sua vontade realizadora. Com efeito, é a partir deles que podemos observar no romance a presença da cordialidade e da sociabilidade do favor, como meio tipicamente brasileiro de subsistência, de renda subsidiária e de ascensão social. Note que esta formação local não depende hegemonicamente do trabalhador livre, um dos pressupostos do pensamento liberal europeu — uma vez que este constitui classe social relativamente autônoma, com papel efetivo no sistema produtivo (estou me referindo ao proletariado), enquanto os que vivem do favor não podem chegar nem mesmo a uma autonomia relativa no processo de produção de riqueza, permanecendo na dependência direta, levando uma vida por assim dizer subsidiária.

Logo, a visível "dissonância" produzida no processo de nacionalização do romance no Brasil se liga diretamente à especificidade de nossa matéria nacional. Mas, trata-se de uma

[1] O herói romanesco pode sucumbir no confronto com os obstáculos que enfrenta; mas, tipicamente, o conflito se desenvolve na base do pressuposto de que, enquanto o resultado da ação não se define, a possibilidade de sua superação do obstáculo seja real. Sem isso todo o empenho do herói seria percebido pelo leitor como fútil, de modo que o elemento heroico degeneraria em patético.

dissonância necessária para configurar o problema da verossimilhança em termos brasileiros. Nesse sentido, o esforço de Alencar lhe confere uma estética própria. Com o diz Schwarz:

> […] em toda forma literária há um aspecto mimético, assim como a imitação contém sempre germes formais; o impasse na construção pode ser um acerto imitativo — como já vimos que é, neste caso — o que, sem redimi-lo, lhe dá pertinência artística, enquanto matéria a ser formada, ou enquanto matéria de reflexão. […] Noutras palavras digamos que forma europeia e sociabilidade local são tomadas tais e quais, com talento e sem reelaboração. Frente a frente, no espaço estreito e lógico de um romance, contradizem-se em princípio, ao passo que a sua contradição não é levada adiante por… senso da realidade. Nem conciliadas, nem em guerra… (1992, p.49)

Afinal, devemos ressaltar que Alencar foi dos primeiros a tentar adaptar a forma romanesca à realidade brasileira e a trazer para a elaboração romanesca os costumes e valores da sociedade brasileira nascente, servindo de ponto de partida para escritores como Machado de Assis. Este que de fato, segundo Schwarz (1992:50), adquire maturidade intelectual e artística somente na segunda fase de sua produção — com o romance *Memórias Póstumas de Brás Cubas* —, pela reelaboração inovadora da combinação já testada por autores anteriores, sobretudo Alencar, entre a forma europeia do romance e a matéria local brasileira.

A ideia de que a maturidade de Machado se dá somente na sua segunda fase de produção, se confirma, por exemplo, ao apreciarmos as obras *Iaiá Garcia* e *A mão e a luva* – situadas na primeira fase – as quais se assemelham ao romance *Senhora*, de Alencar, não somente pelo fato de enfatizarem o jogo entre amor e dinheiro, tema típico no romance europeu, mas também pelas escolhas vocabulares e estilísticas. Além disso, é gritante as semelhanças entre os romances citados, principalmente em relação ao romance *Senhora*, de Alencar, pois ambos tratam da problemática relação entre o amor e o dinheiro, e por essa via põem em cena, sem solução formal na estrutura da obra, aspectos da sociedade brasileira daquele período, discrepantes em relação ao padrão ideológico inscrito na forma romanesca importada. Observe que, assim como em *Senhora*, temos em A *mão e a luva* uma protagonista, Guiomar, que por se tornar afilhada de uma baronesa rica, demonstra extrema frieza e racionalidade em relação ao matrimônio, de modo a evidenciar que se trata de um negócio. De modo semelhante, podemos observar em *Iaiá Garcia*, cuja personagem Valéria (viúva de um desembargador e mãe de Jorge) mesmo demonstrando extremo afeto por Estela (moça de origem humilde e filha do Sr

Antunes), ao ponto de tratá-la como filha, não a aceita como nora devido a sua condição social.

Aliás, a essa aproximação temática corresponde uma convergência estilística e formal entre Alencar e o Machado da primeira fase: somente na segunda fase de sua produção Machado rompeu com o modo da narrativa romanesca tão em voga entre os escritores da época, inaugurando em *Memórias Póstumas de Brás Cubas* uma espécie de realismo à brasileira. Aí o autor opera uma assimilação, na *forma* narrativa, do capricho que caracteriza a condição do proprietário na economia do favor. Só aí a forma narrativa deixa de estar em choque com a matéria romanesca.

5. Considerações finais

A condição histórica, cultural, social, ideológica e econômica do Brasil, na segunda metade do século XIX, como apontamos, não corresponde ao padrão visto na Europa, uma vez que os processos de desenvolvimento do capital não se correspondem: o primeiro é colonizado, enquanto a última é colonizadora. Fato que compreende, ou mesmo implica, perspectivas e condições demasiadamente distantes, que são postas tanto nas questões intelectuais quanto culturais.

Nesse sentido, Schwarz (1992) observa que as ideias europeias costumam ser postas de modo impróprio no Brasil, ou seja, a nossa condição histórico-social choca com o conjunto ideológico do pensamento liberal burguês, de modo a estabelecer sempre uma espécie de adaptação de uma forma (tendo em vista o paradigma do romance europeu) sobre outra (referente a "matéria local").

Desse modo, nota-se que o romance *Senhora* coloca em conflito a forma romanesca importada, verificada nos modelos europeus de Alencar, com a matéria local – referente as estruturas da sociedade brasileira – de um país recém-saído de sua condição colonial, matéria essa que traz consigo suas próprias demandas formais, e que é elemento temático deliberado na obra do autor.

6. Referências

ALENCAR, José de. *O guarani*, 20ª ed. São Paulo : Ática, 1996.

_____. *O sertanejo*, 6ª ed. São Paulo : Ática, 1994.

_____. *Senhora*, 23ª ed. São Paulo : Ática, 1992.

ALENCASTRO, Luiz Felipe de. "Le Versant Brésilien de l'Atlantique-Sud". *Annales* : Histoire, Sciences Sociales. 61e. année, nº 2, p. 339–382.

ARAÚJO, Homero Vizeu. "A volubilidade derivada da cordialidade : um encontro entre Sérgio Buarque, Antonio Candido e Roberto Schwarz". *Terceira Margem*. Rio de Janeiro, nº 12, p. 81–90, jan.–jun. 2005.

ASSIS, Machado de. *A mão e a luva*, 17ª ed. São Paulo : Ática, 1998.

_____. *Iaiá Garcia*, 5ª ed. São Paulo : Ática, 1993.

_____. *Memórias póstumas de Brás Cubas*, 21ª ed. São Paulo : Ática, 1996.

_____. *Os melhores contos de Machado de Assis* (seleção e notas de Domício Proença Filho), 14ª ed. São Paulo : Global, 2002.

BOSI, Alfredo. *Dialética da colonização*, 4ª ed., acrescida de posfácio. São Paulo : Cia. das Letras, 2008.

BUENO, Luís. "Literatura mundial e tradição interna". *Cerrados*. Revista do Programa de Pós-Graduação em Literatura, Brasília, nº 28, p. 114-132, 2009.

_____. "Nacional e específico : considerações a partir da *Formação da Literatura Brasileira*". *O eixo e a roda*, v. 20, nº 1, p. 103–114, 2011.

CANDIDO, Antonio. *A educação pela noite e outros ensaios*, 3ª ed. São Paulo : Ática, 2000.

_____. *Formação da literatura brasileira*. 6ª ed. Belo Horizonte : Itatiaia, 2000.

_____. *O discurso e a cidade*. São Paulo : Duas Cidades, 1993.

HOLANDA, Sérgio Buarque de. *Raízes do Brasil*, 26ª ed. São Paulo : Cia. das Letras, 2008.

NOVAIS, Fernando Antonio. *Aproximações* : ensaios de história e historiografia. São Paulo : Cosac Naify, 2005.

PASTA, José Antonio. "Volubilidade e ideia fixa". *Sinal de Menos*. Ano 2, nº 4, 2010, p. 13–25.

SCHWARZ, Roberto. *Ao vencedor as batatas*, 4ª ed. São Paulo : Duas Cidades, 1992.

_____. *Que horas são? Que horas são?* São Paulo : Companhia das Letras, 1987.

_____. *Sequências brasileiras*. São Paulo : Cia. das Letras, 1999.

_____. *Um mestre na periferia do capitalismo*, 2ª ed. São Paulo : Duas Cidades, 1991.

WATT, Ian. *A ascensão do romance*. São Paulo : Cia. das Letas, 1990.

Isolamento, viabilidade e rendimento de células mononucleares da medula óssea total de coelhos: descrição da técnica

Jéssica Alves da Silva[1], Danilo Ferreira Rodrigues[2], Fernanda Figueiredo Mendes[2], Flávia de Castro Pereira[3], Luiz Antônio Franco da Silva[4]

1- Orientanda do Projeto de Iniciação Científica (PIBIC) da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG). Email: jj.syy@hotmail.com
2- Doutorando(a) do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da EVZ/UFG.
3- Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em biologia celular e molecular do ICB/UFG
4- Orientador do Projeto de Iniciação Científica (PIBIC) da EVZ/UFG. Email: lafranco@vet.ufg.com

Palavras chaves: células-tronco, medicina regenerativa, terapia celular.

RESUMO

Os estudos sobre a eficiência da terapia celular para a cura de inúmeras enfermidades estão cada vez mais crescentes, sendo a as células mononucleares da medula óssea e células-tronco mesenquimais o foco destes estudos. O objetivo com este estudo é apresentar dois protocolos isolamento de células mononucleares da medula óssea total, bem como apresentar seu rendimento e viabilidade celular, em comparação a outros protocolos de isolamento descritos na literatura. Foram utilizados quatro coelhos da raça Nova Zelândia. Um animal foi submetido ao protocolo 1, colheita de medula óssea por aspiração modificada, e três animais foram submetidos ao protocolo 2, colheita de medula óssea total. Foi observado que o rendimento e a viabilidade celular no protocolo 1 foi de $9,85x10^6$ e 91% respectivamente. No protocolo 2 o rendimento e a viabilidade celular foi de $1,54x10^6$ e 39,33% respectivamente. Concluiu-se que o protocolo modificado de aspiração da medula óssea modificado em coelhos, apresentou resultados similares a outros protocolos descritos na literatura. O protocolo 2, colheita de medula óssea total por osteotomia em coelhos, apresentou baixo rendimento e viabilidade celular, além de ser mais trabalhoso.

INTRODUCÃO

A utilização de células-tronco como auxiliar da reparação tecidual e melhoria na qualidade dos processos regenerativos tem apresentado resultados promissores. Células mononucleares da medula óssea com elevado potencial de diferenciação, têm sido isoladas de diversas espécies, como roedores (BITTENCOURT et al., 2006), suínos (RINGE et al., 2002) e coelhos (OLIVEIRA, 2011).

-Revisado pelo orientador-

As células mononucleares da medula óssea apresentam como principal característica a capacidade de diferenciação em diversas linhagens de tecidos, como o conjuntivo, ósseo, cartilaginoso, adiposo, tendíneo, muscular e cutâneo (CAMPAGNOLI et al., 2001), podendo ser obtida em diferentes locais do organismo. Acrescenta-se que a medula tem demonstrado ser uma atrativa fonte de células para reparação tecidual. Nela, existe a facilidade de seu isolamento, as quais apresentam versatilidade na diferenciação pluripotente em tecidos mesenquimais. A purificação, cultivo e manipulação de células-tronco multipotentes fornecem condições que possibilitam corrigir lesões em tecidos e órgãos (MAUNEY et al., 2005).

Apesar da existência de inúmeras técnicas de isolamento de células mononucleares da medula óssea, muitas delas ainda requerem gastos expressivos, dificultando desta forma a aplicabilidade prática da terapia celular, tanto no meio científico quanto como na rotina clínica. Por esta razão, o objetivo com este estudo é apresentar dois protocolos isolamento de células mononucleares da medula óssea total, bem como apresentar seu rendimento e viabilidade celular, em comparação a outros protocolos de isolamento descritos na literatura.

METODOLOGIA

Este estudo possui autorização Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás sob nº de protocolo 026/2012. Foram utilizados quatro coelhos da raça Nova Zelândia, hígidos, peso médio de 3,5kg. Os animais foram distribuídos em dois grupos: GI(n=1), animal submetido ao protocolo de colheita de células mononucleares por meio da colheita da aspiração da medula óssea umeral, conforme o protocolo de OLIVEIRA et al. (2011) com adaptações; GII(n=3), animais submetidos à colheita total da medula óssea por meio da osteotomia umeral.

Protocolo 1: Células mononucleares de aspirados da medula óssea

No grupo 1 o animal foi submetido à medicação pré-anestésica com 2mg/kg de cloridrato de tramadol, por via intramuscular, após 10 minutos foi realizada a anestesia dissociativa pela associação de 5mg/kg de cloridrato de xilazina e 40mg/kg de cetamina, via intramuscular. Em seguida foi realizada a tricotomia e antissepsia com clorexidina e álcool da

região do tubérculo umeral de ambos os membros e posterior inserção de uma agulha hipodérmica 45x12mm no tubérculo umeral. Na sequência foi acoplada uma seringa de 10mL contendo 0,5mL de solução de NaCl a 0,9% heparinizada (5000UI/500mL em solução de NaCl a 0,9%). Em seguida foi realizada a aspiração da medula óssea umeral na região epifisária, realizando-se movimentos de inclinação da seringa para a homogenização da amostra para se evitar a formação de coágulos, na sequência todo o procedimento foi repetido no membro oposto do animal, totalizando de 8mL aspirado medular. Em seguida a amostra foi acondicionada em isopor sem gelo.

Em capela de fluxo laminar o aspirado foi colocado em quatro tubos Falcon estéreis de 15ml e diluídos (1:1) em 2,0ml de solução salina tamponada (DPBS, Gibco®Invitrogen, São Paulo, SP, Brasil) acrescida de soro fetal bovino (SFB) a 10%. Posteriormente a cada amostra foi adicionada sobre 2,0ml de solução Ficoll-paque® Plus na densidade 1,077g/ml (Amersham Biosciences, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 495 x g durante 30 minutos a 15ºC e separadas em quatro porções: plasma, nuvem celular (seta), Ficoll-paque® e células vermelhas (Figura 1A).

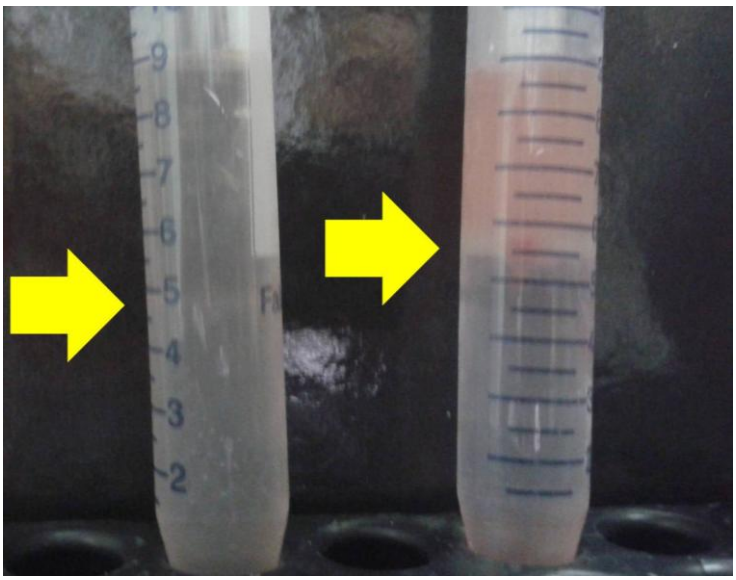


FIGURA 1 - Frações das amostras após a centrifugação em Ficoll-paque®. Nuvem celular composta por células mononucleares da medula óssea (seta)

As nuvens celulares foram transferidas para um único tubo Falcon de 15ml que foi centrifugado por mais duas vezes com 10 ml de DPBS e uma terceira centrifugação foi realizada com 10 ml de meio de cultivo Ham-F12 (Vitrocell®) suplementado com soro fetal bovino a 10% (Stem Cells®) a 385 x g durante 10 minutos a 4ºC. Na sequência, o meio foi

desprezado e o sedimento celular resuspenso em 1,0ml de meio de cultivo para contagem celular em câmara hemocitométrica por microscopia de luz. O rendimento e a viabilidade celular foram determinados por técnica de exclusão vital por azul de Tripan 4%, em que uma alíquota de 10µL será adicionada a 10µL do corante azul de Trypan 0,2% para contagem de células mononucleares viáveis e não viáveis na câmara de Neubauer em microscópio óptico.

O rendimento celular por mililitro foi determinado pela fórmula: V x FN x FT/#Q, sendo V=número de células viáveis contadas; FN = fator da câmara de Neubauer (10^4); FT = fator de diluição do azul de Trypan (2) e #Q = número de quadrantes utilizados para contagem. A viabilidade foi estabelecida pela fórmula: Vx100/NT, em que V=número de células viáveis contadas e NT número total de células como descrito por SOUZA (2009) e OLIVEIRA et al. (2011).

Protocolo 2: Células mononucleares da medula óssea total

Neste grupo os animais foram submetidos à eutanásia pela aplicação intravenosa de 100mg/kg de Tiopental sódio e após dois minutos foi administrado 10ml de Cloreto de Potássio a 10%. Em seguida foi realizada a amputação dos membros torácicos de cada animal. Cada membro foi lavado em álcool a 70% e em seguida cada úmero foi completamente removidos e adicionados e agitados em tubo falcon de 50mL contendo álcool a 70% durante um minuto. Na sequência, os úmeros foram lavados com solução de NaCl a 0,9%, seguida da osteotomia com auxílio de uma cisalha. Foi realizada a lavagem do canal medular com solução de NaCl a 0,9% heparinizada (5000UI/500mL de solução de NaCl a 0,9%), sendo o lavado colhido em uma placa de petri. Posteriormente o lavado medular foi aspirado da placa e acondicionado em tubos falcon estéreis de 50mL e abrigados da luz em um isopor sem gelo.

As amostras foram centrifugadas a 489G a 15ºC durante 20 minutos e o plasma e solução fisiológica sobrenadante foram desprezados com auxílio de uma pipeta. Em seguida 2,0mL desta solução foram diluídas em 2,0mL de solução salina tamponada (DPBS, Gibco®Invitrogen, São Paulo, SP, Brasil) acrescida de soro fetal bovino (SFB) a 10%. Posteriormente a cada amostra foi adicionada sobre 2,0ml de solução Ficoll-paque® Plus na densidade 1,077g/ml (Amersham Biosciences, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, as amostras foram centrifugadas duas vezes, uma a 495G durante 30 minutos e outra a 495G durante 15 minutos, ambas a 15ºC. Formando-se ao final quatro porções distintas: plasma,

nuvem celular (seta), Ficoll-paque® e células vermelhas. Em seguida as nuvens celulares foram colhidas e processadas para a verificação da viabilidade e rendimento conforme o protocolo anterior. Os resultados foram analisados de forma descritiva.

RESULTADOS

No protocolo 1 foi obtido o rendimento celular de $9,85x10^6$ células/mL, já no protocolo 2 a média do rendimento celular foi de $1,54x10^6$ células/mL. Já a viabilidade celular foi de 91% e 39,33% no protocolo 1 e 2 respectivamente (Tabela 1).

TABELA 1 – Valores obtidos de células vivas (CV), células mortas (CM), rendimento celular/mL e viabilidade celular de acordo com os protocolos de isolamento.

Animal	Protocolo 1 Grupo I				Protocolo 2 Grupo II			
	CV	CM	Rendimento celular/mL	Viabilidade	CV	CM	Rendimento celular/mL	Viabilidade
1	180	17	$9,85x10^6$	91%	164	363	$2,635x10^6$	31,1%
2	-	-	-	-	99	200	$1,495x10^6$	33,1%
3	-	-	-	-	35	65	$0,5x10^6$	53,8%
Média	180	17	$9,85x10^6$	91%	99,33	209,33	$1,54x10^6$	39,33%

DISCUSSÃO

Em relação aos locais da aspiração da medula óssea foi citado por Grindem, Neel, e Juopperi (2002) a crista ilíaca, o trocanter maior do fêmur e o tubérculo maior do úmero. Neste experimento, optou-se pela colheita aspirativa no tubérculo umeral devido à facilidade na obtenção de grande volume do aspirado e na padronização do traumatismo gerado pela punção. A colheita da medula foi simples, porém dependente do protocolo anestésico. Seringas e agulhas foram heparinizadas para prevenir entupimento e coagulação das amostras. Existe a possibilidade de coagulação da amostra quando não for utilizado a heparina e o anticoagulante lesar as células medulares, entretanto, não foi determinado à necessidade e o volume adequado. Apesar da utilização da heparina durante a aspiração medular, houve a formação de coágulos sanguíneos, os quais podem reduzir a viabilidade e o rendimento

celular, neste isso não foi observado, visto que o rendimento celular foi similar ao obtido por OLIVEIRA et al. (2011)

Foi utilizado apenas um animal neste grupo por esse protocolo já estar padronizado por OLIVEIRA et al. (2011), no entanto realizou-se pequenas alterações no protocolo, demonstrando que não houve alteração no rendimento e viabilidade obtidas por OLIVEIRA et al. (2011), em que a média de rendimento $6,65x10^6$ células/mL e a viabilidade de 92,66%, sendo que as pequenas alterações empregadas no presente estudo utilizaram materiais menos onerosos, o que favorece a sua aplicabilidade.

No estudo conduzido por CONNOLLY et al. (1989), a colheita aspirativa de células mononucleares da crista ilíaca de coelhos apresentou o rendimento médio de $8,6x10^6$ células/mL. Como o protocolo do presente estudo foi estabelecido apenas para o isolamento de células mononucleares, a não utilização da solução de lise eritrocitária poderia interferir na técnica de cultivo celular, pois as hemácias iriam consumir o meio de cultura com as células mononucleares, criando desta forma um ambiente de competição, o que poderia retardar a ocorrência da aderência das células tronco mesênquimais na garrafa de cultivo.

O protocolo utilizado de colheita total da medula óssea total foi realizado em animais que seriam destinados à eutanásia, conforme exigências do Comitê de Ética em Pesquisa, portanto optou-se pela prática do princípio dos três R's (*replacement*, *reduction* e *refinement*) da experimentação animal, conforme descrito por RIVERA (2006). No entanto, esta técnica de colheita para coelhos é muito mais trabalhosa e apresentou baixo rendimento e viabilidade celular. Em espécies menores, a colheita de medula óssea por osteotomia é bastante praticada como em ratos (ZHANG & CHAN, 2010). O baixo índice de rendimento e viabilidade celular talvez seja justificado pela maior contato das células mononucleares da medula óssea com o meio externo (ambiente), agentes tóxicos (álcool a 70%) e trauma físico. O tempo de permanência de um minuto do úmero no álcool a 70% talvez tenha sido bastante longo, o que pode ter levado a grande quantidade de células mortas. Os pesquisadores ZHANG & CHAN 2010 recomendam apenas a rápida imersão do osso de ratos em isopropanol a 70%, como o úmero do coelho é muito maior e mais espesso que o do rato acreditou-se que a imersão durante esse tempo em álcool a 70% seria adequada. Com relação ao trauma físico, a maior quantidade de centrifugações pode ter levado a lise de células mononucleares e desta forma reduzir diretamente a quantidade de células viáveis.

A técnica descrita de isolamento celular é utilizada para separação da fração mononuclear de ratos, coelhos e cães e, se inicia com centrifugação e retirada do soro (BITTENCOURT et al., 2006). O protocolo 1, utilizando o aspirado medular foi adaptado da

técnica descrita por OLIVEIRA et al. (2011), optou-se pela utilização do meio de cultura HAM-F12 e a não utilização da solução de lise eritrocitária para reduzir custos com o processamento e desta forma desenvolver um protocolo mais acessível do ponto de vista econômico, o que demonstrou haver pouca diferença no rendimento e viabilidade celular em comparação a técnica de OLIVEIRA et al. (2011). Devido ao protocolo 2 (isolamento de células mononucleares da medula óssea total) ter apresentado utilizando um baixo rendimento e viabilidade celular, acredita-se que esta técnica não é indicada em coelhos, diferentemente de outras espécies como camundongos (TROPEL et al., 2004; LIU et al., 2010) e ratos (McFARLIN et al., 2006; KENDIRCI et al., 2010).

Segundo Strauer e kornowisk (2003), a quantidade de células-tronco encontradas na medula óssea é de 0,05%. Por tanto são necessárias alternativas para aumentar o número de células por meio de expansão em cultivo celular, sugerida por Cottler-Flox (2003) e Lee (2004). O aumento da quantidade de células resulta no maior aproveitamento das amostras e maiores chances de sobrevida, portanto recomenda-se o procedimento de cultivo celular para a melhor utilização da terapia celular..

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, o protocolo 1, aspiração da medula óssea modificado em coelhos, apresentou resultados similares a outros protocolos descritos na literatura. O protocolo 2, colheita de medula óssea total por osteotomia em coelhos, aprentou baixo rendimento e viabilidade celular, além de ser mais trabalhoso.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da mudança do plano de trabalho original da bolsista por atrasos na chegada de material, falta de animais e grande quantidade de amostras a ser processada na Instituição de Ensino parceira da EVZ/UFG, presente trabalho proporcionou resultados de grande importância por apresentar um protocolo de isolamento de células mononucleares da medula óssea de coelhos de menor custo e, desta forma, de aplicabilidade clínica mais prática. No entanto, o protocolo de isolamento de células mononucleares da medula óssea total de coelhos não mostrou-se prático, por ser um protocolo mais trabalhoso e requer a eutanásia do animal,

sendo portanto não recomendado para esta espécie. Entretanto de forma experimental este protocolo necessita de adaptações, principalmente com relação ao procedimento de colheita.

Por último, estudos de isolamento de células mononucleares da medula óssea devem ser conduzidos em outras espécies animais, como equinos, ovinos, caprinos, bovinos, cães, gatos, etc, de forma a tornar viável a terapia celular na Medicina Veterinária.

REFERENCIAS

BITTENCOURT, R.A.C.; PEREIRA, H.R.; FELISBINO, S.L.; MURADOR, P.; OLIVEIRA, A.P.E; DEFFUNE, E. Isolamento das células-tronco mesenquimais da medula óssea. Acta **Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v.14, n.1, p.22-24. 2006.

HUSS, R.; HOY, C. A.; DEEG, H. J. Contact- and growth factor-dependent survival in a canine marrow-derived stromal cell line. **Blood**, Washington, v.85, n.9, p.2414-2421, 1995.

KENDIRCI, M.; TROST, L.; BAKONDI, B.; WHITNEY, M. J.; HELLSTROM, W. J. G.; SPEES J. L. Transplantation of nonhematopoietic adult bone marrow stem/progenitor cells isolated by p75 nerve growth factor receptor into the penis rescues erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. **The Journal of Urology**, v.184, p.1560-1566, 2010.

LIU, Y.; WANG, L.; FATAHI, R.; KRONENBERG, M.; KALAJZIC, I.; ROWE, D.; LI, Y.; MAYE, P. Isolation of murine bone marrow derived mesenchymal stem cells using Twist2 Cre transgenic mice. **Bone**, v. 47, p.916-925, 2010.

McFARLIN, K.; GAO, X.; LIU, Y. B.; DULCHAVSKY, D. S.; KWON, D.; ARBAB, A. S; BANSAL, M.; LI, Y.; CHOPP, M.; DULCHAVSKY, S. A.; GAUTAM, S. C. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells accelerate wound healing in the rat. **Wound Repair and Regeneration**, Denmark, v. 14, p. 471-478, 2006.

OLIVEIRA, B. J. N. A. Enxerto osteocondral alógeno, associado à inoculação de células mononucleares da medula óssea e proteína morfogenética óssea no reparo do sulco troclear de coelhos. 2008. 53 f.**Dissertação (Mestrado Ciências Veterinárias)** – Faculdade de Medicina Veterinária,Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

OLIVEIRA, B. J. N. A.; SOUZA, L. A.; EURIDES, D.; SILVA, L. A. F.; BAUNGARTEN, L. B.; BUSNARDO, C. A. Aislamiento, viabilidad y rendimiento de células mononucleares de medula ósea de conejos. **Hematologia**, v. 45, n. 1, p.113-118, 2011.

RIVERA, E.A.B.; AMARAL, M.H.; NASCIMENTO, V.P. **Ética e bioética aplicada à medicina veterinária**. Goiânia: Goiânia, 2006, 380p.

SOUZA, L. A. Enxerto osteocondral alógeno, associado à inoculação de células mononucleares autólogas da medula óssea no reparo do sulco troclear de coelhos. 2009. 67 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)** – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

TROPEL, P.; NOëL, D.; PLATET, N.; LEGRAND, P.; BENABID, A.L.; BERGER, F. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow. **Experimental Research**, v. 295, p. 395-406, 2004.

ZHANG, L.; CHAN, C. Isolation and Enrichment of Rat Mesenchymal Stem Cells (MSCs) and Separation of Single-colony Derived MSCs. **Journal of Visualized Experiments**, v. 37, p.1852, 2010.

RINGE, J.; KAPS, C.; SCHMITT, B.; BUSCHER, K.; BARTEL, J.; SMOLIAN, H.; SCHULTZ, O.; BURMESTER, G.R.; HÄUPL, T.; SITTINGER, M. Porcine mesenchymal stem cells. Induction of distinct mesenchymal cell lineages. **Cell andTissue Research**, London, v.307, n.3, p.321-327, 2002.

CAMPAGNOLI, C.; ROBERTS, A.G.; KUMAR, S.; BENNETT, P.R.; BELLANTUONO, I.; FISK, N.M. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow**. Blood**, Washington, v.98, n.8, p.2396-2402, 2001.

MAUNEY, J.R.; VOLLOCH, V.; KAPLAN, D.L. Role of adult mesenchymal stem cells in bone tissue-engineering aplications: current status and future prospects. **Tissue Engineering**, New York, v.11, n.5-6, p.787-802, 2005.

STRAUER B. E.; KORNOWISK, R. Stem cell therapy in perspective. **Circulation**, Dallas, v.107, n.7, p.929-934, 2003.

ALÉM DA TOCA DO COELHO: A SUBVERSÃO DA LITERATURA INFANTIL FINISSECULAR EM *ALICE NO PAÍS DAS MARAVILHAS* E *CORALINE*[1]

Orientando: Jéssica Cristine Fernandes Mendes[2]

Orientador: Alexander Meireles da Silva[3]

Unidade acadêmica: UFG – CAMPUS CATALÃO

E-mail orientando: jessica.guimmy@hotmail.com

E-mail orientador: prof.alexms@gmail.com

[1] Revisado pelo orientador.

[2] Graduanda em Português e Inglês pela Universidade Federal de Goiás – Campus Catalão. Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC) com o plano de trabalho "Além da toca do coelho: a subversão da literatura infantil finissecular em *Alice no país das maravilhas* e *Coraline*" sob a orientação do Dr. Alexander Meireles da Silva e vinculado ao projeto de pesquisa "Fronteiras do Fantástico: Leituras da Fantasia, do Gótico, da Ficção Científica e do Realismo Mágico".

[3] Coautor deste artigo e orientador do plano de trabalho "Além da toca do coelho: a subversão da literatura infantil finissecular em *Alice no país das maravilhas* e *Coraline*", vinculado ao projeto de pesquisa "Fronteiras do Fantástico: Leituras da Fantasia, do Gótico, da Ficção Científica e do Realismo Mágico". Professor adjunto do Departamento de Letras da Universidade Federal de Goiás – Campus Catalão e Professor do Mestrado em Estudos da Linguagem do CAC/UFG.

Resumo: Os dois grandes exemplos da vertente da Literatura Infanto-Juvenil inglesa nas últimas décadas do século XIX são incontestavelmente *Alice no país das maravilhas* e *Alice através do espelho* (1872), ambos do inglês Lewis Carroll. A contestação da identidade pessoal de Alice é desenvolvida numa narrativa em que a primeira e a terceira pessoas do discurso se confundem. Neste aspecto, chama a atenção nos romances de Carroll um padrão que se encontrava presente em uma série de obras não apenas do início do século vinte, mas também em obras de fim de mesmo século como o romance *Coraline* (2002), do inglês Neil Gaiman, na qual a abordagem da problemática identitária na contemporaneidade se realiza por meio da adoção das convenções e estratégias narrativas do romance gótico. A primeira vista, a possibilidade de uma leitura inter-relacional das literaturas gótica e infantil parece anômala. No entanto, a análise proposta mostra que essas duas ficções compartilham as mesmas origens e, por vezes, justapõe suas convenções literárias em um mesmo texto. Neste quadro, este estudo tem como objetivo demonstrar como os romances *Alice no País das Maravilhas* (1862), de Lewis Carroll e *Coraline* (2002), de Neil Gaiman ecoaram o característico ambiente finissecular de suas épocas para subverter e inovar a Literatura Infantil inglesa da segunda metade dos séculos dezenove e vinte.

Palavras–chave: Literatura Infantil – Gótico – Fantasia - Literaturas de Línguas Inglesa

INTRODUÇÃO

As diversas mudanças decorrentes da Revolução Industrial e de outros eventos levaram a Europa da segunda metade do século dezenove a ser palco de complexas transformações que marcaram muitas esferas da experiência humana, dentre elas a Literatura. Talvez em nenhuma vertente literária este fato possa ser constatado de forma mais clara do que na Literatura Infantil.[4]

À medida que o século dezenove avançava e o pensamento pragmático produzido pela Revolução Industrial já permeava diversas áreas da sociedade, a Literatura Infantil foi sendo transformada. No lugar das narrativas vinculadas aos mitos e as tradições orais presente, por exemplo, nos contos de fadas coletados na Alemanha pelos irmãos Grimm, começou a se impor uma outra fantasia onde o maravilhoso advindo das inovações tecnológicas foi introduzido na própria realidade cotidiana, fundindo-os de tal maneira que o imaginário infantil perdeu seu espaço no mundo real e se deslocou para outras esferas de representação (COELHO, 1997, p. 106).

Como Zohar Shavit destaca, chama a atenção neste período a introdução de personagens-crianças decorrente da gradual percepção da criança como um ser intrinsecamente diferente do adulto (1999, p. 321). Como veremos ao longo do

[4] Não será abordada neste projeto a problemática da distinção entre os termos "Literatura Infanto-Juvenil" e "Literatura Infantil".

desenvolvimento deste projeto, esta inovação permitiu o estabelecimento da temática do conflito entre a vivência da criança e as vivências do adulto como uma representação simbólica da fragmentação do indivíduo não compreendido mais como um sujeito absoluto e pleno frente ao novo *zeitgeist* finissecular. Diversos romances que foram criados especificamente para o público infantil, como *Alice no país das maravilhas* (1862), do inglês Lewis Carroll e *A ilha do tesouro* (1883), do escocês Robert Louis Stevenson refletem esta questão.

Um dos elementos da Literatura Infantil finissecular que refletiu a situação de alienação do homem diante da sociedade foi a utilização de uma fantasia ligada ao realismo absurdo ou ao *nonsense*. Os dois grandes exemplos dessa vertente da Literatura Infanto-Juvenil são incontestavelmente o supracitado *Alice no país das maravilhas* e *Alice através do espelho* (1872), também de Lewis Carroll. Ambos os livros são marcados por um texto estruturado ao redor de peripécias ilógicas, absurdas e inverossímeis que ultrapassou sua dimensão de obras da Literatura Infantil inglesa para tornarem-se literatura ocidental. A contestação da identidade pessoal de Alice e a perda de seu próprio nome são desenvolvidas numa narrativa em que a primeira e a terceira pessoas do discurso se confunde.

Neste ponto cabe mencionar que se a criança é um ser cuja identidade precisa ser formada para que ela se constitua como sujeito, as instituições sociais como a família e a escola tentarão passar-lhe uma idéia linear da ordem do mundo, pensando, assim, estar contribuindo para a ausência de conflitos. No entanto, a criança, mais do que qualquer ser, é o agente do conflito no mundo burguês. Ao mesmo tempo em que lhe dizemos “você é grande demais para fazer tal tolice”, retrucamos, “você é pequena demais para querer tal coisa”. A criança, como o experimentado pela personagem Alice, vive o paradoxo de ser, ao mesmo tempo, “grande” e “pequena”.

No entanto, mas do que a presença do *nonsense* o que chama a atenção nos romances de Carroll é um padrão que se encontrava presente nos romances da época e que era caracterizado por dois pontos: a criança como protagonista e o espaço mágico para onde a criança se desloca para viver a trama (KHÉDE, 1990, p. 41). Tal fato pode ser exemplificado em uma série de obras não apenas do início do século vinte, tais como o já citado *A ilha do tesouro*, de Robert Louis Stevenson, *O mágico de Oz* (1900), de L.1 Frank Baum, *Peter Pan* (1904), de James Barrie, e *A menina do narizinho arrebitado* (1920), de Monteiro Lobato, mas também em obras de fim de mesmo século como *Coraline* (2002), do inglês Neil Gaiman, na qual a abordagem da problemática identitária na contemporaneidade se realiza por meio da adoção das convenções e estratégias narrativas do romance gótico.

A primeira vista, a possibilidade de uma leitura inter-relacional das literaturas gótica e infantil parece anômala. Afinal de contas, as sinistras ambivalências das narrativas góticas se contrapõem as aparentemente inofensivas fantasias compensatórias dos romances para crianças. A releitura pós-moderna dessas formas literárias perpetradas por escritoras como Margaret Atwood, Angela Carter e Anne Sexton, no entanto, mostram que essas duas ficções compartilham as mesmas origens e, por vezes, podem justapor suas convenções literárias em um mesmo texto. Como esta pesquisa espera demonstrar em uma perspectiva comparativista com a obra de Lewis Carroll, a leitura de *Coraline* como uma obra que subverte as fronteiras entre a fantasia e o gótico tem como propósito justamente abarcar a fragmentada configuração identitária na pós-modernidade.

METODOLOGIA

Este estudo não seguiu nenhum método específico, estruturando sua pesquisa primeiramente na definição dos textos críticos de, dentre outros, Fred Botting, Maggie Kilgour, Maria Tatar, Marina Warner, Nelly Novaes Coelho, Stuart Hall e Jack Zipes. Na sequencia, as obras que compõe o corpus da pesquisa sofreram uma leitura crítica visando a análise de sua estrutura em relação aos seus respectivos momentos literários. Posteriormente, focando na proposta do projeto, os pontos de contato e divergência entre os dois romances foram estabelecidos em relação ao ambiente finissecular.

RESULTADOS

A pesquisa resultou em comunicações e publicações em eventos acadêmicos, como na apresentação de comunicação dentro da edição 2013 do Encontro Nacional do Insólito como Questão na Narrativa Ficcional, realizado pelo Instituto de Letras da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), realizado em março de 2013. Dentro da temática do evento sobre o medo o trabalho trouxe o título O projeto abordou o medo com o trabalho intitulado "*O medo refletido nos olhos de botões e o gótico através da porta em Coraline*" abordando como se dá o processo de construção do medo.

Outra produção ocorreu no III SINALEL – Simpósio Nacional de Letras e Linguística II Simpósio Internacional de Letras e Linguística UFG/CAC, realizado no período de 11 a 14

de julho de 2013. A participação se deu com a comunicação oral do artigo *"A subversão da literatura infantil finissecular em Alice no país das maravilhas e Coraline"*.

DISCUSSÃO

Falar de *Alice no país das maravilhas* é falar sobre uma obra que soube capturar as angustias e ansiedades da segunda metade do século dezenove e apresentá-las sob a forma de uma jornada de uma criança por um mundo marcado pela falta de certezas. Neste sentido, a viagem da pequena menina Alice se equipara a situação do próprio homem finissecular, "isolado, exilado ou alienado, colocado contra o pano de fundo da multidão ou da metrópole anônima e impessoal", como bem define Stuart Hall (1999, p. 32). De fato, esta *Belle Époque* europeia, como ficou conhecido o período de fins do século dezenove e início do século vinte, foi caracterizada de um lado pela prosperidade econômica resultante da industrialização rápida e da exploração colonialista, advindas ambas da hegemonia do racionalismo científico, e de outro pela estabilidade política, derivada de uma teia complexa de alianças diplomáticas. Essa atmosfera de segurança e prosperidade permitiu que os benefícios materiais e culturais dessa sociedade fossem partilhados por um número elevadíssimo de pessoas levando as classes média e alta a gozarem de uma vida de extravagância e despreocupação sem precedentes. Os elegantes fidalgos trocavam amabilidades e exibiam a última moda no *Hyde Park* de Londres, ou no *Unter den Linden* de Berlim; o *café society* fervilhava nas calçadas de Viena; foliões iam a bailes de máscara na Ópera de Paris.

No entanto, a prosperidade econômica e cultural contrastava com a situação das classes populares não apenas na Inglaterra, mas na Europa como um todo. Com o aumento das fábricas e os demais avanços do progresso, aumentou também a insegurança do povo em relação ao futuro. As fábricas se tornaram cada vez maiores, as profissões cada vez mais especializadas, as máquinas cada vez mais ininteligíveis. A partir de 1850 começaram a aparecer os estudos de gerenciamento científico que atingiriam seu auge com as pesquisas de tempo e de movimento, de Taylor, em 1906. Devido a esses fatores, a realidade dos trabalhadores nas fábricas de fins do século dezenove em muito se assemelhou à condição de pessoas em situações de servidão observadas ao longo da história da humanidade, ou seja, sob completa disciplina e consequente falta de liberdade. Em sintonia com seu *zeitgeist*, o dândi flanava pelo cenário das cidades enegrecidas pela fuligem das fábricas lotadas por mulheres e crianças em busca de sensações que pudessem, por momentos, aplacar seu desencanto, seu

tédio profundo, seu desencanto com a decadência de fim do século que, por volta de 1880, gerou o movimento do Decadentismo (LOPES, 2008, p. 38). Alicerçado nas mesmas bases culturais o fim de século também fomentou a revitalização do romance gótico e a ascensão da literatura fantástica enquanto gênero literário nos termos todorovianos: "... a literatura fantástica nada mais é do que a má consciência deste século XIX positivista" (TODOROV, 1992, p. 176).

É dentro deste cenário que se insere a história de Alice iniciada quando a mesma estava na companhia de sua irmã no jardim quando ela vê passar um Coelho Branco com pressa portando um relógio de bolso. Curiosa com a imagem, ela segue o coelho e entra nas entranhas de uma árvore onde acava caindo lentamente chegando a um corredor repleto de portas. Lá ela acha uma chave sobre uma mesa, que abre uma porta minúscula. Alice quer passar pela portal, mas esta é muito pequena. No entanto ela encontra uma garrafa cheia de líquido com um rótulo no qual está escrito "Beba-me", e um bolo com uma etiqueta onde se lê "Coma-me". Alice prova os dois e descobre que um deles faz com que ela cresça de tamanho e o outro a faz encolher. Ela tem dificuldades ao usar ambos, pois ou ela fica grande demais para passar pela porta ou fica pequena demais para alcançar a chave. Essa inconstância de seu ser se liga a discussão proposta por Deleuze em *A lógica dos sentidos* (1974) onde o crítico aponta o romande de Carroll como um exemplo do paradoxo (DELEUZE, 1974, p. 82), o que neste caso também nos permite vincular o paradoxo vivenciado por Alice com a própria realidade social experimentada pelo homem finissecular, perdido entre a teoria da evolução de Darwin, as transformações tecnológicas e as ideias de Freud, dentre outros fatos. Cabe destacer que este elemento de constantes mudanças de tamanho da personagem e do comportamento da personagem diante dessa realidade são recorrentes ao longo do romance.

Passando pela porta e depois de atravessar um lago formado pelas lágrimas que ela derramara enquanto ela era uma gigante, Alice chega a uma floresta e encontra o Coelho Branco. Ele a confunde com sua criada e ordena que ela vá pegar várias coisas na casa dele. Alice obedece a vai até a casa do Coelho. Ao chegar lá, ela bebe outro líquido e fica grande demais para sair pela porta. Ela acaba descobrindo um pequeno bolo que, quando comido, faz com que ela volte ao seu tamanho normal.

De volta à floresta e ao longo de todo o romance, Alice encontra uma série de seres e situações marcados pela presença do *non-sense*, tais como uma lagarta gigante que oferece conselhos preciosos a menina, um gato cuja existência é marcada pela fluidez de sua presença e que avisa a Alice que todos aqueles que ela irá encontrar são loucos, e uma festa de chá com a presença de uma lebre, um rato de campo e um chapeleiro louco e uma rainha louca que

gosta de decapitar seus desafetos. Em todos estes encontros nota-se que que o livro de Carrol confronta o leitor com personagens que exploram ao máximo a produção do sentido (KHÉDE, 1990, p. 45). Ao fim da narrativa, Alice se recusa a ser intimidada pela lógica distorcida do tribunal e mque foi colocada pelos Rei e Rainha de Copas. Subitamente, todas as cartas se levantam e a atacam. Neste momento, ela acorda. Suas aventuras no País das Maravilhas tinham sido apenas um sonho fantástico. Assim como *Alice no país das maravilhas*, *Coraline* também convida o leitor a mergulhar em um mundo marcado por uma lógica interna, o que neste segundo caso se estrutura a partir do cruzamento das fronteiras dos gêneros característico do Pós-Modernismo.

Tendo iniciado sua carreira nas histórias em quadrinhos voltadas para o público adulto, na Inglaterra de meados da década de oitenta, o inglês Neil Gaiman logo marcou seu nome ao lado de outros quadrinistas do período, como o também inglês Alan Moore, o escocês Grant Morrisson e o norte-americano Frank Miller. Como ponto em comum a estes três autores, chama à atenção a transgressão com outros gêneros e expressões artísticas até então pertencentes a outras esferas, tais como as Artes Plásticas, o Cinema, a Fotografia e a incorporação de estratégias literárias associadas ao Pós-Modernismo. No entanto, diferente de seus pares, Gaiman enveredou na década de noventa por outros caminhos na carreira, levando-o rapidamente a se tornar um dos expoentes da nova geração de escritores ingleses através de coletâneas de contos (*Fumaça e espelhos* / 1998; *Coisas Frágeis* / 2006), romances adultos (*Deuses americanos* / 2001; *Os filhos de Anansi* / 2005) e romances voltados para o público infanto-juvenil (*O dia em que troquei meus pais por dois peixinhos dourados* / 1997; *O livro do cemitério* / 2008). Neste último campo, destaque para *Coraline* (2002), romance ganhador de prêmios concedidos por associações tanto de literatura de Fantasia quanto de Terror, como os concedidos respectivamente pelo *Nebula Awards* e o *Bram Stoker Awards*. Tal fato demonstra o cruzamento de gêneros perpetrado pela obra de Gaiman e a utilização de elementos comuns as vertentes fantásticas da Fantasia e do Gótico como a casa. Neste sentido este trabalho tem como objetivo analisar a presença do gótico em *Coraline* (2002) focando nas representações da casa enquanto espaço do medo.

Falar da casa e do medo é falar de literatura gótica, mas o que seria este gótico e como ele dialoga com uma obra que, a primeira vista pertenceria ao universo infantil?

A palavra "gótico" tem origem etimológica "godos", uma tribo germânica provavelmente da Escandinávia e da Europa oriental. No século V os godos se dividiram entre visigodos e ostrogodos travaram batalhas e obtiveram sucesso na invasão e grande influência no declínio do império Romano, saqueando povoados e se estabelecendo em

algumas regiões ocidentais da Europa. Logo sua associação com o paganismo e barbarismo, derivadas do fato de terem ajudado na derrocada do (civilizado) Império Romano, se difundiu aera medieval, fantasmas, gato preto, bruxas e demônios crenças do europeu medievo; crenças estas que penetrariam na cultura popular Séculos depois da inserção dos godos ao povo europeu, durante o Renascimento, o termo gótico foi usado de forma crítica para designar a arquitetura não clássica que encontraria sua expressão maior nas catedrais góticas, porém os artistas se voltaram para artifícios carregados de ruínas e transgressões, pondo em duvidas os pensamentos racionalistas, trazendo a tona um clima decadentista carregado de sentimentalismo e emoções o que parecia zombar a arte iluminista que vigorava, na segunda metade do século XVIII o termo finalmente chegou a esfera literária na Inglaterra por meio do membro do Parlamento Horace Walpole e seu *Castelo de Otranto* (1764). Já o século XIX esta expressão romanesca passou a abarcar com mais predileção a ruína humana, explorando efeitos estéticos assombrosos que intentavam refletir o inconsciente, a realidade da mente finissecular que oscilava entre a razão e o imaginário e o temor do nascimento do novo mundo.

> No século XX, assim como nos séculos anteriores, o ressurgimento vital do gótico aconteceu nas décadas finais de cada século, fato relevante para o estudo da literatura, visto que nos apresenta uma dinâmica estética que da voz aos medos e expectativas inerentes a passagem de um século para o outro (SANTOS, 2010, p. 42).

Chama a atenção neste percurso a transformação na presença de certos elementos que foram muito recorrentes nas narrativas góticas no século XVIII, como os castelos, monstros e vampiros que eram bem mais fáceis de serem identificados como gótico, pois com o passar do tempo os subsídios deste gênero se adaptaram a formas menos claras de serem enxergadas, adquirindo nuances em diversas formas literárias, inclusive na literatura infantil com a família e a casa. Esta segunda, a casa, sobretudo, foi lugar ideal e de grande importância para a construção deste ambiente gótico, pois é reflexo de seus donos, o lugar onde o individuo tece suas primeiras interações de convívio com o outro, desbrava espaços e cria conceitos, mas acima de tudo a casa é o primeiro lugar de ruínas, corpórea e familiar.

Contos como “A queda da casa de Usher” (1839), de Edgar Allan Poe, substitui os efeitos claustrofóbicos do ambiente gótico europeu pela mente degradada do ser humano moderno, assim como os castelos antigos passam a ser representados pela casa que se molda em profundidade e respira de acordo com o interior dos personagens, sendo este o tipo de ambiente que melhor proporciona narrativas recorrentes e representativas a degradação da família a partir do século XIX e XX.

A casa é nosso canto do mundo, nosso primeiro universo, como afirma Bachelard em *A poética do espaço* (1978), tomaremos este canto como "lugar", pois todo ser humano precede de um lugar antes de pertencer ao "espaço". A vida começa internalizada e acolhida no útero, e esta é nossa primeira experiência de lugar, pois só conhecemos o ambiente por que estamos inseridos nele, vivemos através da percepção física que mantemos e interagimos com ele, pois o lugar recebe nosso corpo e o influencia, mas também é influenciado, havendo assim uma integração mutua entre o corpo e o lugar. Este é o papel que a casa recebe, ela nos acolhe e nos abriga se tornando um universo variante, pois dentro dela adquirimos as primeiras experiências sociais de forma a podermos partir para o geral, ou seja, é inserido no ambiente familiar que criamos vínculos e aprendemos a lidar com os sentimentos e as pessoas, por isto a lembrança da casa no qual passamos a infância é recorrente e ate mesmo a estrutura física da casa em que vivemos tem valores oníricos, neste sentido a casa perde o valor de uma mera construção física e se torna algo bem mais ativo e profundo para o inconsciente e o corpo.

> Nessas condições, se nos perguntassem qual o benefício mais precioso da casa, diríamos: a casa abriga o devaneio, a casa protege o sonhador, a casa nos permite sonhar em paz. Somente os pensamentos e as experiências sancionam os valores humanos. Ao devaneio pertencem os valores que marcam o homem em sua profundidade. O devaneio tem mesmo um privilégio de auto-valorização, ele desfruta diretamente seu ser (BACHELARD, 1978, p. 201).

Isto repercute de forma mais profunda se pensarmos no psicológico infantil, pois os adultos perdem os primeiros vínculos com o universo da casa e para as crianças o espaço da casa imaginada ou inconsciente, que acontece nos devaneios e na imaginação, tomam valores responsáveis por uma mente ora idealizadora ora aconchegada a um calor primeiro, e o espaço palpável ou o conforto, dão a elas materialidade e proteção, cantos para que possam devanear. Ambos os fatores se revelam estritamente emblemáticos na imaginação de uma criança. Os valores oníricos se tornam as engrenagens de uma mente capacitada a aprender através das experiências que serão realizadas ou apenas imaginadas, e este é um mundo vivenciado somente pela criança. A família reflete de forma direta e ativa na disposição dos objetos físicos e na áurea imaterial da casa e esta ligada de forma própria a este casual conforto. Desta forma a exposição do ser ao espaço, o mundo fora das quatro paredes e, por conseguinte a uma nova casa, reflete imódica ansiedade e por vezes o medo. Assim as experiências carregadas em seu inconsciente serão responsáveis por sancionar prudências para lidar com o

novo, pois no interior do ser estão seus valores distintos e a proteção da casa - o calor primeiro, citado por Bachelard - um paraíso material que esta impregnado no ser.

Engrenando esta perspectiva para o fluxo da literatura fantástica do século XXI, podemos confabular inúmeras interpretações a cerca destes valores e de como a família insere as crianças em seus lares. O ambiente gótico é concebido de forma mais devastadora no imo dos personagens e da casa, sendo a família é o primeiro e mais significativo formador cultural de um ser, e é no seio familiar que a literatura gótica encontra palco para experiências transgressoras mais profundas.

Muitas vezes, como no romance *Coraline*, a união estética do estranho e do grotesco se torna inevitável e praticamente intrínseca se tratando de uma narrativa em um gênero mais recluso ao interior da personagem e da casa. O estranho nos traz a imagem hedionda daquilo que é familiar, ou seja, nos deparamos com algo conhecido que se tornou estranho e assustador, e isto estabelece uma ponte nebulosa em relação às fronteiras da realidade material e psíquica, o que resulta em uma perda da capacidade de criar conceitos sobre o objeto estranho. Tanto na literatura quanto nos devaneios de uma criança, o sentimento de estranhamento pode ser desfrutado de forma mais franca e significativa, isto não ocorreria de modo tão satisfatório na realidade racional fora da ficção, pois "[...] qualquer um que se tenha livrado, finalmente, e de modo completo, de crenças animistas será insensível a esse tipo de sentimento estranho." (FREUD, 1919, p.20). Ainda segundo o pensador alemão:

> Quando o estranho se origina de complexos infantis, a questão da realidade material não surge; o seu lugar é tomado pela realidade psíquica. Implica numa repressão real de algum conteúdo de pensamento e num retorno desse conteúdo reprimido, não num cessar da *crença na realidade* de tal conteúdo. Poderíamos dizer que, num caso, o que fora reprimido é um determinado conteúdo ideativo, e, no outro, a sua realidade (material) (FREUD, 1919, p.21).

Desta forma a fonte que liga a imagem da casa imaginada e a casa física se difunde no objeto estranho; poderíamos dizer que a realidade psíquica teria mais valor em nossa investigação, pois esta será voltada ao âmbito literário e infantil, no qual a amplitude do imaginário e do estranhamento é transformado em um fator estético bem mais profundo e desperta com mais clareza sua função, porém não podemos ignorar a realidade material, pois ela fornece o contraste necessário a realização deste sentimento, e acontece de forma muito distinta neste romance, pois a realidade é apresentada sob dois parâmetros, o real e o familiar, o que provoca um grau máximo de estranheza, pois é a partir das impressões da realidade palpável e principalmente visuais que a personagem cria e perde conceitos para o estranhamento da realidade paralela. Este segundo item, o visual, também tem caráter

importante a ser salientado, pois os olhos têm papel imprescindível nesta narrativa, "[...] Eles exprimem a vida puramente individual, e de alguma forma interna, que tem a própria existência, a qual não conta para nada o grotesco" (BAKHTIN, 1999, p.285).

Dentro da estrutura do romance, o grotesco por sua vez aparece na projeção da outra mãe, que por ocasião não tem olhos e sim botões negros, como veremos mais adiante. Assim como o estranho, as imagens do grotesco também resultam em estranhamento daquilo que é conhecido, pois estas se tornam figuras ambivalentes e disformes produzindo os sentimentos de terror e asco, principalmente pela sua característica que revela figuras bicorporais pendentes a um corpo inacabado e distorcido, a mistura de seres humanos à animais asquerosos também são características próprias do grotesco, como no caso da outra mãe, a aranha.

No romance de Gaiman, Coraline Jones a personagem principal da narrativa de mesmo nome, é uma criança excêntrica e criativa que vive uma aventura proporcionada somente a ela, por isto a classificamos como gênero do grotesco estranho, a qual esta ligada ao espaço individualizado da personagem e ao interior da casa. Coraline se muda para um apartamento em uma casa grande e antiga, dividida para abrigar mais hospedes inclusive no sótão e porão. Ela não se sente confortável na nova casa e se distrai explorando os arredores do jardim, lá encontra um poço fundo e perigoso, lacrado por tabuas, e tenta brincar com um gato negro arisco que só a observa a distância.

Em um dia de chuva, impedida de sair e entediada, procura pela atenção dos pais, que, apesar de trabalharem em casa nunca tem tempo para a garota. Seu pai sugere uma exploração para catalogar os bens do apartamento e Coraline se depara com uma grande porta de madeira esculpida que fica num canto da sala de visitas, uma sala com móveis caros e desconfortáveis herdados de sua avó, e por insistência faz com que sua mãe abra a grande porta, porém e para a insatisfação da garota a passagem estava fechada por um muro de tijolos, que supostamente fora colocado para dividir o outro apartamento ainda desocupado. À noite Coraline ouve ruídos e segue um pequeno vulto, que a guia ate a sala de visitas perto da grande porta, sua sombra é refletida na parede e se assemelha a uma mulher magra e gigantesca, um dos presságios que antecedem sua aventura, ao aproximar-se da porta a encontra destrancada, mas fechada pelos tijolos.

A partir daí Gaiman deixa evidente vários presságios recebidos por Coraline, a garota sonha com formas negras assemelhadas a ratos, que também mandam um recado pelo velho louco que mora no apartamento de cima para que ela não atravesse a porta. Da mesma forma, as senhoras que moram no apartamento de baixo leem as folhas de chá de Coraline e a alertam

que ela esta correndo grande perigo, concedendo a ela um amuleto, uma pedra com um furo no meio que, segundo elas, servia para proteger contra coisas ruins. Algum tempo depois Coraline se encontra sozinha em casa sentindo-se novamente entediada, e por curiosidade decide pegar a chave da grande porta que estava pendurada no alto. Ao abri-la, para sua surpresa, se depara com um corredor escuro, odoroso e frio. Isto, no entanto, não limita a curiosidade da personagem que decide atravessar o corredor. No caminho Coraline sente algo familiar e percebe que esta em um apartamento idêntico ao seu, o sentimento de estranheza é aqui despertado, pois a personagem se sente confusa pela sensação de que partiu de um lugar e retornou ao mesmo, mas aquela não era sua verdadeira casa, lá jazia uma mulher que:

> Lembrava um pouco a mãe de Coraline. Apenas... Apenas sua pele era branca como papel. Apenas ela era mais alta e mais magra. Apenas seus dedos eram demasiado longos e não paravam nunca de mexer, e suas unhas vermelho-escuras eram curvadas e afiadas (GAIMAN, 2003, p.33).

No lugar dos olhos botões negros. Neste trecho há um contraste entre o sublime e o grotesco, pois Coraline perde a capacidade de criar conceitos em relação ao novo ambiente e à outra mãe, "[...] o espírito sente-se tão pleno de seu objeto que não pode admitir nenhum outro nem, conseqüentemente, raciocinar sobre aquele objeto que é alvo de sua atenção" (BURKE, 1993, p.65). A outra mãe tem características exageradas e que por vezes a assemelham a uma aranha, animal que provoca desconforto em Coraline, o sublime é acionado principalmente pelo sentimento de terror e medo da morte, internalizados por Coraline, e o grotesco "viola as leis da natureza; em termos visuais, é um mundo no qual as classificações se quebram, resultando em uma tensão incoerente entre o ridículo e o tenebroso" (SANTOS, 2010, p.49) aflorados pela outra mãe.

Nesta nova versão de sua casa, Coraline é exposta a uma realidade que não existia em sua verdadeira residência. A outra mãe cria um mundo feito especialmente para a criança, pois sua intenção é preencher o vazio que coraline sente em sua casa, entre vários acontecimentos que se sucedem, Coraline reencontra o gato negro, que é o único personagem na realidade paralela que não tem botões negros no lugar dos olhos e este se diz ser o mesmo gato, pois os gatos têm o poder de atravessar mundos na hora em que bem entendem e por isto a outra mãe o odeia. O gato alerta Coraline sobre a verdadeira natureza da outra mãe e a garota começa a perceber que o lugar apropriado é com sua verdadeira família, pois suas intuições e as evidências geradas ao longo da historia denotam as reais intenções da outra mãe: para Coraline permanecer na outra casa e ser amada, sua condição seria pregar botões em seus olhos. Ela retorna a sua casa assustada, mas a esta altura já estaria presa na teia de

aranha, pois a outra mãe havia pegado seus verdadeiros pais, então Coraline regressa corajosamente ao outro mundo para tentar resgata-los.

Coraline propõe um jogo em que exploraria os arredores daquele pequeno mundo em busca de seus verdadeiros pais e da alma de três crianças que também haviam sido enganadas pela outra mãe, sendo que, se Coraline perdesse, deixaria a outra mãe lhe pregar os botões nos olhos e se ganhasse retornaria para casa com seus pais e libertaria a alma das crianças. Nesta exploração Coraline conta com a ajuda da pedra com um furo no meio dado pelas senhoras do apartamento abaixo ao seu, "pelo furo da pedra, o mundo era cinzento e descolorido como um desenho a lápis [...]" (GAIMAN, 2003, p.95) somente a alma das crianças brilhavam em meio ao cinza. A garota então começa uma busca aterrorizante no mundo disforme da outra mãe e mesmo com as trapaças ela consegue vencer o desafio, porem a outra mãe não pretendia deixá-la ir, mas Coraline usa sua esperteza e com a ajuda do gato consegue escapar e pegar o globo de neve acima da lareira, onde estariam seus verdadeiros pais, Coraline conta com a ajuda dos fantasmas das crianças e do espectro de seus pais para conseguir fechar a porta.

Porém sua desventura não acabaria aqui, pois a mão da outra mãe consegue passar pela porta e se move no mundo real atrás da chave, Coraline então cria um plano para acabar de vez com seu infortúnio. Carregando a chave presa em seu pescoço por um barbante e percebendo que a mão lhe seguia, ela então estende uma toalha em cima do poço e coloca a chave em seu centro, fazendo com que a mão caísse no poço de onde jamais sairia. Coraline volta a sua verdadeira família, que não se lembram de nada do que havia acontecido, e enfim pode descansar de sua aventura onde nem a nova moradia nem o primeiro dia de aula podem mais lhe amedrontar.

CONCLUSÕES

Ao longo desta pesquisa que objetivou demonstrar em uma perspectiva comparativista com a obra vitoriana de Lewis Carroll dialoga com o romance pós-moderno *Coraline* quanto a subversão das fronteiras entre a fantasia visando abarcar a fragmentação identitária finissecular chamou a atenção alguns pontos de destaque entre as obras, como o papel do medo.

O medo ativa o "sublime" seja no terror ou horror, ele aciona o temor da morte e vem acompanhado pela perda da capacidade de criar conceitos, Coraline apesar de não querer demonstrar sente este temor ao se deparar em um mundo que oferece, mas pede em troca e

isto se revela nocivo a sua vida avivando sentimento de repulsa, por outro lado Alice esta maravilhada com a curiosa realidade e pouco demonstra alarde mesmo estando rodeada de elementos nocivos o que para ela é um jogo de raciocínio vivido com pouca intensidade. Este medo toma a forma de criaturas grotescas e animais falantes, monstros que praticam sua função primordial, a de demonstrar algo e a forma com que as duas personagens lidam com tais criaturas revela diferenças e semelhanças. A curiosidade é presente em ambas as crianças porem a naturalização dos acontecimentos são características de Alice. Já Coraline se sente estapafúrdia com o que vê e vive, por um lado a curiosidade ameniza o sentimento de terror de Alice por outro ela intensifica a trajetória medonha de Coraline.

A posição do matriarcado (a rainha e a outra mãe) como seres soberanos também tem papel de destaque em ambas as obras e aponta para a visão da criança do mundo adultocentrico, ou da visão do homem finissecular diante da quebra das convenções de suas épocas seja no fim do século dezenove ou século vinte. As mães se apresentam com intenções nem sempre correspondidas de domínio dos seres mais fracos e criação de um mundo ideal para seus intuitos. Alice critica a sociedade de sua época - dando voz a uma criança altamente racional e realista mesmo estando em um mundo fantastico. Coraline também critica a sociedade, questionando o lugar da criança e a função da família em sua criação. Nos dois casos, porém prevalece a capacidade da literatura infantil de, por trás da sua aparente alienação e escapismo, refletir sobre as angustias de ansiedades de seu tempo.

REFERÊNCIAS

BACHELARD, Gaston. *A poética do espaço*. Trad. Joaquim José Moura Ramos, et al. São Paulo: Abril cultura, 1978.

BAKHTIN, M. M. *A cultura popular na idade média e no renascimento*: o contexto de François Rabelais. Trad. Yara Frateschi. São Paulo: Hucitec, 1999.

BOTTING, Fred. *Gothic.* London: Routledge, 1997. (The New Critical Idiom)

BURKE, Edmund. *Uma investigação filosófica sobre a origem de nossas idéias do sublime e do belo*. Trad. Enid Abreu Dobránszky. São Paulo: Papirus, 1993.

CARROLL, Lewis. *Alice no País das Maravilhas*. Trad. Rosaura Eichenberg. São Paulo: L&PM Editores, 1998. (L&PM POCKET; 143).

COELHO, Nelly Novaes. *Literatura infantil.* 6ed. São Paulo: Editora Ática, 1997 (Série Fundamentos; 87).

COELHO, Nelly Novaes. *O conto de fadas*. 3ed. São Paulo: Editora Ática, 1998 (Série Princípios; 103).

DELEUZE, Gilles. *A lógica do sentido*. Trad. Luiz Roberto Salinas Fortes. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1974. (Perspectivas; 35).

FREUD, Sigmund. *O estranho*. Edição Standard Brasileira das Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud, v. 24, 1987.

GAIMAN, Neil. *Coraline*. Trad. Regina de Barros Carvalho. São Paulo: Rocco Jovens Leitores, 2003.

HALL, Stuart. *A identidade cultural na pós-modernidade*. Trad. Tomaz Tadeu da Silva e Guacira Lopes Louro. 3ed. Rio de Janeiro: DP&A Editora, 1999.

HISTÓRIA DA ARTE. *Expressionismo*. Disponível em: <http://www.historiadaarte.com.br/linha/expressionismo.html>. Acesso em: 12 out. 2011.

KHÉDE, Sonia Salomão. *Personagens da literatura infanto-juvenil*. 2ed. São Paulo: Editora Ática, 1990. (Série Princípios; 61).

MULVEY-ROBERTS, Marie. (Ed.). *The Handbook to Gothic Literature*. New York: NY University Press, 1998.

SHAVIT, Zohar. The concept of childhood and children's folktales: test case – "little red riding hood". In: TATAR, Maria. (ed.) *The Classic Fairy Tales*: a Norton critical edition. New York: W. W. Norton & Company Inc, 1999, p. 317-332.

SILVA, Alexander Meireles da Silva. O Conto de fada e a questão da alteridade na Idade Média. In: *SIGNÓTICA*: revista do Programa de Pós-Graduação em Letras e Linguística / Faculdade de Letras. – v. 17, n. 1 (jan./jun. 2005). Goiânia: Programa de Pós-Graduação em Letras e Linguística / Faculdade de Letras. p. 1-19.

TATAR, Maria (ed.). *Contos de fadas*. Trad. Maria Luíza X. de A. Borges. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 2002.

TODOROV, Tzvetan. *Introdução à literatura fantástica*. Trad. Maria Clara Correa Castello. 2ed. São Paulo: Editora Perspectiva, 1992. 190p. (Coleção Debates 98).

ESTUDOS DE ADSORÇÃO COMPETITIVA DOS ÍONS CÁDMIO E ZINCO UTILIZANDO O CARVÃO DE OSSO.

JÉSSICA G. BARBOSA, CARLOS H. J. FIGUEREDO, JÚLIO R. B. NETO, INDIANARA C. OSTROSKI*
Curso de Engenharia Química - IQ – Universidade Federal de Goiás
E-mail para contato: jessica_gbarbosa@hotmail.com (bolsista PIBIC)
*Orientadora

RESUMO : Os metais pesados estão presentes em vários efluentes industriais em diferentes formas e concentrações. Quando liberados inadequadamente em corpos receptores trazem sérios prejuízos ao ambiente. Várias tecnologias têm sido propostas para a redução desta contaminação. A adsorção em carvão ativado de ossos de boi tem se mostrado uma alternativa atrativa por ser de fácil operação e baixo custo operacional. Para uma possível aplicação deste carvão como adsorvente em tratamento terciário industrial, torna-se necessário compreender o mecanismo de remoção dos íons em solução. Os metais cádmio e zinco foram escolhidos pela sua toxicidade e por estar presente no efluente de diferentes processos industriais. O projeto de uma coluna de adsorção requer informações sobre o equilíbrio do sistema e dos mecanismos difusionais e convectivos de transferência de massa no seu interior. Neste contexto, este trabalho visa avaliar o mecanismo de retenção dos íons Cd^{2+} e Zn^{2+} na coluna de leito fixo, em condições competitivas, utilizando o carvão de osso de boi. O estudo busca descrever os dados de equilíbrio bicomponente. Foram realizados ensaios na coluna de leito fixo em fluxo ascendente, para a obtenção dos dados de equilíbrio do sistema binário Zn-Cd. As curvas de equilíbrio foram obtidas em diferentes concentrações totais de alimentação nas seguintes frações equivalentes de cada íon: 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 e 0,9. Obteve-se alta eficiência quanto à redução das concentrações dos íons cádmio e zinco nas soluções testadas, no entanto observou-se que o íon cádmio é preferencialmente retido pelo adsorvente em sistema binário Cd-Zn.

Palavras-Chave: carvão ativado; zinco II; cádmio II; coluna de leito fixo.

Revisado pelo orientador.

1. INTRODUÇÃO

Um dos problemas mais sérios que afetam o meio ambiente é a poluição química de natureza orgânicas ou inorgânicas decorrentes dos despejos residências e industriais. Vários são os poluentes descartados nos rios, incluindo metais pesados, óleos, pesticidas, corantes, tensoativos entre outros (Aguiar e Novaes, 2002).

Os metais pesados estão ligados a alterações degenerativas do sistema nervoso central e não são metabolizados pelos organismos, produzindo, assim, o efeito de bioacumulação. A contaminação das águas por metais pesados traz efeitos nocivos, que não são prontamente percebidos pelo homem e, muitas vezes, os sintomas resultantes desta contaminação, que são mais visíveis quando atingem os níveis tróficos mais elevados, tardam a aparecer.

Assim, o risco de contaminação do meio ambiente por metais pesados tem conduzido a pesquisas que possam impedir, ou pelo menos, minimizar os efeitos poluidores destes metais. Nesse contexto, diversos processos têm sido propostos para reduzir a mobilidade dos metais pesados, e os métodos de adsorção/troca iônica estão entre as técnicas mais efetivas para o tratamento de águas (Ko et al., 2001). Além disso, outros processos, geralmente, mostram-se ineficientes ou com custos proibitivos quando aplicados a efluentes líquidos com concentrações muito baixas de metais pesados, menores do que 100 mg/L.

Visando atingir as concentrações de metal exigidas pela legislação para o descarte do efluente líquido industrial, o processo de adsorção aparece como um processo complementar ao tratamento convencional de efluentes. Os metais pesados podem ser removidos através da percolação da solução por um leito fixo de adsorção.

Vários exemplos de bons adsorvedores e trocadores iônicos podem ser citados, tais como carvões (Mohan e Chander, 2001), argilas (Pinto et al., 2002; Veli e Alyuz 2007; Bhattacharyya e Gupta, 2008; Guerra e Airoldi, 2008), e zeólitas (Ostroski et al., 2009 e 2011).

Os carvões ativados podem ser de origem vegetal, mineral ou animal. Carvões de origem animal são provenientes principalmente da carbonização de ossos de animais e são comumente aplicados na remoção de cor do xarope de açúcar. Outra aplicação bastante conhecida envolve a remoção de flúor, além de radioisótopos (Choy e Mckay, 2005). Para tais aplicações são utilizadas granulometrias em faixas específicas. Granulometrias fora da especificação são consideradas, pelos fabricantes, rejeitos industriais e podem ser utilizadas como adsorventes de cátions metálicos.

O carvão ativado de osso possui uma característica singular em relação aos outros carvões: a presença significativa de cálcio. Estima-se que apenas 10% de sua composição

esteja relacionada com carbono enquanto que até 90% é fosfato de cálcio, preferencialmente na forma de hidroxiapatita (Choy e McKay, 2005; Porter e Mckay, 2004). Como consequência, o mecanismo de retenção principalmente de metais pesados não está totalmente esclarecido (Choy e McKay, 2005). A compreensão da real contribuição dos processos de quimissorção, fisissorção ou até mesmo de processos de troca iônica é fundamental para melhorar a seletividade e eficiência do adsorvente.

O processo de adsorção pode ocorrer em batelada ou em sistemas como os leitos fixos. Os leitos fixos são particularmente interessantes devido à sua fácil operação e possibilidade de regeneração sem que o leito seja desmontado.

Em projetos de colunas de adsorção em leito fixo, a seleção apropriada da isoterma de equilíbrio ou da equação cinética interfere diretamente na qualidade dos resultados da simulação da dinâmica de colunas de adsorção a partir das equações de balanços de massa (Ernest et al., 1997).

Dentro deste contexto, a justificativa deste projeto ocorre devido a carência e necessidade de trabalhos sobre a remoção de metais em efluentes industriais utilizando carvão de osso. Considerando que as empresas estão cada vez mais investindo em tecnologias para tratamento de seus resíduos, o presente projeto traz novas contribuições à área de Meio Ambiente e pode atrair setores industriais locais que poderão se beneficiar com a tecnologia desenvolvida.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste projeto é estudar a remoção bicomponente dos íons metálicos cádmio e zinco em carvão de osso ativado, já que na maior parte das aplicações industriais, a solução a ser tratada apresenta vários íons distintos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Caracterização do Carvão

O adsorvente utilizado neste trabalho foi o carvão de osso da empresa Bonechar carvão do Brasil Ltda., considerado como rejeito por estar fora da especificação para fins de clarificação de xarope de açúcar. Segundo a empresa Bonechar do Brasil LTDA, o carvão granulado é produzido a partir da matéria-prima (ossos bovinos) rígida, adquirindo dureza necessária para evitar perdas excessivas, devido à fricção e manuseio. Possuem elevada área superficial, proporcionando alto poder de adsorção nas aplicações a que se destinam. São utilizadas em coluna de leitos fixos ou podem ser usadas em processos de adsorção em fase

líquida ou gasosa. As especificações do carvão de osso granulado podem ser encontradas na Tabela 1. O carvão utilizado nos experimentos se apresentou na forma de pó residual do processo de produção do carvão. O diâmetro médio de partícula foi de 0,0225 *mm*.

Tabela 1 – Especificações do carvão de osso de boi granulado

Propriedades	Especificação
Carbono	9 – 11%
Cinza solúvel em ácido	<3%
Fosfato tricálcico	70 –76%
Carbonato de cálcio	7 – 9%
Sulfato de cálcio	0,1 – 0,2%
Área superficial específica total (BET N^2)	200m^2/g
Área superficial do Carbono	50m^2/g
Ferro	< 0,3%
Tamanho de poro	7,5 – 60000 nm
Volume de poro	0,225 cm^2/g
Umidade	<5%
Densidade Aparente	0,65 gr/cm^3
Dureza	>80

3.2. Metodologia Analítica

As soluções utilizadas neste trabalho foram preparadas a partir dos seguintes reagentes PA, marca Nuclear: $CdCl_2 \cdot H_2O$ (cloreto de cádmio hidratado), $ZnCl_2$ (cloreto de zinco) e HNO_3 (ácido nítrico). A análise de concentração dos cátions na saída da coluna, bem como das concentrações iniciais, foram realizadas por Espectrometria de Absorção Atômica, utilizando-se um espectrofotômetro Perquim Elmer Analyst 400.

3.3. Determinação do pH ótimo

Para a determinação do pH ótimo foi analisado a variação de pH e a quantidade adsorvida no carvão. Utilizou-se onze erlenmeyers enumerados, cada um, contendo 50 mL de solução bicomponente de cloreto de cádmio e cloreto de zinco com concentração inicial de 3,0 meq/L para cada componente. Os pHs foram variados de 1 a 11, utilizando-se um

pHmetro e soluções de hidróxido de sódio e ácido nítrico. A cada elernmeyer, foi adicionado 0,25 g de carvão. Estes foram colocados em um shaker, com a temperatura regulada em 30°C e a velocidade de 150rpm. As amostras permaneceram no shaker por 24 horas, após esse tempo, elas foram retiradas, separadas do carvão por meio de filtração e suas concentrações finais foram analisadas.

3.4. Unidade de Adsorção

A unidade de adsorção era composta de dois reservatórios para a solução de alimentação e um para água deionizada usada na lavagem dos leitos. A unidade era equipada com uma bomba peristáltica (Milan) que alimentava os dois leitos encamisados, de diâmetro interno de 0,9 *cm* em fluxo ascendente e um banho termostático (Solab banho ultratermostático sl 152/10), conforme mostrado na Figura 1.

As seguintes condições operacionais foram utilizadas: altura do leito de 2,5 cm, 1,0g de carvão ativado, temperatura da alimentação e da água da camisa de 30ºC. A temperatura foi escolhida devido a uma aproximação com os processos reais e também por ter sido utilizada com sucesso em diferentes trabalhos de troca iônica/adsorção (Ostroski et al., 2009 e 2011; Oliveira 2012).

A montagem do leito para a realização dos ensaios foi iniciada com o preenchimento de um quarto das colunas com esferas de vidro (diâmetro de 3,94 *mm*) a fim de sustentar o leito e criar uma zona de normalização do fluxo na entrada do mesmo. Em seguida, foi colocado um pequeno chumaço de algodão, garantindo que o carvão não penetrasse entre as esferas. Depois deste procedimento, a coluna foi alimentada com água deonizada até próximo ao topo, sendo o fluxo interrompido e a massa de carvão adicionada. Após a decantação do carvão, outro chumaço de algodão foi colocado e, a partir daí, uma nova camada de esferas de vidro introduzida, completando a montagem da coluna. Depois da vazão e da temperatura serem ajustadas nos valores desejados, o ensaio era iniciado. A alimentação da coluna foi em fluxo ascendente e as amostras foram coletadas em intervalos regulares de tempo até o fim do ensaio, para se obter as respectivas curvas de ruptura (C/Co x t). Antes dos ensaios, o pH das soluções era ajustado com ácido nítrico (HNO_3). Não foram realizados testes em branco neste trabalho.

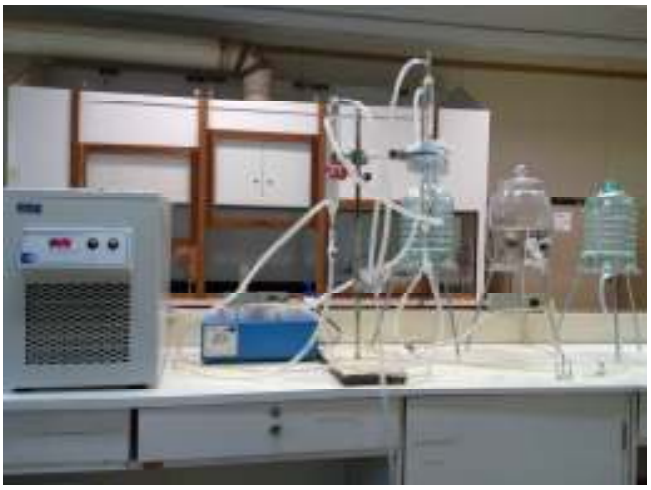


Figura 1- Unidade de adsorção.

3.5. Estimativa de Parâmetros para a Transferência de Massa

Os parâmetros de transferência de massa são de extrema importância no processo de adsorção, pois a partir deles se pode dizer se o processo é favorável ou não. Um dos principais parâmetros é o comprimento da zona de transferência de massa (*ZTM),* para o seu cálculo é necessário inicialmente calcular os tempos equivalentes à capacidade útil da coluna (t_u) e o tempo de saturação (t_t).

De acordo com Geankoplis (1993), considerando o ponto de ruptura com a coordenada (C_b, t_b) e realizando um balanço de massa na coluna, a quantidade removida até o ponto de ruptura é proporcional à integral dada pela Equação 1:

$$t_u = \int_0^{t_b} \left(1 - \frac{C_{out}}{C_0}\right) dt \tag{1}$$

Da mesma forma, o tempo equivalente à quantidade de soluto adsorvida se todo o leito estivesse em equilíbrio com a alimentação (t_t) pode ser calculado conforme a Equação 2:

$$t_t = \int_0^{\infty} \left(1 - \frac{C_{out}}{C_0}\right) dt \tag{2}$$

O parâmetro $\tau = t_u / t_t$ é considerado como a fração do comprimento útil da coluna até o ponto de ruptura. A partir do tempo adimensional τ é possível obter quantitativamente o comprimento da *ZTM*. Assim, a altura útil da coluna é dada pela Equação 3:

$$H_u = \tau \cdot H_t \tag{3}$$

em que H_t é a altura total do leito.

E a *ZTM* pode ser calculada pela Equação 4 (Geankoplis, 1993):

$$ZTM = (1-\tau)H_t \tag{4}$$

3.6. Cálculo da Capacidade de Adsorção da Coluna em Isotermas Dinâmicas

A quantidade de cádmio e zinco retidas no leito de carvão ativado de osso de boi é obtida por um balanço de massa na coluna usando os seus dados de saturação e monitoramento da concentração de saída da coluna em função do tempo. Para efetuar esse cálculo, é necessário garantir que a coluna esteja saturada. A capacidade de adsorção da coluna pode ser representada pela Equação 5:

$$q_{eq} = \frac{C_0 Q}{1000 m_s} \int_0^t (1 - C_{out} / C_0)\,dt \tag{5}$$

em que q_{eq} é a concentração de equilíbrio dos íons cádmio e zinco no adsorvente (meq/g), m_s é a massa seca de carvão ativado de osso de boi (g), Q é a vazão volumétrica da solução em mL/min e t o tempo em minutos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudo do pH ideal

Após a leitura da concentração final de cada uma das onze amostras, foi possível obter os resultados apresentados na Tabela 2, a qual apresenta: o $pH_{inicial}$, pH_{final} (que foi verificado após às 24 horas no shaker), a concentração final (C_F), a quantidade retida (q_{eq}) e a quantidade removida em porcentagem ($\%_{removida}$). Lembrando que a concentração inicial foi de 3,0 meq/L para cada metal.

Observou-se experimentalmente que a partir do pH inicial 7 ocorreu a precipitação do cloreto de cádmio e do cloreto de zinco, dessa forma, a faixa de pH 7 até 11 não é adequada para a realização dos experimentos, pois com a precipitação da solução ocorreria o entupimento da coluna de adsorção.

Tabela 2 – Dados para análise do pH ótimo

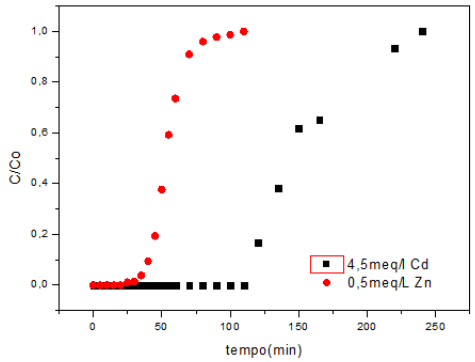
$pH_{inicial}$	pH_{final}	C_f(meq/L) Cd	C_f (meq/L) Zn	q_{eq}(meq/g) Cd	q_{eq} (meq/g) Zn	$\%_{removida}$ Cd	$\%_{removida}$ Zn
1,41	4,25	3,000	2,551	0,000	0,089	0,000	14,943
2,14	5,42	1,291	1,303	0,341	0,339	56,966	56,549
3,11	6,35	1,015	1,112	0,396	0,377	66,145	62,903
3,94	6,59	1,187	1,346	0,362	0,330	60,423	55,114
4,96	6,66	1,219	1,346	0,356	0,330	59,350	55,114
5,91	6,71	1,409	1,408	0,318	0,318	53,032	53,065
7,1	6,73	0,994	1,008	0,401	0,398	66,860	66,38
7,86	7,5	0,200	0,000	0,559	0,600	93,324	100
9,26	8,9	0,000	0,000	0,600	0,600	100	100
9,7	9,42	0,000	0,000	0,600	0,600	100	100
11,45	11,17	0,000	0,000	0,600	0,600	100	100

De acordo com a Tabela 2 observa-se maiores porcentagens retidas no carvão em valor de pH inicial de 3,11, no entanto para valores de pH 3,94 (≈4) e 4,96 (≈5) também obteve-se uma alta quantidade de metais retida no adsorvente. E como as soluções bicomponentes tinham um pH inicial entre 4,5 e 5,0, esta faixa foi escolhida como sendo a de pH ótimo para a realização dos experimentos do sistema bicomponente à 30°C.

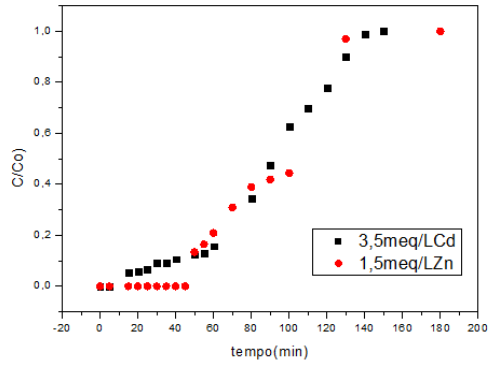
4.2. Curva de ruptura

Para obtenção dos dados de equilíbrio do sistema binário Cd-Zn as curvas de ruptura foram obtidas em diferentes concentrações totais de alimentação nas seguintes frações equivalentes de cada íon: 0,10; 0,30; 0,50; 0,70 e 0,90.

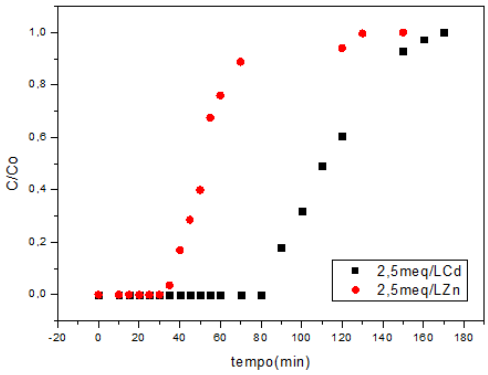
As curvas de ruptura foram obtidas até a saturação completa do leito para os dois íons presentes no sistema e são apresentadas na Figura 2.


C/Co
tempo(min)
4,5meq/l Cd
0,5meq/L Zn

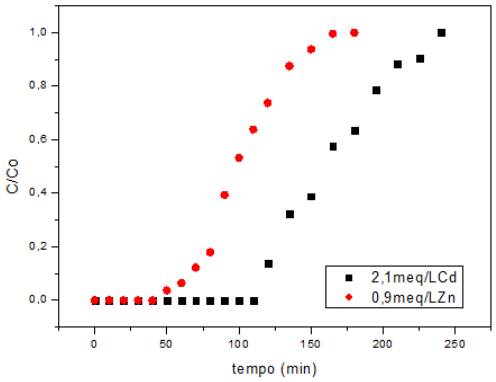
a)


C/Co)
tempo(min)
3,5meq/LCd
1,5meq/LZn

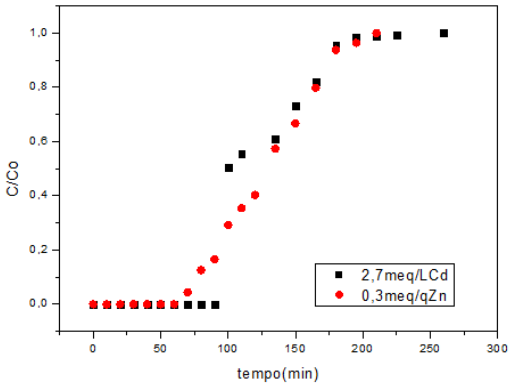
b)


C/Co
tempo(min)
2,5meq/LCd
2,5meq/LZn

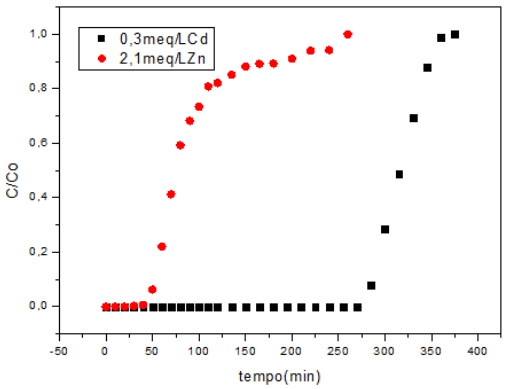
c)


C/Co
tempo (min)
2,1meq/LCd
0,9meq/LZn

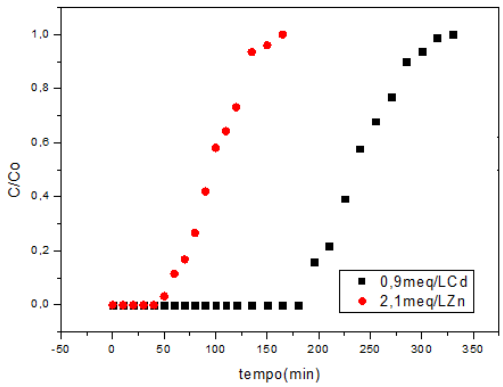
d)


C/Co
tempo(min)
2,7meq/LCd
0,3meq/qZn

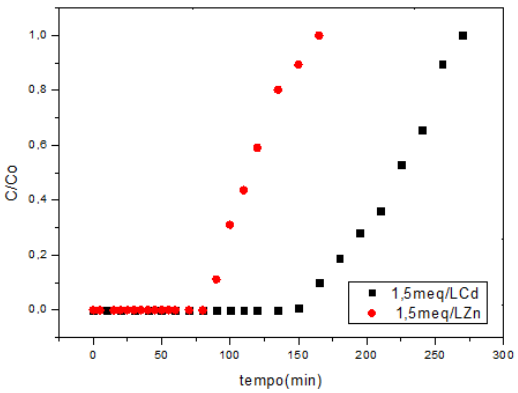
e)


C/Co
tempo(min)
0,3meq/LCd
2,1meq/LZn

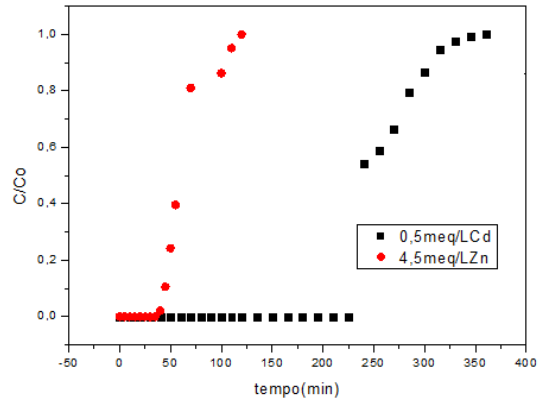
f)


C/Co
tempo(min)
0,9meq/LCd
2,1meq/LZn

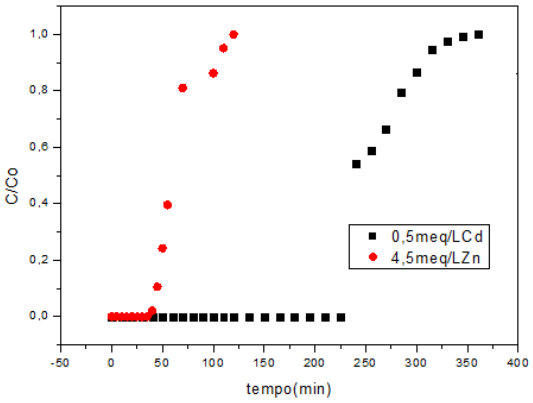
g)


C/Co
tempo(min)
1,5meq/LCd
1,5meq/LZn

h)



i)



j)

Figura 2- Curvas de rupturas obtidas experimentalmente.

De acordo com LU et al. (2004), citado por DENG e TING (2005), as propriedades de remoção de íons metálicos por adsorventes são complexas, pois são afetadas por fatores como: raio iônico, raio iônico hidratado dos íons metálicos, solubilidade de seus hidróxidos, energia de hidratação, carga e complexação superficial (Breck, 1974).

Observa-se na Figura 2 que independente da concentração de cada íon, a saída do cádmio do leito é tardia em relação à do zinco. Ou seja, o cádmio é preferencialmente retido no leito de carvão ativado. A troca binária, verificada neste estudo, se deve provavelmente às diferentes velocidades de difusão. O raio hidratado do íon cádmio (4,26 Å) é menor do que do íon zinco (4,30 Å), o que facilita a difusão do íon nos poros do carvão de osso.

4.3. Isoterma Dinâmica

Os dados experimentais de equilíbrio obtidos nos ensaios em coluna para a adsorção do cádmio e zinco foram utilizados para calcular a quantidade de metal removida até a saturação da coluna, empregando a equação (5). Na Tabela 3, são apresentados os valores calculados do comprimento da ZTM e as quantidades de cádmio e zinco retidas no adsorvente bem como a concentração de equilíbrio da solução. E a isoterma bicomponente é representada pela Figura 3.

Tabela 3- Valores dos parâmetros calculados para adsorção bicomponente

C_T (meq/L)	C_{Cd} (meq/L)	C_{Zn} (meq/L)	ZTM Cd	ZTM Zn	q_{eq}(meq/g) Cd	q_{eq}(meq/g) Zn
5,079	4,259	0,819	0,680	0,864	2,643	0,179
3,597	3,132	0,465	0,658	1,132	1,547	0,239
4,564	2,800	1,764	1,109	1,244	0,995	0,657
5,367	2,404	2,962	0,6520	0,883	1,059	0,645
2,983	1,654	1,328	0,762	1,161	1,080	0,539
6,204	1,425	4,779	0,647	0,731	1,247	1,317
3,562	1,357	2,205	0,698	0,684	1,179	1,024
3,867	0,901	2,966	0,561	1,172	0,858	1,159
5,563	0,525	5,038	0,297	0,882	0,540	1,294
2,444	0,315	2,129	0,294	1,235	0,398	0,798

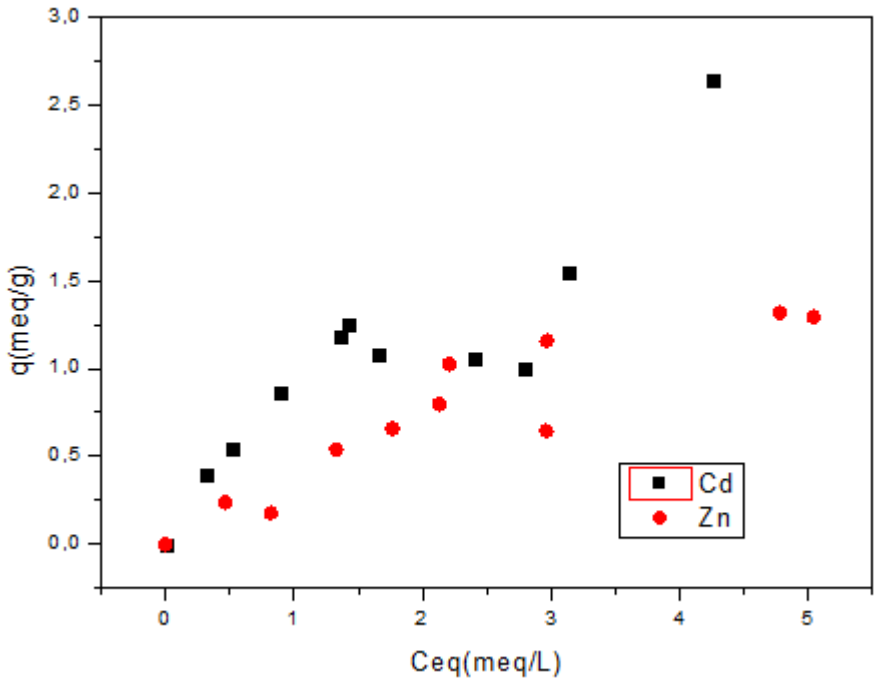


Figura 3- Isoterma dinâmica de adsorção

Analisando a Tabela (3) observa-se que para o sistema bicomponente Cd-Zn a quantidade máxima retida de cádmio foi de 2,64 meq/g na concentração inicial do mesmo de

4,26 meq/L e concentração de zinco na solução de 0,82 meq/L. Já a quantidade máxima retida de zinco no carvão de osso foi de 1,32 meq/g na concentração de 4,78 meq/L de Zn^{2+} e 1,43 meq/L de Cd^{2+}. Indicando a preferência do cádmio pelo carvão ativado de osso de boi.

Verificou-se também que a maior capacidade de adsorção total foi no primeiro ensaio, obtendo um valor de $q_{eqT} = 2{,}82 meq/g$, valor este muito próximo do obtido no sistema monocomponente para o cádmio (experimentos realizados pelo grupo anteriormente). Já se compararmos o valor da capacidade de adsorção para o íon zinco nos sistemas monocomponentes e bicomponente, observa-se que houve um decréscimo de 26,0% (Silva *et al.,* 2012) no sistema bicomponente, comprovando neste caso a interferência do cádmio na solução. A interferência do cádmio neste sistema possivelmente se dá pelo aumento da resistência à transferência de massa intrapartícula, já que o íon zinco tem que se difundir pelos canais em meio à presença do cádmio. Além disso, o Zn^{2+} tem que se difundir nos poros do carvão para um meio contendo uma concentração significativa de cádmio, ou seja, contra um gradiente de concentração.

Observa-se ainda na Tabela 3 que a *ZTM* total não ocupa a totalidade do leito de carvão em nenhum dos casos estudados. A maior razão ZTM/H_T foi obtida no terceiro ensaio, em média 94% do leito. Sabe-se que quanto menor a ZTM menor são as resistências difusionais, indicando a concentração ótima de operação da coluna. Neste caso, esta condição seria para o penúltimo ensaio, em que a concentração do íon cádmio é baixa e do íon zinco, alta.

Analisando o perfil da isoterma bicomponente (Figura 3) observa-se que a isoterma é favorável, em que grandes quantidades de espécies metálicas podem ser adsorvidas em baixas concentrações de soluto. E também é notável a influência significativa da concentração inicial no processo de adsorção. Alterações na concentração de alimentação determinam a forma da curva de ruptura. Segundo os estudos encontrados em Silva *et al*. (2002), a forma e a inclinação da curva dependem dos mecanismos de transferência de massa e as fases do equilíbrio.

É importante ressaltar ainda que a sorção em carvão de osso ocorre também por troca iônica, como foi sugerido por Suzuki *et al.* (1984), sendo que, em seguida à troca iônica, a adsorção pode eventualmente ocorrer inclusive em multicamadas. Realmente, estudos prévios já demonstraram que mesmo os trocadores iônicos mais tradicionais como as zeólitas, a troca iônica é seguida por um processo de adsorção (Oliveira, 2012). Assim, o mecanismo de retenção do cádmio e zinco no carvão de osso não está totalmente esclarecido. E mais dados

experimentais seriam necessários para a compreensão da real contribuição dos processos de quimissorção, fisissorção ou até mesmo de processos de troca iônica, essa compreensão é fundamental para melhorar a seletividade e eficiência do adsorvente.

5. CONCLUSÃO

Obteve-se alta eficiência quanto à redução das concentrações dos íons cádmio e zinco nas soluções testadas, utilizando o processo de adsorção pelo carvão ativado de osso Bonechar. Com esta conclusão torna-se possível a aplicação do carvão residual no tratamento de efluentes reais contendo os metais pesados cádmio e zinco. No entanto observou-se que o íon cádmio é preferencialmente retido pelo adsorvente em sistema binário Cd-Zn, logo a aplicação do adsorvente em processos reais seria mais viável para efluentes com altas concentrações de cádmio e menores concentrações de zinco.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, M. R M.P., NOVAES, A. C., Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. Química Nova, 25 (6B), 1146-1154, 2002.

BARROS, M. A. S. D. Avaliação do Mecanismo de Troca Iônica de Cromo em Sistemas Zeolíticos. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá- PR, 2003.

BHATTACHARYYA, K. G.; GUPTA, S. S. Influence of acid activationa on adsorption of Ni(II) and Cu(II) on kaolinite and montmorillonite:kinetic and thermodynamic study. Chemical Engineering Journal, v.136, p. 1-13, 2008.

BRECK, D. W., "Zeolite Molecular Sieves", Robert E. Krieger Publishing Company, Malabar-FL-USA, 1974.

CHOY, K.K.H., MCKAY, G., Sorption of cadmium, copper, and zinc ions onto bone charusing Crank diffusion model, Chemosphere 60, 1141–1150, 2005.

COSTA, C. A., Sorção de íons Cobre, Níquel e Zinco com o Rejeito do Beneficiamento de Carvões e outros Materiais Alternativos. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brasil, 1998.

DENG, S., TING, Y., "Characterization of PEI-modified Biomass and Biosorption of Cu(II), Pb(II) and Ni(II)", Water Research, 39, 2167-2177, 205.

ERNEST Jr., M. V., WHITLEY, R. D., MA, Z., LINDA WANG, N. H., Effects of Mass Action Equilibria in Fixed Bed Multicomponent Ion Exchange Dynamics. Industrial Engineering Chemical Research, 36, 212-226, 1997.

GAZOLA, F.C., PEREIRA, M.R., BARROS, M.A.S.D., et al., Removal of Cr in Fixed Bed Using Zeolite NaY, Jornal of Chemical Engineering, 117, 253-261, 2006.

GEANKOPLIS, C.J., Transport processes and Unit Operations, 3ª edição, 1993.

GUERRA, L. M.; AIROLDI, C. Anchores thiol smectite Clay-kinetic and thermodynamic studies of divalent copper and cobalt adsorption. Journal of solid state chemistry, , v.10, p. 6-9, 2008.

KRISHNAN, K.A., SREEJALESHMI, K.G., BAIJU, R.S., Nickel(II) adsorption onto biomass based activated carbon obtained from sugarcane bagasse pith, Bioresource Technol., 102, 10239–10247, 2011.

KO, D. C. K., PORTER, J. F., McKAY, G., Film Pore Diffusion Model for Fixed BedSorption of Copper and Cadmium Ions onto Bone Char, Water Res., 35, 16,387-3886, 2001.

McCABE, W.L., SMITH, J.C., HARRIOT, P., Unit Operations of Chemical Engineering, McGraw-Hill International Ed., 6th ed., 2001.

MOHAN, D., CHANDER, S., Single component and multi-component adsorption of metal ions by activated carbons. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 177, 2-3, 183-196, 2001.

SILVA, E. A., COSSICH, E. S., TAVARES, C. R., et al., "Modeling of Copper (II) Biosorption by Marine Alga Sargassum sp. in Fixed Bed", Process Biochemistry, 38, 791-799, 2002.

OLIVEIRA, C. M., Remoção de Metais Pesados Utilizando Carvão de Osso. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá- PR, 2012.

OSTROSKI, I.C., BORBA, C.E., SILVA, E.A., ARROYO, P.A., GUIRARDELLO, R., BARROS, M.A.S.D., Mass Transfer Mechanism of Ion Exchange in Fixed Bed Columns, J. Chem. Eng. Data, 56, 375-382, 2011.

OSTROSKI, I.C., BARROS, M.A.S.D., SILVA, E.A., DANTAS, J.H. ARROYO, P.A., LIMA, O.C.M., A comparative study for the ion exchange of Fe(III) and Zn(II) on zeolite NaY, J. Hazard. Mater., 161, 1404–1412, 2009.

PINTO, C. A., HAMASSAKI, L. T., DIAZ, F. R. V., DWECK, J., BÜVHLER, P. M., Estudo da estabilização por solidificação em cimento do resíduo do curtimento do couro contendo cromo. COBEQ 2002, In: Anais - Cd-Rom, Natal-RN, 2002.

PORTER, J.F., MCKAY, G., Sorption equilibria of metal ions on bone char. Chemosphere 54, 273–281, 2004.

RAO., S. M.; REDDY, B. V. V., LAKSHMIKANTH, S., AMBIKA, N.S., Reuse of tluoride contaminated bone char sludge in concrete, J. Hazard. Mater., 166,751-756, 2009.

VELI, S.; ALYUZ, B. Adsorption of copper and zinc from aqueous solutions by using natural clay. Journal of hazardous materials, v.149, p. 226-233, 2007.

ZAMBON, G. A., Remoção do Chumbo (Pb^{+2}) Utilizando a Zeólita Natural Clinoptilolita. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas -UNICAMP, Campinas – SP, 2003.

WALKER, G. M., WEATHERLEY, L. R., Bacterial regeneration in biological activated carbon systems, Process Saf. Environ., 76, 2,177-182, 1998.

WATSON, J.S., Separation Methods for waste and Environmental Applications, Marcel Dekker Inc., EUA, 1999.

Efeito do enriquecimento ambiental no comportamento e desempenho de leitões em fase de creche

Jéssica Moraes Cruvinel[1], Erin Caperuto de Almeida[2], Leonardo Alves Gomes[3], Thalita Nattiele de Oliveira Barbosa[3], Marcia Dias[4]

[1] Orientanda do curso de Zootecnia e bolsista de PIBIC, [2] Orientadora e Professora do curso de Zootecnia, [3] Acadêmicos do curso de Zootecnia, [4] Professora do curso de Zootecnia
Universidade Federal de Goiás – Campus Jataí
jessicacruvinel@gmail.com; erinalmeida@ig.com.br

Resumo

Objetivou-se estudar comportamento e desempenho de leitões na primeira e segunda semana após desmame submetidos a enriquecimento ambiental (EA). Utilizou-se 80 leitões, alojados em oito baias e distribuídos em DBC com dois tratamentos e quatro repetições, utilizando peso médio dos leitões para formação dos blocos. Os tratamentos foram constituídos por um grupo com e outro sem EA e as avaliações de comportamento foram mensuradas durante dez dias (período da manhã e tarde). Avaliou-se posição e atividades dos leitões. Realizou-se pesagem no início, aos oito e 15 dias do período experimental. Analisou-se os dados pelo modelo misto com o programa SAS v.9.2 (2008) a 5% de probabilidade. Houve efeito ($P<0,05$) da interação entre período de avaliação e uso do EA para as variáveis animais em pé e deitados. Não houve diferença ($P>0,05$) entre os animais que permaneceram sentados. Houve efeito ($P<0,05$) da interação entre período de avaliação e semana pós desmame para as variáveis animais em pé, deitados, sentados e vício. Houve efeito ($P<0,05$) do período para todas as variáveis de atividades comportamentais avaliadas. Houve efeito ($P<0,05$) da semana para todas as atividades comportamentais desenvolvidas. Não houve efeito ($P<0,05$) do EA para nenhuma atividade dos leitões. Não houve efeito ($P>0,05$) do EA no peso dos animais. Conclui-se que os animais apresentam maior atividade no período da tarde na segunda semana pós desmame, com redução dos vícios. O uso do EA não influenciou as atividades dos animais, assim como não prejudicou o desempenho dos leitões.

Palavra-chave: comportamento animal, suíno, pós desmame

Introdução

A suinocultura é uma atividade de alta importância econômica e em crescente expansão, entretanto predominam os sistemas intensivos de produção em regime confinado, instalações com piso de cimento e com alta densidade, onde os animais passam toda a sua vida produtiva, gerando diversas situações de estresse. Este tipo de sistema tem sido questionado em função da falta de bem estar para os suínos, sendo assim, são necessárias novas técnicas que promovam o bem-estar desses animais de produção.

Ainda com relação ao bem-estar, animais confinados encontram-se impossibilitados de manifestar seu repertório normal de comportamento e ficam expostos a um maior grau de agressões ao seu organismo. A preocupação com o bem-estar animal, não somente reflete uma postura "ética" com relação aos sistemas de produção vigentes, mas também tem se tornado uma exigência do mercado internacional, constituindo-se em breve, numa barreira oficial para o comércio entre países, especialmente com a Comunidade Econômica Européia (Ieler et al, 2009).

Correlacionando bem-estar com produtividade, existem evidências de que as respostas de estresse fisiologicamente crônicas podem ser responsáveis pela diminuição na produtividade dos suínos (Hemsworth et al., 1996).

Broom & Molento (2004), observaram que o comprometimento do bem-estar resulta em retardo ou diminuição do ganho de peso, atraso no início da reprodução e pode até levar os animais à morte, pois têm pouco controle das situações a que são submetidos no sistema de criação intensiva. De acordo com Hötzel et al. (2007), animais sem controle da situação a que estão submetidos ativam o medo como recurso para evitar situações perigosas.

Foi comprovado que a ausência de um ambiente adequado impossibilita o animal de demonstrar seu máximo potencial genético, de manter sua higidez e de nutrir-se de forma adequada (Sarubbi, 2009).

O enriquecimento ambiental é um princípio do manejo animal que procura ampliar a qualidade de vida dos animais em cativeiro através da identificação e fornecimento de estímulos ambientais necessários para alcançar o seu bem-estar psíquico e fisiológico, estimulando comportamentos típicos da espécie, reduzindo estresse e tornando o ambiente cativo mais complexo e diverso, por contemplar suas necessidades etológicas. Assim, o enriquecimento ambiental consiste em uma forma de propiciar melhor condição de vida aos animais (Boere, 2001; Hohendorff, 2003).

De acordo com estes estudos, diversos autores têm sugerido que o enriquecimento pode melhorar o bem-estar animal em ambientes monótonos, criando oportunidades para que

os animais possam expressar seu comportamento e atender suas necessidades (Van de Weerd et al., 2003, 2006). Van de Weerd et al. (2003), também citaram que estratégias de enriquecimento são importantes para estimular ou induzir ativades exploratórias, reduzindo comportamentos agonistas, tais como caudofagia e *belly nose* (Fraser et al, 1991; Peterson et al, 1995).

O tipo de enriquecimento (ingerível, destrutível, mastigável) (Feddes e Fraser, 1994; Van de Weerd et al., 2003), e forma de apresentação (suspenso ou soltos na baia) (Blackshaw et al., 1997), podem ser favoráveis para a manutenção da atratividade dos suínos.

Segundo Carlstead & Shepherdson (2000), a redução do estresse, a diminuição de distúrbios comportamentais, a redução de intervenções clínicas, a diminuição da mortalidade e o aumento de taxas reprodutivas são alguns benefícios do enriquecimento ambiental.

Chaloupková et al. (2007) observaram que para leitões na fase de pré-desmame, o enriquecimento ambiental com espaço ampliado e utilização de palha estimulou a brincadeira e reduziu comportamentos anti-sociais. Já no período pós-desmame, os animais oriundos de ambiente enriquecido apresentaram redução de agressões no momento de disputa por alimento.

De acordo com o experimento realizado por Campos et al. (2010), a colocação de brinquedos dentro da baia como forma de enriquecimento ambiental foi muito atraente para os animais na fase de creche, contudo, os autores constataram que os animais se acostumam com os brinquedos, perdendo o interesse pelos mesmos, e voltando a brincar com outros animais.

Com este trabalho, objetivou-se estudar o comportamento e o desempenho de leitões nas duas primeiras semanas pós desmame, no período da manhã e da tarde, submetidos ao enriquecimento ambiental com utilização de brinquedo de garrafa do tipo pet.

Metodologia

A pesquisa foi realizada na granja Rio Paraíso, a qual possui como principal atividade a produção industrial de suínos.

O experimento foi conduzido de 4 a 18 de abril de 2013, na creche, seguindo os princípios éticos de pesquisas em animais, após avaliação e aprovação pelo Comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Goiás.

Foram utilizados 80 leitões mestiços (Landrace x Large White), sendo 40 machos castrados e 40 fêmeas, em fase de pós desmame com idade de 21 dias e peso médio inicial variando de 5,15 a 7,62 kg, provenientes de reprodutores da própria granja.

Durante os 15 dias de experimentação os leitões ficaram alojados em baias suspensas de alvenarias contendo bebedouro tipo chupeta e comedouro semiautomático.

Os galpões onde estavam localizadas as baias de creche são providos de cortinas, permitindo que o galpão permaneça em temperatura de conforto para os leitões através do manejo de cortinas, ou seja, no período noturno ou dias mais frio (temperaturas abaixo de 20°C) as cortinas são fechadas e durante o dia as cortinas permanecem abertas para permitir trocas gasosas e manutenção da temperatura de conforto nos períodos mais quentes.

Para avaliar o efeito do enriquecimento ambiental, os leitões foram alojados em oito baias e distribuídos em delineamento de blocos ao caso com dois tratamentos e quatro repetições, utilizando-se o peso médio vivo dos leitões para formação dos blocos. Em cada baia foram colocados 10 animais (cinco machos e cinco fêmeas) respeitando a área mínima por animal de 0,35m².

Os tratamentos eram constituídos por um grupo com e outro sem enriquecimento ambiental. As baias com o enriquecimento ambiental eram compostas com garrafas do tipo pet que serviam como brinquedos para os leitões.

Para análise do comportamento dos animais, foram feitas quatro avaliações durante o período da manhã (8h00 às 11h10) e quatro avaliações durante o período da tarde (13h00 às 16h10), sendo que as atividades realizadas pelos animais foram observadas nos dez primeiros minutos de cada hora, somando assim, quatro momentos de dez minutos de avaliação por período. Nas baias que receberam os brinquedos, o mesmo era colocado dez minutos antes do início dos períodos de avaliação (manhã e tarde) e foram substituídos por novos e iguais quando amassados durante todo o período experimental.

As avaliações de comportamento dos animais foram realizadas durante dez dias, sendo duas avaliações de cinco dias consecutivos, considerando as duas semanas pós desmame. A primeira pesagem foi realizada para a formação dos grupos, sendo respeitado um dia de intervalo entre a pesagem e o início das atividades de avaliação do comportamento para evitar influências promovidas pelo estresse do manejo.

Foram escolhidos aleatoriamente seis animais de cada baia (três machos e três fêmeas) para avaliação do comportamento. Os mesmos foram identificados com bastão marcador, e as características comportamentais observadas foram de acordo com a posição dos leitões: em pé, deitado, sentado; e as atividades: comendo, bebendo, inativo, vício (lutando, perseguindo,

fugindo, monta, *belly nose*, mordendo e sugando) e explorando (fuçando, correndo, brincando sem a garrafa tipo pet) e brincando com a garrafa pet.

Para avaliação do desempenho dos animais foi realizada pesagem no início, aos oito dias de experimento e no final do período experimental, obtendo-se o peso dos animais.

Os registros de comportamento foram transformados em frequência relativa e interpretados como o tempo que os animais destinavam a cada tipo de atividade. Os dados foram analisados por modelo misto, considerando o efeito do bloco e dos erros como aleatórios, em parcela sub sub dividida com efeito do enriquecimento e do bloco na parcela; do período, interação do período e do enriquecimento na sub parcela; e efeito da semana, interações da semana e do enriquecimento, semana e período, semana, enriquecimento e período na sub sub parcela.

Os registros de ganho de peso também foram analisados por modelo misto, em parcela subdividida com efeito do brinquedo e do bloco na parcela e dos dias pós desmame na subparcela. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa SAS v.9.2 (2008) a 5% de probabilidade.

Resultados

Os resultados referentes à interação entre os períodos de avaliação e o uso de enriquecimento ambiental para as variáveis animais em pé e deitado estão apresentados na tabela1.

TABELA 1 – Interação entre período de avaliação (manhã e tarde) e o uso de enriquecimento ambiental para as variáveis animais em pé e deitado.

Enriquecimento ambiental	**Período**		**Valor - P**	**Erro Padrão**
	manhã	**tarde**		
	- Animais em pé (%) -			
Com	43,45 bA	59,67 aB	0,0005	2,3034
Sem	41,91 bA	66,75 aA	0,0001	
Valor - P	0,5799	0,0359		
	- Animais deitados (%) -			
Com	53,92 aA	38,24 bA	0,0003	2,1532
Sem	55,39 aA	30,88 bB	0,0001	
Valor - P	0,5497	0,0196		

[1] Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem pelo teste F (P<0,05).

Houve efeito (P<0,05) da interação entre período de avaliação (manhã e tarde) e uso do enriquecimento ambiental para as variáveis animais em pé e deitados. Sendo que a maior porcentagem dos animais permaneceu em pé no período da tarde e nas baias onde não foi colocado o enriquecimento ambiental e a maior porcentagem dos animais permaneceu deitado no período da manhã, independente da utilização do enriquecimento ambiental, porém no período da tarde houve diferença de cerca de oito porcento a mais de animais deitados nas baias com enriquecimento ambiental. Não houve diferença estatística (P>0,05) entre os animais que permaneceram sentados, independente da utilização do enriquecimento ambiental e período do dia.

Os resultados referentes à interação entre os períodos de avaliação e semanas pós desmame para as variáveis animais em pé e deitado estão apresentados na tabela 2.

TABELA 2 – Interação entre período de avaliação (manhã e tarde) e semana pós desmame (primeira e segunda) para as variáveis animais em pé, deitado e sentado.

Semana	**Período**		**Valor - P**	**Erro Padrão**
	manhã	**tarde**		
		- Animais em Pé (%) -		
Primeira	40,84 bB	56,97 aB	0,0001	2,2132
Segunda	44,52 bA	69,46 aA	0,0001	
Valor - P	0,0001	0,0001		
		- Animais deitados (%) -		
Primeira	55,80 aA	39,50 bA	0,0001	2,0795
Segunda	53,51 aA	29,62 bB	0,0001	
Valor - P	0,2662	0,0001		
		- Animais sentados (%) -		
Primeira	2,13 bA	3,42 aA	0,0001	0,4702
Segunda	1,52 aA	1,75 aB	0,6463	
Valor - P	0,1045	0,0001		
		- Atividades de vício (%) -		
Primeira	4,50 bA	8,23 aA	0,0001	0,7814
Segunda	3,71 aA	3,01 aB	0,2714	
Valor - P	0,1485	0,0001		

[1] Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem pelo teste F (P<0,05).

Houve efeito (P<0,05) da interação entre período de avaliação (manhã e tarde) e semana pós desmame (primeira e segunda) para as variáveis animais em pé, deitados e sentados. Sendo que maior porcentagem dos animais permaneceu em pé na segunda semana

pós desmame e no período da tarde, independente da semana pós desmame avaliada. Com relação aos animais deitados, pode-se observar que a maior porcentagem dos animais permaneceu deitada no período da manhã, independente da semana observada, entretanto, entre os animais deitados no período da tarde, houve diferença de cerca de 10 porcento a mais na primeira semana quando comparada a segunda semana pós desmame. Adicionalmente e complementando os resultados obtidos, pode-se observar um maior número de animais sentados no período da tarde na primeira semana pós desmame.

Os resultados referentes às atividades comportamentais avaliadas nos períodos da manhã e da tarde estão apresentados na tabela 3.

TABELA 3 – Atividades comportamentais avaliadas no período da manhã e da tarde.

Atividades comportamentais avaliadas	Período		Valor - P	Erro Padrão
	manhã	tarde		
Inativo	68,43 a	53,01 b	0,0003	1,9858
Comendo	19,13 b	27,95 a	0,0026	1,9006
Bebendo	1,52 b	2,88 a	0,0001	0,1637
Explorando	6,18 b	9,19 a	0,0395	1,4280

[1] Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na linha diferem pelo teste F (P<0,05).

Houve efeito (P<0,05) do período para todas as variáveis de atividades comportamentais avaliadas. No período da manhã, os animais se mostraram mais inativos e no período da tarde, apresentaram comportamento intensificado para todas as atividades avaliadas.

Os resultados referentes às atividades comportamentais avaliadas na primeira e segunda semana pós desmame estão apresentados na tabela 4.

TABELA 4 – Atividades comportamentais avaliadas na primeira e segunda semana pós desmame.

Atividades comportamentais avaliadas	Semana		Valor - P	Erro Padrão
	Primeira	Segunda		
Inativo	63,63 a	57,80 b	0,0051	1,9858
Comendo	18,60 b	28,48 a	0,0001	1,9006
Bebendo	1,95 b	2,45 a	0,0001	0,1637
Explorando	8,88 a	6,48 b	0,0068	1,3787

[1] Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na linha diferem pelo teste F (P<0,05).

Houve efeito (P<0,05) da semana para todas as atividades comportamentais desenvolvidas. Na primeira semana pós desmame, os animais se mostraram mais inativos, entretanto com maior porcentagem de atividade exploratória. Na segunda semana os animais comeram e beberam mais.

Os resultados do efeito do enriquecimento ambiental nas atividades comportamentais avaliadas estão apresentados na tabela 5.

TABELA 5 – Efeito do enriquecimento ambiental nas atividades comportamentais avaliadas.

Atividades comportamentais avaliadas	Enriquecimento Ambiental		Valor - P	Erro Padrão
	com	sem		
Inativo	62,23	59,20	0,4285	2,3742
Vício	4,02	5,71	0,1831	0,8225
Comendo	23,13	23,95	0,8195	2,3442
Bebendo	2,12	2,28	0,5053	0,1893
Explorando	6,53	8,84	0,4405	1,8450

[1] Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na linha diferem pelo teste F (P<0,05).

Não houve efeito (P>0,05) do enriquecimento ambiental para nenhuma das atividades comportamentais avaliadas.

Os resultados da influência do enriquecimento ambiental no peso dos animais na primeira e segunda semana de experimento estão apresentados na tabela 6.

TABELA 6 – Influência do enriquecimento ambiental no peso dos animais na primeira e segunda semana de experimento.

Peso (semana de experimento)	Enriquecimento Ambiental		Média	Erro Padrão
	com	sem		
Primeira	6,95	7,10	7,02 b	0,5198
Segunda	8,40	8,72	8,56 a	

[1] Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna diferem pelo teste t (P<0,05).

Não houve efeito (P>0,05) do enriquecimento ambiental no peso dos animais.

As frequências que representam os dados da variável brincando com a garrafa pet, um dos principais objetivos deste estudo, não foram avaliados devido à baixa representatividade, pois menos de um porcento dos animais apresentou atividades de interação com o enriquecimento ambiental, sendo assim, foram avaliadas as influências indiretas promovidas pela presença do brinquedo, como apresentado anteriormente.

Discussão

1. *Uso do enriquecimento ambiental*

As garrafas do tipo pet foram utilizadas como enriquecimento ambiental e colocadas nas baias com dez minutos de antecedência ao período de observação das atividades comportamentais, como descrito na metodologia, entretanto, este fato pode ter influenciado os resultados obtidos no projeto, pois observou-se uma porcentagem muito baixa de animais interagindo com a garrafa, como citado por Van de Weerd et al. (2003), os suínos habituam-se rapidamente com os objetos utilizados como brinquedos, reduzindo a utilidade do objeto como atividade exploratória (Wemelsfelder & Birke, 1997). Sendo assim, optou-se por não analisar e discutir os dados referentes à esta variável.

A escolha da garrafa pet como enriquecimento ambiental deu-se devido à facilidade de aquisição e ausência de custo para os produtores, vantagem também citada por outros pesquisadores que mostraram haver menos preocupações de higiene com objetos sólidos, quando comparados com o fornecimento de substratos como palha, além de possibilitar melhor utilização em pisos ripados (Mench, 1998 e Van de Weerd et al, 2003).

Entretanto, a garrafa foi colocada solta na baia, o que fez com que ficasse suja rapidamente, sendo este um fator que pode ter influenciado na falta de interesse dos animais pelo objeto, como citado no trabalho conduzido por Trickett et al. (2009), que compararam a utilização de corda suspensa e bloco de madeira e observaram maior interesse dos leitões na corda suspensa, pois além do fato de estar ao nível dos olhos e facilitar a mastigação, ficava menos suja do que o bloco de madeira.

Dentre as variáveis de comportamento observadas, os animais apresentaram-se mais ativos no período da tarde, exceto nas baias onde foi utilizada a garrafa pet, onde a maior parte dos animais permaneceu deitada. Entretanto, não houve diferença para as variáveis de atividades comportamentais analisadas quando se compara baias com e sem utilização de enriquecimento ambiental.

Apesar de não termos observados diferenças entre as atividades exploratórias nas baias com e sem enriquecimento, alguns estudos mostram que vários tipos de objetos podem promover alguma forma de exploração (Van de Weerd et al, 2006 e Scott et al, 2006). Isto já é sabido desde 1960, onde Berlyne mostrou que o enriquecimento é importante na inicialização do processo exploratório como um todo.

Segundo Newberry (1995) o uso de objetos como enriquecimento ambiental produziu efeitos inconsistentes na literatura, sendo que alguns autores observaram redução de

comportamentos agressivos (Moore et al., 1994 e Bracke et al, 2006), enquanto outros não observaram nenhum efeito na sua utilização (Pearce et al., 1989 e Pearce & Paterson, 1993). Isto está de acordo com nossa pesquisa, visto que não foram observadas diferenças nos comportamentos de vício.

A expectativa de que o enriquecimento ambiental poderia reduzir o impacto das atividades de vício no período pós desmame, como apresentado por Boe (1993) e Dudink et al. (2006), não se comprovou no presente estudo.

Com relação ao peso dos animais, podemos observar que não houve influência da utilização do enriquecimento ambiental. Este resultado é positivo, pois mostra que o aumento das atividades exploratórias nas baias com a garrafa pet não afetaram o ganho de peso. Contudo, Pearce et al. (1989) propôs que as taxas de suínos em ambientes não enriquecidos foram negativamente afetadas por elevações crônicas no hormônio do estresse cortisol. Nosso estudo não avaliou níveis de cortisol, mas sugere-se que os animais não foram submetidos à niveis elevados de estresse, pois permaneceram a maior parte do dia deitados ou ingerindo alimentos.

2. *Atividade de vício e exploratória*

Foram observadas maiores porcentagens das atividades de vício na primeira semana pós desmame no período da tarde, o que confirma a ideia de que a mistura após o desmame quase sempre acarreta maior porcentagem de atividades de vício (Rushen & Pajor, 1987). Os comportamentos de vício, como *belly nose*, estão relacionados com o desmame, uma vez que já foi observado sua ocorrência nas duas primeiras semanas após o desmame (Orgeur et al., 2001), sendo raramente expressado por leitões criados pela matriz.

Além do estresse emocional, os leitões desmamados em idades mais jovens normalmente demoram mais tempo para começar a ingerir alimentos sólidos e níveis satisfatórios de alimentos, consequentemente, eles ainda são socialmente e nutricionalmente dependentes do leite materno (Newberry & Swanson, 2008 e Weary et al., 2008), podendo apresentar comportamentos indesejáveis nas primeiras semanas após o desmame.

Também foi observada maior atividade exploratórias na primeira semana pós desmame, este resultado associado com a ausência de efeito do uso do enriquecimento ambiental para a interação com o brinquedo, pode ser explicado por Campos et al. (2010), que observaram que a colocação de brinquedos dentro da baia como forma de enriquecimento ambiental é muito atraente para os animais na fase de creche, contudo, constataram que os

animais se acostumam com os brinquedos, perdendo o interesse pelos mesmos, e voltando a brincar com outros animais.

3. *Atividade de comer e beber água*

Observou-se aumento na ingestão de ração e água no período da tarde e na segunda semana pós desmame. Na produção de suínos, é comum os leitões ingerirem poucas quantidades de ração nos primeiros dias após o desmame (Bruininx et al., 2001, 2002). Sugere-se que esta baixa ingestão de ração no primeiro dia após o desmame pode ser devido aos leitões gastarem parte do tempo explorando o novo ambiente, o que não foi observado no presente estudo, e à dificuldade de adaptação à nova fonte de alimento, como citado anteriormente (Newberry & Swanson, 2008 e Weary et al., 2008).

Vários estudos mostram o aumento da ingestão de alimentos do primeiro para o segundo dia após o desmame (Morgan et al, 2001; Mason et al, 2003; Dybkjær et al., 2006). Entretanto, existe pouca literatura que relate da mesma forma o comportamento de ingestão de água dos leitões, como estudo realizado por Brooks et al. (1984) que sugere maior consumo de água nos dois primeiros dias pós desmame.

O tempo dispendido com a ingestão de alimentos é maior no segundo dia após o desmame, quando comparado ao segundo dia, porém, o tempo dispendido com a ingestão de água é superior no primeiro dia (Dybkjær et al., 2006). Acredita-se que os leitões ingerem mais água para obter a sensação gastrointestinal semelhante à ingestão do leite (Yang et al, 1981, Brooks et al, 2001), além da sucção (Torrey, 2005).

Conclusões

Os animais apresentam maior atividade no período da tarde na segunda semana pós desmame, com redução dos comportamentos de vício. O uso do enriquecimento ambiental não influenciou as atividades dos animais e não prejudicou o desempenho dos leitões.

Considerações Finais

Mais estudos precisam ser realizados para verificar a influência do período do dia no comportamento dos leitões, associado a diversas formas de enriquecimento ambiental, buscando um objeto de enriquecimento que seja mais atrativo para os leitões.

Referências Bibliográficas

BERLYNE, D.E. Conflict Arousal and Curiosity. **McGraw-Hill**, New York. 1960.

BLACKSHAW, J.K., THOMAS, F.J., LEE, J. The effect of a fixed or free toy on the growth rate and aggressive behaviour of weaned pigs and the influence of hierarchy on the initial investigation of toys. **Applied Animal Behavior Science**. 53:203–212, 1997.

BOE, K. The effect of age at weaning and post-weaning environment on the behavior of pigs. **Acta Agriculturae Scandinavica** *A-AN*. 43:173–180. 1993.

BOERE, V. Behavior and environmental enrichment. In: Fowler, M.E; Cubas, Z.S. **Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals**. Iowa: Iowa State Press University, cap. 25, p. 263-267, 2001.

BROOKS, P.H.; RUSSELL, S.J.; CARPENTER, J.L.Water intake of weaned piglets from three to seven weeks old. **Veterinary Record**.115:513–515, 1984.

BROOM, D.M.; MOLENTO, C.F.M. Bem-estar: conceito e questões relacionadas - revisão**. Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.

BRUININX, E.M.A.M.; VAN DER PEET-SCHWERING, C.M.C.; SCHRAMA, J.W. et al. Individually measured feed intake characteristics and growth performance of group-housed weanling pigs: Effects of sex, initial body weight, and body weight distribution within groups. **Journal of Animal Science**. 79:301–308, 2001.

BRUININX, E.M.A.M.; BINNENDIJK, G.P.; VAN DER PEET- SCHWERING, C.M.C. Effect of creep feed consumption on individual feed intake characteristics and performance of group-housed weanling pigs. **Journal of Animal Science**. 80:1413–1418, 2002.

CAMPOS, J.A.; TINÔCO I.F.F.; SILVA F.F. et al. Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dias. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** v.5, n.2, p.272-278, abr.-jun, 2010.

CARLSTEAD, K.; SHEPHERDSON, D. Alleviating stress in zoo animals with environmental enrichment. In: Moberg, G.P.; Mench, J.A. (Eds.). **The Biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare.** Wallingford: CABI, Cap. 16, p. 337-354, 2000.

CHALOUPKOVÁ. H.; ILLMANN, G.; BASTOS, L. et al. The effect of preweaning housing on the play and agonistic behaviour of domestic pigs. **Applied Animal Behaviour Science** v.103 p.25–34, 2007.

DUDINK, S.; SIMONSE, H.; MARKS, I. et al. Announcing the arrival of enrichment increases play behaviour and reduces weaning-stress-induced behaviours of piglets directly after weaning. **Applied Animal Behaviour Science**. 101:86–101, 2006.

DYBKJÆR, L.; JACOBSEN, A.P.; TOGERSEN, F.A. et al. Eating and drinking activity of newly weaned piglets: effects of individual characteristics, social mixing, and addition of extra zinc to the feed. **Journal of Animal Science**. 84:702–711, 2006.

FEDDES, J.J.R., FRASER, D., **Non-nutritive chewing by pigs: implications for tail-biting and behavioural enrichment.** Trans. ASAE 37, 947–950. 1994.

FRASER, D., PHILLIPS, P.A., THOMPSON, B.K. et al. Effect of straw on the behaviour of growing pigs. **Applied Animal Behavior Science**. 30:307–318, 1991

HEMSWORTH, P.H.; PRICE, E.O.; BORGWARDT, R. Behavioural responses of domestic pigs and cattle to humans and novel stimuli. **Applied Animal Behaviour Science**, 50:43-56, 1996.

HOHENDORFF, R.V. **Aplicação e avaliação de enriquecimento ambiental na manutenção de bugio** (*Alouatta spp* LACÉPEDE, 1799) no Parque Zoológico de Sapucaia do Sul–RS. Porto Alegre: UFRGS, 2003. 118p. Dissertação Mestrado.

HÖTZEL, M.J.; SOUZA, G.P.; MACHADO FILHO., L.C.P. et al. Estresse e reconhecimento de seres humanos em leitões recém desmamados. **Revista Biotemas**, v.4, n. 20, p. 91-98, 2007.

IELER, J.; LINZMEYER, D.A.J; BAADE, E.S. et al.Comportamento e crescimento de suínos recém-desmamados em cama sobreposta**.**In: FEIRA DE CONHECIMENTO TECNOLÓGICO E CIENTÍFICO, 10, 2009, Rio do Sul. **Anais...** Rio do Sul: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense Campus Rio do Sul, 2009.

MASON, S.P.; JARVIS, S.; LAWRENCE. D.A.B. Individual differences in responses of piglets to weaning at different ages. **Applied Animal Behavior Science**. 80:117–132, 2003.

MENCH, J.A. Environmental enrichment and the importance of exploratory behavior. In: Shepherdson, D.J.; Mellen, J.D.; Hutchins, M. (Eds.), **Second Nature: Environmental Enrichment for Captive Animals**. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 30–46. 1998.

MOORE, E.A.; BROOM, D.M.; SIMMINS, P.H. The effect of enrichment on the behaviour, welfare and performance of early-weaned piglets in slatted flatdeck housing. **Animal Production**. 58, 476 (Abstract), 1994.

MORGAN, C. A.; LAWRENCE, A.B.; CHIRNSIDE, J. et al. Can information about solid food be transmitted from one piglet to another? **Animal Science**. 73:471–478, 2001.

NEWBERRY, R.C. Environmental enrichment: increasing the biological relevance of captive environments. **Applied Animal Behavior Science**. 44:229–244, 1995.

NEWBERRY, R.C., SWANSON, J.C. Implications of breaking mother–young social bonds. **Applied Animal Behavior Science**. 110: 3–23, 2008.

ORGEUR, P.; HAY, M.; MORME`DE, P. et al. Behavioural, growth and immune consequences of early weaning in one-week-old Large-White piglets. **Reproduction Nutrition Development**. 41:321–332, 2001.

PEARCE, G.P.; PATERSON, A.M.; PEARCE, A.N. The influence of pleasant and unpleasant handling and the provision of toys on the growth and behaviour of male pigs. **Applied Animal Behavior Science**. 23:27–37, 1989.

PEARCE, G.P.; PATERSON, A.M. The effect of space restriction and provision of toys during rearing on the behaviour, productivity and physiology of male pigs. **Applied Animal Behavior Science**. 36:11–28, 1993.

PETERSON, V., SIMONSEN, H.B., LAWSON, L.G. The effect of environmental stimulation on the development of behaviour in pigs. **Applied Animal Behavior Science**. 45:215–224, 1995.

RUSHEN, J., PAJOR, E. Offence and defence in fight between young pigs (Sus scrofa). **Aggressive Behavior**. 13:329–346, 1987.

SARUBBI, J. **Bem-estar dos animais e uso racional de energia elétrica em sistemas de aquecimento para leitões desmamados.** 2009. 119f. (Mestre em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2009.

SAS. **SAS/STAT User's Guide** (Release 9.2), SAS Inst., Inc., Cary, NC. 2008.

SCOTT, K.; TAYLOR, L.; GILL, B.P. et al. Influence of different types of environmental enrichment on the behaviour of finishing pigs in two different housing systems: 1 Hanging toy versus rootable substrate. **Applied Animal Behavior Science**. 99:222–229, 2006.

TORREY, S. **Conflicting motivation: causation of abnormal oral behaviour patterns in young pigs**. Ph.D. Thesis. University of Guelph, Guelph, Ont., Canada. 2005.

TRICKETT, S.L.; GUY, J.H.; EDWARDS, S.A. The role of novelty in environmental enrichment for the weaned pig. **Applied Animal Behaviour Science** 116:45-51, 2009.

VAN DE WEERD, H.A.; DOCKING, C.M.; DAY, J.E.L. et al. A systematic approach towards developing environmental enrichment for pigs. **Applied Animal Behavior Science**. 84, 101–118, 2003.

VAN DE WEERD, H.A.; DOCKING, C.M.; DAY, J.E.L. et al. Effects of species relevant environmental enrichment on the behaviour and productivity of finishing pigs. **Applied Animal Behavior Science**. 99:230–247, 2006.

WEARY, D.M.; JASPER, J.; HÖTZEL, M.J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behavior Science**. 110:24–41, 2008.

WEMELSFELDER, F.; BIRKE, L. Environmental challenge. In: Appleby, M.C.; Hughes, B.O. (Eds.), **Animal Welfare**. CAB International, Wallingford, UK, pp. 35–47. 1997.

YANG, T.S.; HOWARD, B.; MACFARLANE, W.V. Effects of food on drinking behaviour of growing pig. **Applied Animal Behavior Science**. 7:259–270. 1981.

DIVERSIDADE DE ÁCAROS PLANTICOLAS (ARACHNIDA, ACARI) EM REMANESCENTES DE CERRADO PRESERVADO E EM ESTADO DE REGENERAÇÃO SECUNDÁRIA

Karine Meira de Abreu[1] & Rodrigo Damasco Daud[2]
[1]Escola de Agronomia, graduanda em Engenharia Florestal, karinemeiradeabreu@gmail.com
[2]Depto. Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás
rodrigodaud36@gmail.com

Resumo: Embora recentemente houvesse um aumento considerável de estudos sobre a comunidade de ácaros plantícolas em ecossistemas naturais da região neotropical, a maioria desses se concentra na região Sudeste do Brasil. Muitas comunidades acarinas de outros ecossistemas brasileiros, tais como o Cerrado goiano, ainda são, em parte, desconhecidas. No presente trabalho foi avaliada a diversidade de ácaros em plantas de *Astronium fraxinifolium* (Anacardiaceae), espécie vegetal ameaçada de extinção. Foram amostrados seis remanescentes de Cerrado, sendo três deles em estado mais preservado e outros três em processo de regeneração secundária. Os remanescentes em processo de regeneração já foram previamente destinados para exploração de níquel em períodos anteriores, diferentemente das áreas mais preservadas, que nunca foram exploradas para tal finalidade. Entretanto, essas últimas áreas estavam sob influência direta das atividades de mineração devido a sua proximidade com o empreendimento. Em cada remanescente foram capturadas 10 folhas de cada um dos cinco exemplares de *A. fraxinifolium* (total de 50 folhas/remanescente). Os ácaros coletados nas folhas foram identificados sob microscópio óptico com contraste de fases. Foram amostrados 1.532 ácaros pertencentes a 15 espécies de oito famílias. Os ácaros fitófagos foram os mais abundantes na amostra, sendo a maioria pertencente às famílias Tenuipalpidae e Tetranychidae. Os ácaros predadores com maior representatividade foram Stigmaeidae e Phytoseiidae. Não houve diferenças significativas na abundância de ácaros entre as áreas preservadas e aquelas em processo de regeneração secundária (Mann-Whitney, $Z = -0,49$, $p = 0,62$), indicando que as atividades de mineração de níquel afetaram igualmente as comunidades de ácaros das diferentes áreas amostradas.

Palavras-chave: Acari, Gonçaleiro, fragmentação, mineração de níquel

Introdução

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sendo superado em área apenas pela Amazônia. Porém, a destruição dos ecossistemas que constituem o Cerrado continua de forma acelerada. Um estudo recente concluiu que 55% das áreas de Cerrado já foram desmatadas ou modificadas pela ação humana (Machado et al., 2004a). As transformações ocorridas no Cerrado trouxeram grandes danos ambientais, tais como a fragmentação de hábitats, extinção da biodiversidade, invasão de espécies exóticas, entre outros prejuízos. Pelo menos, 137 espécies de animais que ocorrem no Cerrado estão ameaçadas de extinção (Fundação Biodiversitas, 2003; Hilton-Taylor, 2004) em função da grande expansão da agricultura e intensa exploração local de produtos nativos.

Com isso, estudos sobre as comunidades de ácaros em Cerrado são emergenciais, pois a crescente degradação desses ambientes naturais pode estar ocasionando a extinção de várias espécies de ácaros, inclusive de táxons ainda não descritos. Dentre essas espécies, merecem destaque àquelas que vivem sobre as plantas em função de que várias delas são endêmicas e apresentam alta especificidade com o seu hospedeiro vegetal e, consequentemente, maior risco de extinção local (Saito, 2010).

Os ácaros são diminutos artrópodes pertencentes à subclasse Acari da classe Arachnida. A subclasse Acari é considerada a mais heterogênea dentre os aracnídeos, sendo os únicos representantes desta classe que incluem espécies fitófagas. A filogenia do grupo é ainda muito pouco conhecida, admitindo-se serem de origem polifilética. Atualmente, cerca de 55.000 espécies estão descritas e de acordo com estimativas esse número pode elevar-se de 500.000 a 1.000.000 de espécies (Krantz & Walter, 2009; Walter & Proctor, 1999).

Porém, mesmo com o aumento considerável de estudos sobre a comunidade de ácaros plantícolas em ecossistemas naturais da região neotropical, a maioria dos estudos se concentra no Estado de São Paulo (e.g. Castro & Moraes, 2010; Buosi *et al*,. 2006; Lofego & Moraes, 2006; Oliveira *et al.*, 2005; Daud & Feres, 2005). Portanto, muitas comunidades acarinas de outros ecossistemas brasileiros, tais como o Cerrado goiano, ainda são, em parte, desconhecidas.

A espécie *Astronium fraxinifolium* (Anacardiaceae), popularmente conhecida como Gonçalo-Alves ou Gonçaleiro, é uma espécie arbórea rústica de médio porte, nativa do cerrado (Lorenzi, 1992).

Segundo Aguiar et al. (2001),plantas de *A.fraxinifolium* são comumente encontradas em ambientes degradados pelo homem, tais como em margens de rodovia ou nos fragmentos florestais. É uma espécie pioneira e heliófita, sendo sua madeira com um alto valor econômico, além de ser empregada em programas de recuperação de áreas naturais degradadas (Lorenzi, 1992). De acordo com a Portaria IBAMA n. 37-N, de 3 de abril de 1992 (IBAMA, 1992), *A. fraxinifolium* encontra-se ameaçada de extinção.

O presente trabalho teve como objetivo reconhecer a diversidade de ácaros em *A. fraxinifolium* de remanescentes de Cerrado em estado mais preservado e em processo de regeneração secundária. A fauna de ácaros associada á *A.fraxinifolium* não foi estudada até o presente momento.

Material e Métodos

Áreas de estudo. As amostragens foram conduzidas em seis remanescentes de Cerrado pertencentes a empresa mineradora Anglo-American Brasil, unidade de Niquelândia, GO. Desses remanescentes, três encontravam-se em estado mais preservado e os outros três em processo de regeneração secundária (Tabela 1). Os remanescentes em processo de regeneração secundária já foram previamente destinados para exploração e lavra mineral de níquel em períodos anteriores, ao contrário das áreas mais preservadas, que nunca foram utilizadas para tal finalidade, embora recebessem influência direta das atividades de mineração devido a sua proximidade com o empreendimento.

Tabela1. Coordenadas geográficas, fitofisionomias e estado de conservação (EC) das áreas de Cerrado, pertencentes a empresa Anglo-American, unidade Niquelândia, GO.

Área	EC	Fitofisionomia	Coordenadas (S/W)	
1	Preservada	Cerrado “sensu stricto”	14°14'734"	48°35'516"
2	Regeneração secundária	Cerrado “sensu stricto”	14°12'603"	48°36'051"
3	Preservada	Cerrado “sensu stricto”	14°14'572"	48°34'874"
4	Regeneração secundária	Cerrado “sensu stricto”	14°13'306"	48°35'665"
5	Preservada	Cerrado “sensu stricto”	14°11'433"	48°35'973"
6	Regeneração secundária	Campo limpo	14°12'953"	48°34'861"

As fitofisionomias avaliadas em sua maioria eram de Cerrado sentido restrito (Tabela1), porém, as áreas em regeneração secundária apresentavam árvores mais esparsas com transição de campo limpo para Cerrado "sensu stricto".

Amostragem de Ácaros. Foi realizada uma excursão de campo nos remanescentes de Cerrado, no período de 22 a 23 de maio de 2012. Em cada remanescente de Cerrado foram selecionados cinco exemplares de *A. fraxinifolium*, totalizando 30 plantas amostradas para o estudo (n = 15 para remanescentes preservados / n = 15 para remanescentes em processo de regeneração secundária). Para a coleta de ácaros, foram retiradas 10 folhas ao redor do extrato mediano da copa de cada planta selecionada, com o auxílio de um podão com cabo telescópico. As folhas capturadas foram mergulhadas em frascos plásticos de 1L (um frasco destinado para cada planta) contendo álcool a 70% (~200 mL). Em seguida, os frascos foram vigorosamente agitados por aproximadamente 30 segundos para efetuar a lavagem total das folhas e, após esse procedimento, deixados em repouso durante cinco minutos. Após esse período, as folhas foram cuidadosamente retiradas e o frasco devidamente etiquetado. Dessa maneira, cada frasco plástico representou a assembléia de ácaros de cada planta selecionada para o estudo.

Em laboratório, a amostra de cada pote foi transferida para um copo de sedimentação individualizado, onde o liquido foi deixado em repouso durante 15 minutos. Em seguida ao repouso, o liquido excedente foi descartado e a amostra transferida aos poucos para um vidro de relógio, onde foi inspecionada sob microscópio estereoscópico. Todos os ácaros encontrados durante a triagem foram montados em lâminas de microscopia com o meio de Hoyer (Moraes & Flechtmann, 2008). Os ácaros foram quantificados e identificados sob microscópio óptico com contraste de fases.

Análise de dados. Foram aplicados estimadores de riqueza de espécies com o intuito de comparar a estrutura da comunidade de ácaros de *A. fraxinifolium* entre as áreas de Cerrado "preservadas" e "em regeneração secundária".

Para verificar a suficiência da amostragem foram construídas curvas de rarefação de espécies utilizando o método Mao Tao (Colwell, 2006). Já a riqueza de espécies foi estimada através do procedimento Jackknife de primeira ordem. Assim, foi possível calcular os intervalos de confiança a 95% para os valores de riqueza, estimados pelo Jackknife. A riqueza de espécies estimada foi comparada por meio de análise gráfica, através da sobreposição da barra de erro de uma variável com a média da outra

(Cumming *et al.*, 2007). Tanto a rarefação quanto a estimativa da riqueza de espécies foram calculadas com o uso do software EstimateS v. 7.51 (Colwell, 2006).

Foi aplicado o teste de Mann-Whitney (Zar 1999) para comparar a abundância total de ácaros, de fitófagos e abundância de ácaros predadores de *A. fraxinifolium* entre as áreas preservadas e em processo de regeneração secundária. As plantas foram consideradas como unidades amostrais para este teste estatístico (n = 15/tratamento).

Resultados

Foram amostrados 1.532 ácaros pertencentes a 15 espécies distribuídas dentro de oito famílias, nas plantas de *A. fraxinifolium* dos remanescentes de Cerrado da empresa mineradora Anglo-American, unidade Niquelândia, GO. Dessas, seis espécies são fitófagas, seis predadoras, uma micófaga e duas de hábito alimentar não conhecido(Tabela 2).

Tabela 2. Abundância de ácaros amostrados em *A. fraxinifolium* de remanescentes de Cerrado preservados (PR) e em estado de regeneração secundária (RS) da empresa Anglo-American, unidade Niquelândia, GO.

Família	Gênero/espécie	Habito alimentar	PR	RS	Total
Acaridae	sp.	?	1	0	1
Iolinidae	*Pronematus* sp.	Predador	2	0	2
Phytoseiidae	*Euseius* sp.	Predador	3	22	25
	Galendromus sp.	Predador	0	1	1
	Phytoscutus sp.	Predador	0	1	1
	Transeius sp.	Predador	2	0	2
Stigmaeidae	*Agistemus sp.*	Predador	40	69	109
Tenuipalpidae	*Afronychus sp*	Fitófago	0	1	1
	Brevipalpus sp .1	Fitófago	351	254	605
	Brevipalpus sp .2	Fitófago	5	5	10
	imaturo	Fitófago	117	87	204
Tetranychidae	*Eotetranychus* sp .1	Fitófago	44	58	102
	Eotetranychus sp .2	Fitófago	0	8	8
	Oligonychus sp.	Fitófago	111	347	458
Tydeidae	sp.	?	0	2	2
Winterschmidtiidae	*Czenspinskia* sp.	Micófago	0	1	1
Total			676	856	1.532
Riqueza de espécies			9	12	15

Os ácaros fitófagos foram os mais abundantes nas áreas de Cerrado. A maioria dos indivíduos amostrados pertence às famílias Tenuipalpidae e Tetranychidae. Os ácaros predadores com maior representatividade foram Stigmaeidae e Phytoseiidae. *Brevipalpus* sp.1 foi a espécie fitófaga mais abundante, enquanto que *Agistemus* sp., o predador com maior número de indivíduos amostrados em *A. fraxinifolium*. Outras espécies amostradas neste hospedeiro vegetal foram os predadores *Pronematus* sp., *Phytoscutus* sp., *Galendromus* sp. e *Transeius* sp., os fitófagos *Afronychus* sp., *Brevipalpus* sp. 1 e 2, *Eotetranychus* sp. 1 e 2 e *Oligonychus* sp., o micófago *Czenspinskia* sp. e duas espécies de hábito alimentar desconhecido pertencentes às famílias Acaridae e Tydeidae .

A curva de rarefação estimada pelo método de Mao Tao para as áreas preservadas atingiu a assíntota a partir da 21ª primeira amostra, diferentemente daquela determinada para as áreas em processo de regeneração secundária, na qual está evidenciado que mais espécies de ácaros poderiam ser amostradas com o aumento do esforço de coleta (Figura1).

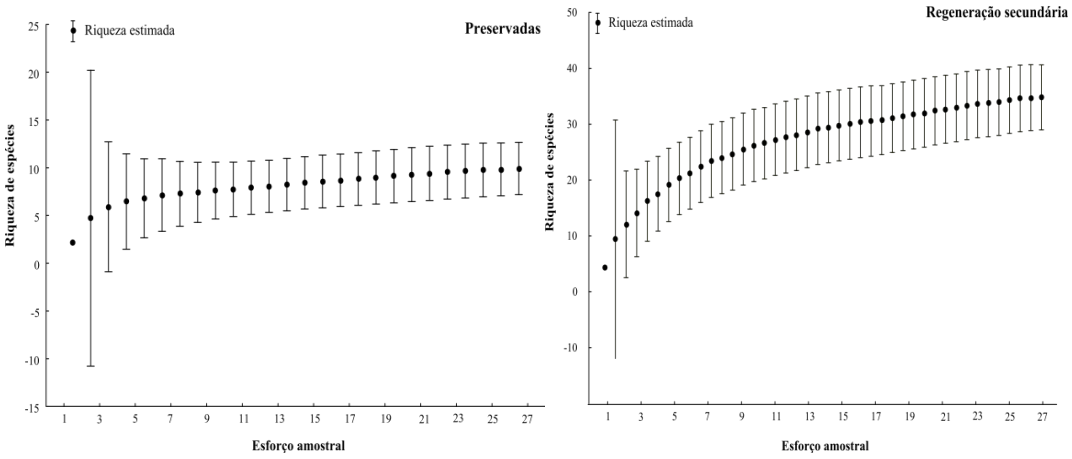


Figura 1. Curvas de rarefação de espécies de ácaros em *A. fraxinifolium*, estimadas pelo método de Mao Tao, para as áreas preservadas e em estado de regeneração secundária. O esforço amostral é representado pelas plantas de *A. fraxinifolium* amostradas para o estudo.

O estado de conservação dos ambientes não influenciou a abundância total de ácaros (teste de Mann-Whitney, Z = -0,49, p = 0,62) e a de fitófagos (Z = -0,14, p = 0,88) em *A. fraxinifolium,* como verificado pela ausência de diferenças significativas nesse parâmetro entre as áreas preservadas e em estado de regeneração secundária. Por outro lado, os predadores (Z = -1,94, p = 0,05) ocorreram em maior número nas áreas em regeneração secundaria com relação as mais preservadas (Figura 2).

A riqueza de espécies estimada não diferiu entre as áreas, em função de que o intervalo de confiança calculado para as áreas em estado de regeneração secundária apresentou sobreposição com a média da riqueza determinada para as áreas preservadas (Figura 3).

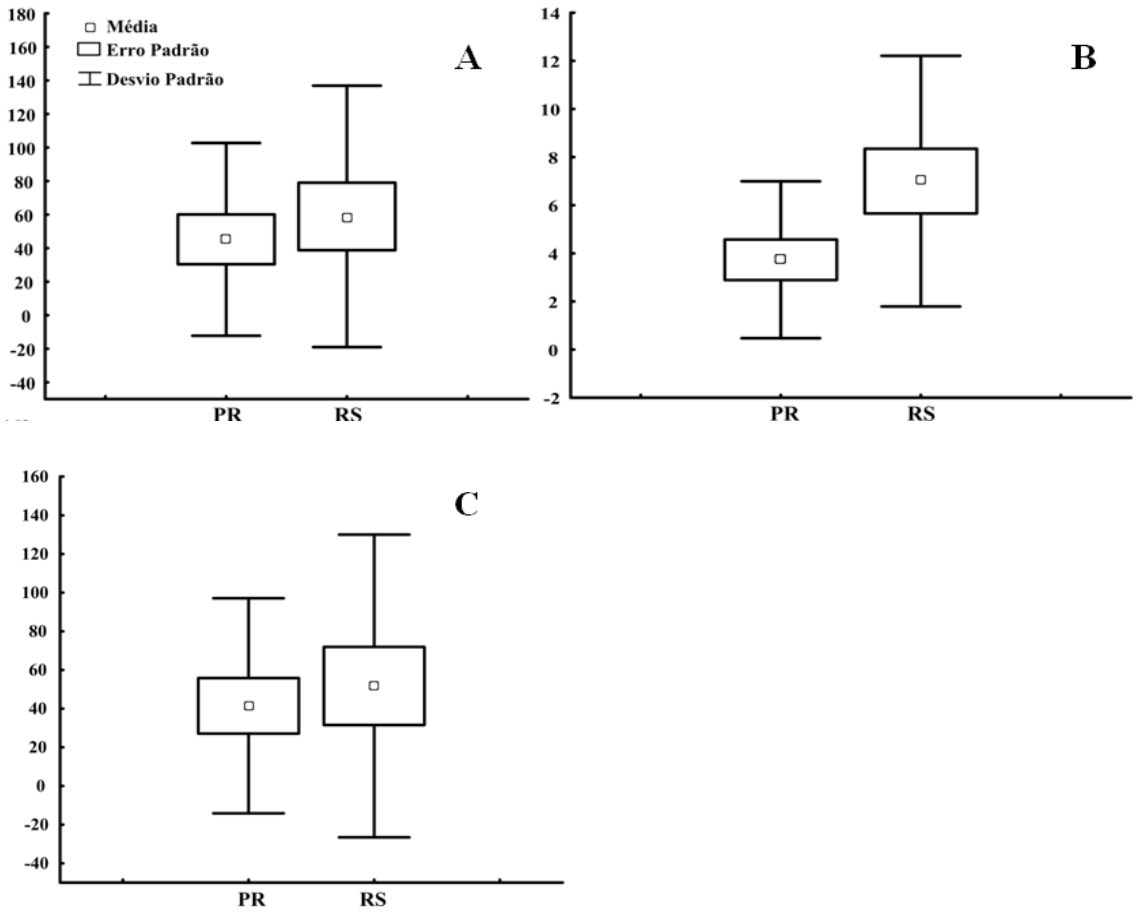


Figura 2. Abundância média de ácaros em *A. fraxinifolium* entre as áreas preservadas (PR) e em estado de regeneração secundária (RS), quando considerado o (A) número total de ácaros na amostra, (B) predadores e (C) de fitófagos.

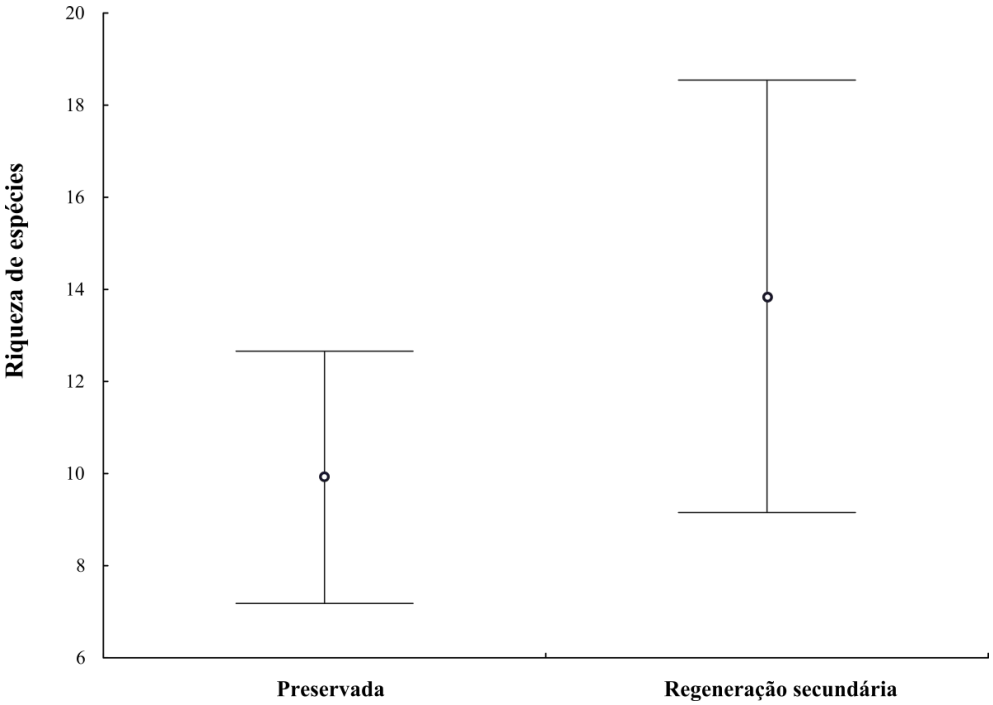


Figura 3. Riqueza de espécies de ácaros em *A. fraxinifolium*, estimada pelo método Jacknife de primeira ordem, para as áreas preservadas e em estado de regeneração secundária, em Niquelândia, GO. As barras de erro indicam intervalo de confiança a 95%.

Discussão

As plantas de *A. fraxinifolium* abrigaram elevada abundância de ácaros, uma vez que 1.532 indivíduos foram amostrados em 30 exemplares desse hospedeiro vegetal. Ainda, apresentou grande potencial em abrigar considerável riqueza de espécies.

Os ácaros fitófagos de *A. fraxinifolium* foram os mais abundantes em todos os remanescentes de Cerrado, com destaque para as famílias Tenuipalpidae e Tetranychidae. Todas as espécies conhecidas dessas famílias são fitófagas, sendo algumas delas consideradas importantes pragas de diversas plantas cultivadas (Moraes & Flechtmann, 2008). Das relatadas no presente trabalho, as espécies pertencentes aos gêneros *Brevipalpus* e *Oligonychus* foram as mais representativas na amostra. O gênero *Brevipalpus* possui grande interesse econômico devido a algumas espécies funcionarem como transmissoras de viroses fitopatológicas. No Brasil, *Brevipalpus phoenicis* tem sido considerada a principal espécie-praga, principalmente, em culturas de citros e café. Essa espécie transmite o vírus da leprose em plantas de citros e o vírus da mancha-anelar em cafeeiro (Moraes & Flechtmann, 2008; Reis *et al.*, 2004). O gênero

Oligonychus também possui um grande interesse econômico, por afetar negativamente a taxa fotossintética de suas plantas hospedeiras (Moraes & Flechtmann, 2008). A espécie de *Brevipalpus* sp1 amostrada em *A. fraxinifolium* apresenta grande potencial de ser um táxon ainda não descrito (RJF Feres, com. pess.).

Por outro lado, os remanescentes de Cerrado apresentaram elevada abundância de ácaros predadores, principalmente das famílias Stigmaeidae e Phytoseiidae. Vários trabalhos já verificaram a eficácia de espécies dessas famílias em regular populações de ácaros fitófagos (e.g. Ferla & Moraes, 2003; Gerson *et al.*, 2003; Nomikou *et al.*, 2001; Furtado & Moraes, 1998). Matioli & Oliveira (2007) verificaram que *Agistemus brasiliensis* regulou eficientemente populações de *B. phoenicis* em condições de laboratório e elegeram a espécie como um potencial agente de controle biológico de pragas.

Já Reis *et al.* (2003) avaliaram o potencial de *Euseius alatus* em controlar estágios imaturos dessa mesma espécie de ácaro fitófago, em diferentes densidades de presas, e propuseram que *E. alatus* pode contribuir significativamente no controle natural de populações de *B. phoenicis* em culturas de citros e café. No presente estudo foram registrados 109 indivíduos de *Agistemus* sp. e 25 de *Euseius* sp.

A curva de rarefação de espécies de ácaros determinada para as plantas de *A. fraxinifolium* das áreas em estado de regeneração secundária não atingiu a assíntota, indicando que mais espécies poderiam ser capturadas com o aumento do esforço amostral. Esse padrão de curva de rarefação para ácaros e outros artrópodes amostrados em ecossistemas naturais tropicais já foi encontrado por Feres *et al.* (2007) e Walter & Proctor (1998). Como a diversidade desses artrópodes em ambientes tropicais é alta, além da maior dificuldade de sua amostragem quando comparados a outros grupos animais (e.g. aves, mamíferos), dificilmente a amostragem e a estimativa da riqueza de espécies de artrópodes serão satisfatórias em ecossistemas tropicais. Porém, para as áreas preservadas, a curva tendeu a atingir a assíntota na 21ª amostragem.

Estudos apontam que insetos podem ser eficientes indicadores da qualidade ambiental podendo apresentar diferentes distribuições ou riquezas de espécies de acordo com o tipo de uso e ocupação da paisagem (Wink *et al.*, 2005; Julião *et al.*, 2005). Alguns ácaros também podem funcionar como bioindicadores por serem sensíveis a perturbações no ambiente (Gulvik, 2007; Badejo & Ola-Adams, 2000). Estudo realizado

em florestas de pinho da Polônia por Seniczak *et al.* (2002), por exemplo, mostrou que a poluição do ar afeta a distribuição vertical de ácaros edáficos, com possíveis efeitos sobre a taxa de transformação da matéria orgânica do solo. Aqui, não foram verificadas diferenças na abundância total e riqueza de espécies de ácaros de *A. fraxinifolium* entre as áreas preservadas e aquelas que se encontravam em estado de regeneração secundária. Provavelmente, a atividade de mineração de níquel afeta igualmente as assembléias de ácaros de ambas as áreas, uma vez que as áreas mais preservadas estão localizadas próximas ao empreendimento minerário, embora não tenham sido previamente utilizadas para exploração de níquel. Por outro lado, os predadores foram mais abundantes nas áreas em estado de regeneração secundaria, com destaque para *Agistemus sp. e Euseius sp.* Espécies desses gêneros são generalistas com relação aos recursos alimentares e usualmente encontrados em ambientes alterados (Gerson et. al. 2003; Ferla & Moraes 2003), o que pode explicar a persistência e maior abundância desses ácaros nas áreas em processo de regeneração secundária.

Conclusões

Com base nos resultados do presente trabalho, pode-se verificar que os remanescentes de Cerrado da empresa mineradora Anglo American (Niquelandia,GO) apresentaram um grande potencial em abrigar elevada abundância e riqueza de espécies de ácaros em *A. fraxinifolium*. Ainda, essas áreas abrigam espécies predadoras com potencial uso em programas de controle biológico de pragas agrícolas e táxons ainda não descritos para a ciência. O presente estudo pode fornecer dados básicos para futuros estudos com ácaros em ambientes naturais e para auxiliar medidas de conservação, manejo e uso sustentável dessas áreas naturais, considerando que *A. fraxinifolium* é uma planta ameaçada de extinção. Neste estudo foi observada a importância da preservação dessa espécie vegetal, tanto por abrigar uma elevada abundância e riqueza de espécies de ácaros quanto na recomposição da flora local em função de suas características biológicas. Esse trabalho avaliou pela primeira vez a fauna de ácaros associado a essa planta nativa de Cerrado.

Referências Bibliográficas

Aguiar, A. V.; Bortolozo, F. R.; Moraes, M. L. T.; Sá, M. E. Determinação de parâmetros genéticos em população de gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium)* através das características fisiológicas da semente.IPEF, Ciência Florestal, p. 89-97. 2001.

Badejo, M.A. & Ola-Adams, B.A. (2000) Abundance and diversity of soil mites of fragmented habitats in a biosphere reserve in Southern Nigeria. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **35**, 2121-2128.

Buosi, R., Feres, R.J.F., Oliveira, A.R., Lofego, A.C., Hernandes, F.A. (2006) Ácaros plantícolas (Acari) da "Estação Ecológica de Paulo de Faria", Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, **6**: http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?article+bn02006012006.

Castro, T.M.G., Moraes, G.J. (2010) Diversity of phytoseiid mites (Acari: Mesostigmate: Phytoseiidae) in the Atlantic forest of São Paulo. *Systematics and Biodiversity*, **8**, 301-307.

Colwell, R.K. (2006) *EstimateS: Statistical estimation on species richness and shared species from samples*, Version 7.51. User's Guide, Disponível em: http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateSPages/EstSUsersGuide/EstimateSUsersGuide.htm.

Cumming, G., Fidler, F. & Vaux, D.L. (2007) Error bars in experimental biology. *Journal of Cell Biology*, **177**, 7-11.

Daud, R.D. & Feres, R.J.F. (2005) Diversidade e flutuação populacional de ácaros (Acari) em *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae) de dois fragmentos de Mata Estacional Semidecídua em São José do Rio Preto, SP. *Neotropical Entomology*, 34, 191-201.

Ferla, N.J. & Moraes, G.J. de (2003) Oviposição dos ácaros predadores *Agistemus floridanus* Gonzalez, *Euseius concordis* (Chant) e *Neoseiulus anonymus* (Chant & Baker) (Acari) em resposta a diferentes tipos de alimento. *Revista Brasileira de Zoologia*, **20**, 153-155.

Furtado, I.P. & Moraes, G.J. de (1998) Biology of *Euseius citrifolius*, a candidate for the biological control of *Mononychellus tanajoa* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). *Systematic and Applied Acarology*, **3**, 43-48.

Fundação Biodiversitas. 2003. Lista da fauna brasileira ameaçada de extinção.

Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, Brasil. Disponível em http://www.biodiversitas.org.br/ (acessado em 17 de janeiro de 2005).

Gerson, U., Smiley, R.L. & Ochoa, R. (2003) *Mites (Acari) for pest control*, Blackwell Science, Oxford.

Gulvik, M.E. (2007) Mites (Acari) as indicators of soil biodiversity and land use monitoring. *Polish Journal of Ecology*, 55, 415-440.

Hilton-Taylor, C. 2004. 2004 IUCN red list of threatened species. Species Survival Commission (SSC), IUCN – The World Conservation Union, Cambridge, Reino Unido e Gland, Suí-ça. Disponível em http://www.redlist.org (acessado em 13 de janeiro de 2005).

IBAMA (1992) Portaria Ibama nº 37-N, de 03 de abril de 1992: http://licenciamento.cetesb.sp.gov.br/legislacao/federal/portarias/1992_Port_IBAMA_37.pdf

Julião, G.R., Fernandes, G.W., Negreiros, D., Bedê, L., & Araújo, R.C. (2005) Insetos galhadores associados a duas espécies de plantas invasoras de áreas urbanas e peri-urbanas. *Revista Brasileira de Entomologia*, **49**, 97-106.

Krantz, G.W., Walter, D.E. (2009) *A manual of Acarology*, 3rd edn., Texas Tech University Press, Lubbock.

Lofego, A.C. & Moraes, G.J. de (2006) Ácaros (Acari) Associados a mirtáceas (Myrtaceae) em áreas de Cerrado no Estado de São Paulo com análise faunística das famílias Phytoseiidae e Tarsonemidae. *Neotropical Entomology*, 35, 731-746.

Lorenzi, H. (1992) *Árvores brasileiras*, Plantarum, Piracicaba.

Matioli, A.L., Oliveira, C.A.L. de (2007) Biologia de *Agistemus brasiliensis* Matioli, Ueckermann & Oliveira (Acari: Stigmaeidae) e sua potencialidade de predação sobre *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). *Neotropical Entomology*, **36**, 577-582.

Machado, R.B., M.B. Ramos Neto, P. Pereira, E. Caldas, D. Gon-çalves, N. Santos, K. Tabor & M. Steininger. 2004a. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Conservation International do Brasil, Brasília.

Moraes, G.J. & Flechtmann, C.H.W. (2008) *Manual de Acarologia: Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil*, Holos Editora, Ribeirão Preto.

Nomikou, M., Janssen, A., Schraag, R. & Sabelis, N.W. (2001) Phytoseiid predators as potential biological control agents for Bemisia tabaci. *Experimental and Applied Acarology*, **25**, 271-291.

Oliveira, A.R., Norton, R.A. & Moraes, G.J. (2005) Edaphic and plant inhabiting oribatid mites from cerrado and mata atlantica ecosystems in the State of São Paulo, Southeast Brazil. *Zootaxa*, **1049**, 49-68.

Reis, P.R., Souza, E.O., Teodoro, A.V. & Pedro-Neto, M. (2003) Effect of prey density on the functional responses of two species of predaceous mites (Acari: Phytoseiidae). *Neotropical Entomology*, **32**, 461-467.

Reis, P.R., Neto, M.P., Franco, R.A., Teodoro, A.V. (2004) Controle de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) e *Oligonychus ilicis* (Mcgregor, 1917) (Acari: Tenuipalpidae, Tetranychidae) em cafeeiro e o impacto sobre ácaros benéficos. I - Abamectin e Emamectin. *Ciência e Agrotecnologia*, **28**, 269-281.

Saito, Y. 2010. *Plant mites and sociality: Diversity and evolution*, Springer, Tokyo.

Seniczak, S., Kaczmarek, S., Klimek, A. & Seniczak, A. 2002. The effect of some air pollutants on the vertical distribution of mites (Acari) in soils of young Scots pine forests in Poland. *European Journal of Soil Biology*, **38**, 311−314.

Walter, D.E. & Proctor, H.C. (1999) *Mites: Ecology, evolution and behaviour*, CABI publishing, New York.

Wink, C., Guedes, J.V.C., Fagundes, C.K. & Rovedder, A.P. (2005) Insetos edáficos como indicadores da qualidade ambiental. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, **4**, 60-71.

Zar, J.H. (1999) *Biostatistical analysis*, 4a ed., Prentice-Hall, Inc., New Jersey.

Relatório revisado pelo orientador Rodrigo Damasco Daud

USO DE DIFERENTES DOSES DE DOXORRUBICINA PARA A OBTENÇÃO DE MODELO EXPERIMENTAL DE CARDIOTOXICIDADE EM RATOS

DIFFERENT DOSES OF DOXORUBICIN TO OBTAIN EXPERIMENTAL MODEL OF CARDIOTOXICITY IN RATS

Júlia Harger **Sousa**[1] Priscilla Regina **Nasciutti**[2] Léa Resende **Moura**[3] Rosângela de Oliveira Alves **Carvalho**[4] Veridiana Maria Brianezi Dignani de **Moura**[5]

RESUMO - A doxorrubicina (DOX) é um quimioterápico utilizado no tratamento de neoplasias malignas, porém possui uso limitado devido a sua cardiotoxicidade. O objetivo deste trabalho foi utilizar diferentes protocolos para obter a dose mínima necessária de DOX à indução de lesões cardíacas em ratos, detectadas por eletrocardiografia, ecocardiografia e exame anatomopatológico. Foram utilizados 32 ratos da raça Wistar, distribuídos em quatro grupos de oito animais cada, sendo G1 - água e solução salina; G2 - 8mg/kg de DOX; G3 - 16mg/kg de DOX; e G4 - 24mg/kg de DOX. Os animais foram submetidos à avaliação eletrocardiográfica e ecocardiográfica nos tempos zero, 15 e 30 dias após a aplicação da DOX. Observou-se que quanto maior a dose de DOX, menor o peso relativo dos ratos ($p<0,01$). Ao eletrocardiograma notou-se significativo aumento da onda T ($p<0,01$). Sobre a taxa de mortalidade, apenas no G4 houve mortes durante o experimento. Os animais dos demais grupos foram submetidos à eutanásia e ao exame anatomopatológico. À microscopia do coração dos animais que receberam a DOX observaram-se degeneração vacuolar miocítica, atrofia das miofibrilas, necrose, desorganização e fragmentação de miofibrilas, infiltrado inflamatório e vacuolização da túnica média de artérias. Constatou-se que a DOX nas doses de 8mg/kg, 16mg/kg e 24mg/kg, via intraperitoneal, promove alterações cardíacas em ratos, e que a variável tempo possui maior interferência na intensidade das lesões histológicas em comparação à dose, possivelmente devido ao efeito cumulativo da droga no organismo animal.

PALAVRAS-CHAVE: Antraciclina, cardiomiopatia, ecocardiograma, eletrocardiograma, histopatologia.

Trabalho apresentado no X Conpeex 2013 – X Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG (V Seminário de Pesquisa, XXI Seminário de Iniciação Científica, X Seminário de Pós-Graduação, XI Mostra de Extensão e Cultura, Seminários PET, PROLICEN e PIBID), realizado no período de 14 a 16 de outubro de 2013.

[1] Acadêmica em Medicina Veterinária, Bolsista em Iniciação Científica, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil, juliaharger21@hotmail.com - Aluna PIBIC

[2] Médica veterinária, Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Área de Patologia, Clínica e Cirurgia Animal (PCC), EVZ, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil: prinasciutti@gmail.com

[3] Médica Veterinária, Mestre, Doutoranda, PPGCA, PCC, EVZ, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil: lea_vet@hotmail.com

[4] Professor Associado, Setor de Clínica e Cirurgia, Departamento de Medicina Veterinária (DMV), EVZ, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil, rosangela2210@gmail.com

[5] Professor Adjunto, Setor de Patologia Animal, DMV, EVZ, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970, (62) 3521-1597, vdmoura@hotmail.com - orientadora.

"Revisado pela orientadora"

1. INTRODUÇÃO

Doenças cardiovasculares são consideradas problema de saúde pública, com altas taxas de morbidade e mortalidade na população em geral (PONTES et al., 2010). Também as lesões cardiovasculares secundárias ao tratamento do câncer têm aumentado, com destaque para as cardiomiopatias (MARTINS, et al., 2011), já que muitos agentes farmacológicos podem causar lesões agudas ou crônica no miocardio, incluindo a doxorrubicina (DOX) (PONTES et al., 2010).

A DOX é um antibiótico do grupo das antraciclinas, isolado a partir de culturas fúngicas de *Streptomyces peucetus var. caesius (*SILVA & CAMACHO, 2005) e utilizado como quimioterápico no tratamento de neoplasias malignas como leucemias, linfomas e tumores sólidos (PONTES et al., 2010, ÖZDOGAN et al., 2011), tanto em seres humanos quanto em animais Contudo, possui uso limitado devido a sua alta cardiotoxicidade (SANTOS et al., 2009), sendo que doses elevadas podem produzir danos ao miocárdio, como hipotensão, arritmias, anormalidades eletrocardiográficas, insuficiência cardíaca e morte (SILVA & CAMACHO, 2005).

A toxicidade da DOX relaciona-se à liberação de radicais livres, pelo ciclo *redox* da molécula da antraciclina, responsáveis pelo estresse oxidativo que degrada as células cardíacas por necrose e apoptose, as quais são substituídas por fibras colágenas, causando disfunções sistólicas e diastólicas (POTAKOVÁ et al., 2007). Ainda, o aumento do estresse oxidativo pode levar a uma variedade de mudanças celulares no miocárdio, incluindo a vacuolização de células do miocárdio (SINGAL et al.1998).

A cardiotoxicidade induzida pela DOX pode ser aguda, subaguda, crônica ou tardia. A toxicidade aguda ocorre durante o tratamento e pode ser assintomática, já a forma subaguda, rara, ocorre em dias a semanas após o uso da droga e manifesta-se como pericardite ou miocardite. A toxicidade crônica manifesta-se como insuficiência cardíaca, se desenvolvendo meses após o tratamento quimioterápico e a tardia ocorre anos após o término da quimioterapia (SOUZA et al., 2009).

O presente estudo teve como objetivo utilizar diferentes protocolos para obter a dose mínima necessária de DOX à indução de lesões cardíacas em ratos, detectadas por eletrocardiografia, ecocardiografia e exame anatomopatológico.

2. MATERIAL E MÉTODOS:

Foram utilizados 32 ratos machos, da raça Wistar, de três meses de idade, com peso variando de 262 a 538 gramas, sem histórico de doença cardíaca e adquiridos do Biotério Central da UFG para o experimento, que obedeceu aos preceitos éticos em experimentação, conforme aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Goiás (COEP/UFG) (processo 028/12).

Os animais foram mantidos no biotério da EVZ/UFG, em condições controladas de temperatura (21°C) e luminosidade (ciclos de 12 horas), recebendo dieta padrão (ração própria para ratos) e água à vontade. Permaneceram em caixas e separados por grupos. Os animais do grupo G1 (n=8), controle, receberam 1ml de solução salina; os do G2 (n=8) foram submetidos a doses de 2mg/kg de DOX, totalizando 8mg/kg; os do G3 (n=8) receberam 4mg/kg de DOX, totalizando 16mg/kg; e aqueles do G4 (n=8) receberam doses de 6mg/kg de DOX, totalizando 24mg/kg. As aplicações foram via intraperitoneal, uma vez por semana, durante quatro semanas, sendo utilizados álcool iodado para a antissepsia e cateter número 22 para a infusão intraperitoneal. A doxorrubicina utilizada foi a Adriblastina® de 50 mg, diluída em 50 ml de solução salina, na concentração de 1mg/mL. Os animais foram avaliados diariamente quanto ao estado geral, pesados no primeiro dia do experimento e semanalmente para o acompanhamento do peso e aplicação da medicação na dose correta.

Foram realizados exames ecocardiográfico e eletrocardiográfico nos tempos zero, 15 e 30 dias do experimento. Para a realização dos exames, os animais foram anestesiados com isoflurano, utilizando máscara facial adaptada para ratos.

Os animais dos grupos G1 e G3 foram submetidos à eutanásia 21 dias após a última aplicação da DOX e os dos grupos G2 e G4, 42 dias após a última aplicação. A eutanásia foi realizada pelo aprofundamento da anestesia com isoflurano.

Os ratos foram encaminhados ao Setor de Patologia Animal da EVZ/UFG para a realização do exame anatomopatológico. À necropsia, o coração dos ratos foi pesado em balança de alta precisão, medido em sua largura e comprimento com o auxílio de paquímetro e submetido à fixação em formalina tamponada a 10% para a avaliação histomorfológica.

Para a análise dos dados do eletrocardiograma as variáveis de escolha foram onda T e frequência cardíaca. Com o teste de normalidade da onda T, verificou-se que as variáveis nos tempos não são normais, com $p<0,01$, por esse motivo foi utilizado o teste de Mann-Whitney (Wilcoxon), que permite comparar as medidas de posição (onda T) de duas amostras nos tempos zero, 15 e 30. Para a frequência cardíaca foi utilizado o teste de normalidade

(Shapiro), e, como as amostras não eram normais, aplicou-se o teste de Wilcoxon, nos tempos zero e 15, zero e 30, e 15 e 30.

Para a análise dos dados do ecocardiograma foram utilizadas as variáveis fração de ejeção (FE) e fração de encurtamento (FS). Foi realizado o teste de normalidade (Shapiro) para FE nos tempos zero e 15, zero e 30, e 15 e 30, sendo estes normais, com p=0,9623, p=0,2789, e p=0,872, respectivamente. Por isso, foi utilizado o teste *t* pareado para comparar a média da FE nos diferentes tempos. Para FS, o teste de normalidade (Shapiro) foi realizado nos tempos zero e 15, e 15 e 30, sendo as amostras normais, com p=0,466 e p=0,869, respectivamente. Em seguida, realizou-se o teste *t* pareado nos tempos zero e 15, e 15 e 30.

Para análise estatística do peso, dose e tempo foi utilizado o programa R *project package*. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskall Wallis. Foram excluídos da análise os dados dos animais que morreram durante o tratamento, a fim de manter a uniformidade dos grupos. Ainda, utilizou-se o peso relativo dos ratos (peso posterior dividido pelo anterior, com três variáveis), para não afetar a diferença do peso individual dentro do mesmo grupo. Já para a análise do peso dos corações em relação à dose foi utilizado o teste de Regressão.

Para a análise estatística da avaliação histomorfológica foi utilizado o teste para tabelas de contingências, testando-se a não associação entre o grau de lesão e os grupos de diferentes doses de DOX (hipótese nula), com nível de significância α=10%. Foram relacionados os grupos G1 e G3, e G2 e G4 pelo mesmo tempo de permanência vivo após a última aplicação de DOX, e já que a droga possui efeito cumulativo, supôs-se a interferência do tempo gravidade das lesões. Também foi calculada a média das alterações microscópicas.

3. RESULTADOS

Ao eletrocardiograma, nos tempos zero e 30, e 15 e 30 houve diferença (p<0,01), indicando aumento da onda T com o passar do tempo. Em relação à frequência cardíaca houve redução desta em todos os tempos (p=0,9776, p=0,998, e p=0,9953, respectivamente).

Não houve diferença para as variáveis da avaliação ecocardiográfica nos tempos analisados (p=0,6906, p=0,458 e p=0,1368 para FE; e p=0,6244, p=0,1991 para FS).

Em relação à taxa de mortalidade, no G1 apenas um animal (12,5%) morreu durante o procedimento anestésico na primeira semana do experimento. Em G2 e G3 também houve apenas uma morte (12,5%), na primeira e terceira semana, respectivamente. No intervalo entre a segunda e quarta semana dois animais do G4 morreram e os demais do referido grupo, totalizando 100%, morreram após a quarta aplicação de DOX.

Ao exame necroscópico os animais do grupo G4 apresentaram exsudato serosanguinolento na cavidade abdominal, assim como esteatonecrose na região peritesticular, Nos animais dos grupos G1 e G2 não foram observadas alterações macroscópicas.

A exceção dos animais do controle (G1), os demais apresentaram lesões microscópicas indicativas de cardiomiopatia induzida pela DOX, estas mais evidentes nos ratos do G2 (8mg/kg), que apesar de ser o grupo com a menor dose utilizada foi o que apresentou o maior número de animais vivos ao final das aplicações da droga.

À avaliação microscopia do miocárdio foram observaram-se degeneração vacuolar miocítica, atrofia das miofibrilas, necrose, desorganização e fragmentação de miofibrilas, infiltrado inflamatório, vacuolização da túnica média de artérias e fragmentação de miofibrilas. (Figura 1). As variáveis degeneração vacuolar miocítica para G1 e G3 e atrofia das miofibrilas para G2 e G4 apresentaram associação entre o grau de lesão nos ratos dos grupos de diferentes doses (p=0,0538 e p=0,0673, respectivamente). Maior média de lesões microscópicas foi observada em G2 (8mg/kg) em relação a G3 (16mg/kg). Entretanto, de modo geral, G4 (24mg/kg) apresentou a maior média de lesões (Quadro 1).

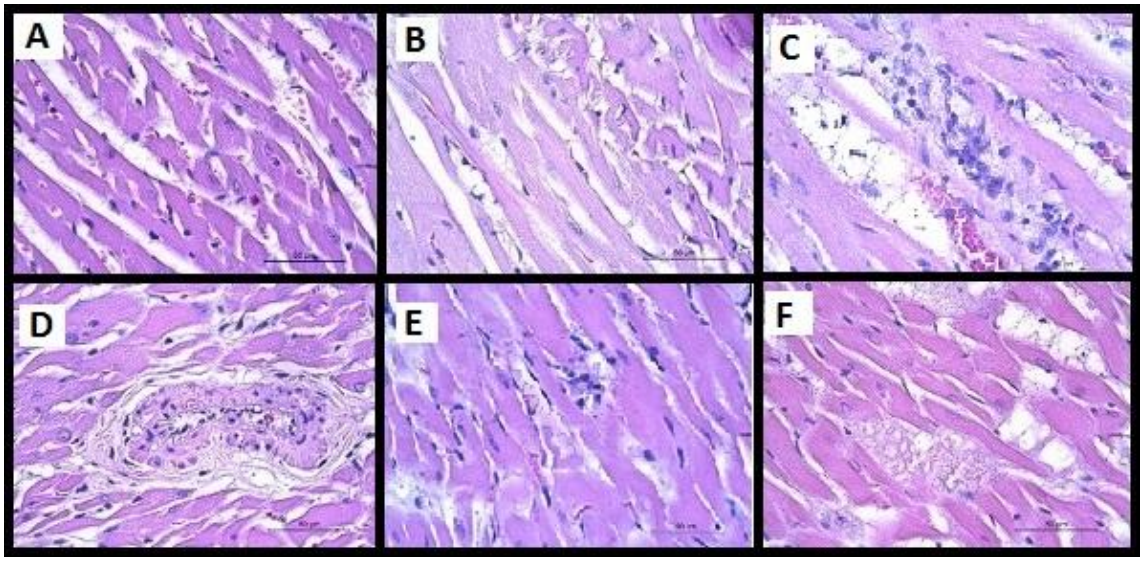


Figura 1 - Fotomicrografia do miocárdio dos ratos. A) Fibras musculares cardíacas de morfologia normal (G1). B) Vacuolização, hialinização e desorganização das miofibrilas cardíacas (G2). C) Vacuolização, infiltrado inflamatório (G2). D) Vacuolização da túnica média das artérias (G3). E) Infiltrado inflamatório discreto entre as fibras cardíacas (G3). F) Vacuolização e fragmentação das miofibrilas (G4).

Quadro 1 - Média das lesões microscópicas por grupo de ratos submetidos à aplicação de diferentes doses de DOX durante quatro semanas, Goiânia, GO.

	DV	AM	F	NV	DFM	AC	II	FM	Média
Controle	1	0	0	0	0	0	0	0	1,000
8mg/kg	2,71	2,428	0	2	2,57	0	1	2,5	2,201
16mg/kg	2,125	2,6	0	2,57	2	2	1	2,5	2,114
24mg/kg	2,625	2,667	0	2,5	2,5	0	1,5	2,4	2,365

DV: degeneração vacuolar, AM: atrofia das miofibrilas, N: necrose, DFM: desorganização e fragmentação de miofibrilas, AC: Anichow cells II: infiltrado inflamatório, FM: Fragmentação das miobrilas.

Constatou-se influência do aumento da dose sobre a redução do peso relativo ($p<0,01$) (Figura 2). Para o primeiro peso relativo (tempos 2 e 1), o grupo controle diferiu dos demais, pois apresentou peso relativo positivo enquanto os outros negativo (*Box Plot* pela Figura 3). Já nos tempos 3 e 2 houve diferença apenas entre G1 e G3 (24mg/kg). Nos tempos 4 e 3 houve diferença entre G1 e G2, e G1 e G4. Os grupos de G2 (8mg/kg) e G4 (24mg/kg) foram os que mais perderam peso em relação aos demais. O mesmo ocorreu com o peso do coração, em que quanto maior a dose menor o peso do coração ($p=0,048$).

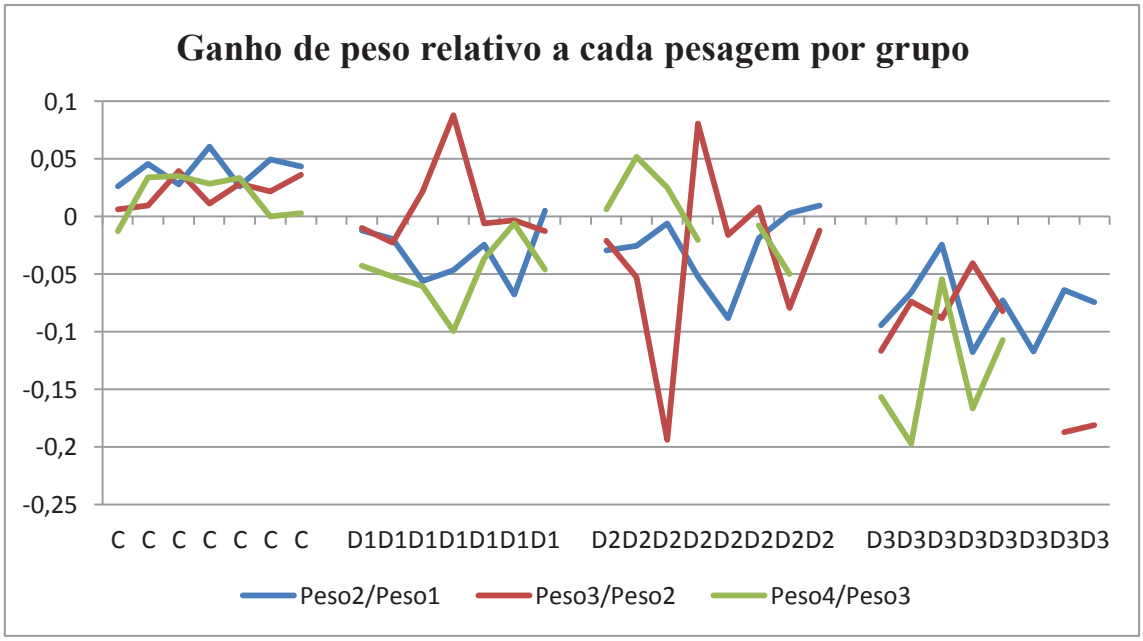


Figura 2 - Ganho de peso relativo por grupo a cada pesagem dos ratos submetidos a diferentes doses de DOX durante quatro semanas, Goiânia, GO.

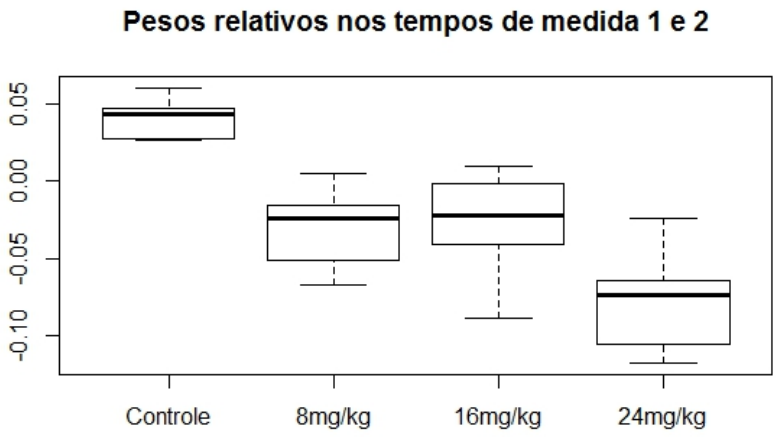


Figura 3 - Peso relativo dos ratos dos grupos G1, G2, G3 e G4 nos tempos 1 e 2, Goiânia, GO.

4. DISCUSSÃO

Lesões miocárdicas induzidas por DOX foram relatadas em pacientes humanos, assim como em estudos experimentais em animais (KARIM et al., 2001). Neste estudo, após a administração da DOX, especialmente em doses mais elevadas, os animais se apresentaram apáticos, fracos, com perda de peso, ascite e diminuição do peso do coração em proporção ao seu peso, o que também é descrito por KHAN et al. (2005), que ainda incluem hepatomegalia e congestão hepática como possíveis alterações.

O eletrocardiograma compreende método de diagnóstico complementar não invasivo, de baixo custo e que auxilia na detecção da cardiomiopatia induzida por quimioterápicos, havendo alterações como amplitude das ondas, alterações de repolarização e aumento da frequência cardíaca. Entretanto, as alterações observadas com maior frequência são a alteração do segmento ST e da onda T (SANTOS et al., 2009).

A morfologia da onda T é importante para a identificação de hipóxia ou infarto miocárdico em decorrência de desidratações extremas ou diminuição do aporte sanguíneo (DUMONT, et al., 2011). No presente estudo houve aumento significativo da onda T, sugerindo lesão por hipóxia decorrente da aplicação da DOX, já que esta dificulta o transporte de oxigênio, devido a lesão de mitocôndrias, com consequente disfunção da perfusão sanguínea (SOUZA et al., 2009). A frequência cardíaca não foi alterada entre grupos e tempos, porém foi mais alta que a encontrada por ZHANG et al. (2000). Tal diferença possivelmente ocorreu em virtude do protocolo anestésico utilizado nesta pesquisa, já que os referidos autores aferiram a frequência cardíaca dos ratos por meio de transdutor telemétrico, sem, portanto, nenhuma interferência anestésica, obtendo a média de 314,1 bpm. Neste

trabalho, os animais foram submetidos à anestesia volátil, constatando-se média de 380,8 bpm para a variável frequência cardíaca.

O ecocardiograma é um método útil para identificar as alterações funcionais cardíacas na cardiotoxicidade aguda induzida pela DOX (SOUZA et al., 2009). FERREIRA et al. (2007) trabalharam com ratos, utilizando 4mg/kg de DOX, por via intraperitoneal, semanalmente, durante quatro semanas, totalizando 16mg/kg e constataram cardiotoxicidade detectada pela ecocardiografia. Ainda de acordo com FERREIRA et al. (2007), o ecocardiograma houve diminuição da função sistólica no ventrículo esquerdo, confirmando o seu comprometimento.

Em um estudo feito por SOUZA et al. (2009), quinze ratos da raça Wistar foram submetidos à injeção intraperitoneal única de 20mg/kg de DOX, e avaliados ao ecocardiograma antes e após 48 horas da infusão. Houve diminuição do peso corporal, sem variação da frequência cardíaca, com redução do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo, e aumento do tempo de relaxamento isovolumétrico. A fração de encurtamento do ventrículo esquerdo e o volume ejetado diminuíram, enquanto as variáveis do grupo controle mantiveram-se estáveis. Porém, neste trabalho os protocolos não induziram disfunção sistólica do ventrículo esquerdo. Os valores de FE e FS não apresentaram alterações entre os grupos e entre os tempos avaliados. No entanto, WASMEIER et. al., (2007) avaliaram ao ecocardiograma vinte ratos machos adultos, saudáveis, da raça Wistar, submetidos ao mesmo protocolo anestésico utilizado neste trabalho e caracterizado por anestesia volátil com isoflurano, e encontraram valores maiores para a FE (83.3) e FS (39.0) quando comparados aos encontrados neste trabalho (72.2 para FE e 37,45 para FS), sendo que a queda dessas variáveis sugere insuficiência sistólica, possivelmente provocada pela DOX.

Com relação aos índices de mortalidade, FERREIRA et al., (2007) utilizaram 16mg/kg de DOX, em quatro aplicações de 4mg/kg. Os animais foram submetidos a eutanásia uma semana após a última aplicação, com índices de mortalidade de 50%. Já KIZAKI et al., (2006) utilizaram dose única de 25mg/kg de DOX em ratos e avaliaram índices de mortalidade um, dois e quatro dias após a aplicação da DOX. Após um e dois dias não houve mortalidade. Já o grupo que foi submetido à eutanásia quatro dias após a aplicação apresentou taxa de mortalidade de 29%. Neste estudo, o grupo que recebeu 24mg/kg de DOX apresentou mortalidade de 100% dos animais após a última aplicação, possivelmente devido o maior tempo de espera para eutanásia e avaliação microscópica.

Ao exame necroscópico dos animais do grupo G4 havia exsudato serossanguinolento na cavidade abdominal e esteatonecrose na região peritesticular,

possivelmente devido ao volume de DOX aplicado nesses animais e ao tempo que os mesmos mantiveram-se vivos, já que aqueles que receberam dose mais elevada morreram precocemente.

No presente trabalho, conforme o aumento da dose da DOX, notou-se redução do peso do coração dos ratos, o que se assemelha aos achados de KHAN et al. (2005). Também DUDNAKOVA et al. (2003), ao utilizar dose única de 2,2mg/kg de DOX em ratos, observaram que apesar de não haver alterações macroscópicas, houve redução da proporção do peso do coração em relação ao peso dos ratos, além de mudanças nos padrões de expressão de proteínas na musculatura ventricular.

De acordo com YU et al. (1998), o diagnóstico definitivo das alterações é realizado por meio de biopsia miocárdica, com achado de lesões características da cardiotoxicidade por DOX, como perda de miofibrilas e vacuolização citoplasmática. Neste estudo, observaram-se à microscopia degeneração vacuolar miocítica, atrofia das miofibrilas, necrose, fragmentação de miofibrilas, infiltrado inflamatório e vacuolização da túnica média de artérias. De outra parte, em estudo feito por MOURA et al. (2013), a administração intraperitoneal de única dose de DOX de 10mg/kg em ratos não induziu alterações histomorfológicas no coração.

Também FERREIRA et al. (2007) trabalharam com ratos, administrando 4mg/kg de DOX, por via intraperitoneal, semanalmente, durante quatro semanas, totalizando 16mg/kg. As lesões histológicas encontradas foram desorganização de miofibrilas, vacuolização dos miócitos, edema intersticial, necrose com picnose nuclear, cariorrexe e cariólise, e infiltrado mononuclear, alterações estas semelhantes àquelas encontradas no coração dos ratos deste estudo.

KARIMI et al. (2005) avaliaram a toxicidade provocada pela DOX no miocárdio de camundongos ao aplicar 15mg/kg, em dose única e via intraperitoneal. Os animais foram submetidos à eutanásia após três dias da última aplicação de DOX. A principal alteração à microscopia foi degeneração miocárdica focal, acompanhada de infiltrado de células mononucleares, alteração esta de menor gravidade e de intensidade mais discreta em relação àquelas encontradas no miocárdio dos animais deste experimento.

Em um estudo conduzido por KHAN et al. (2005), camundongos foram tratados com 4mg/kg de DOX, por via intraperitoneal, semanalmente, durante quatro semanas, totalizando 16mg/kg. A cardiotoxicidade no estudo KHAN et al. (2005), assim como neste experimento, foi avaliada três semanas após o término do tratamento, sendo encontradas alterações semelhantes em ambos, como perda de miofibrilas e vacuolização citoplasmática.

Ainda, no trabalho citado, à microscopia eletrônica foram observadas alterações morfológicas significantes na estrutura dos ventrículos, como edema nas mitocôndrias, perda de miofibrilas e danos no retículo sarcoplasmático. Acerca disso, é possível que alterações semelhantes fossem constatadas. Entretanto, a referida ferramenta de avaliação não foi alvo desta pesquisa.

IQBAL et al. (2008) utilizaram 20mg/kg de DOX por via intraperitoneal, em dose única, e observaram alterações à análise histopatológica, como ruptura das miofibrilas, nos ratos tratados com a droga. Foram observados elevado número de células inflamatórias e discreto edema nos animais submetidos à eutanásia dois dias após a aplicação de DOX, e necrose focal da fibra muscular, com edema, hemorragia e congestão, após sete dias da aplicação. Esses resultados, assim como os desta pesquisa, sugerem que a cardiotoxicidade pode estar relacionada ao tempo de avaliação após a aplicação. A média das lesões microscópicas nos animais do G2 (8mg/kg) foi maior que as do G3 (16mg/kg), possivelmente devido ao maior tempo de exposição à DOX, indicando que o tempo influencia na gravidade das lesões causadas pela DOX, considerando seu efeito cumulativo no organismo. Apesar disso, de forma geral, G4 (24mg/kg) foi o grupo que apresentou a maior média de lesões.

PONTES et al. (2010) utilizaram 5mg/kg de DOX em dose única, e avaliaram o coração dos ratos seis meses após o início do experimento. Macroscopicamente o coração dos animais aumentou em relação ao peso. Microscopicamente notaram-se fibrose, vacuolização citoplasmática dos miócitos, necrose miocárdica e variação no tamanho dos núcleos. Em contraste, no presente trabalho não foi observada fibrose no coração de qualquer dos animais.

5. CONCLUSÕES

A aplicação da DOX nas doses de 8mg/kg, 16mg/kg e 24mg/kg, por via intraperitoneal, promove alterações cardíacas em ratos, detectadas à histopatologia e eletrocardiogafia. Quanto maior a dose de DOX menor o peso relativo do rato e do coração. A intensidade das lesões histológicas decorrentes do efeito cumulativo da DOX no organismo animal depende mais do tempo decorrido após a aplicação da droga do que da dose. A DOX na dose de 24mg/kg aumenta drasticamente o índice de mortalidade. A aplicação de DOX na dose de 16mg/kg na concentração de 1mg/mL, quando aplicada por via intraperitoneal, promove esteatonecrose da gordura abdominal.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A quimioterapia é um tratamento medicamentoso essencial ao paciente portador de doença oncológica e a doxorrubicina é um quimioterápico amplamente utilizado na

medicina e na medicina veterinária para combater neoplasias malignas. Entretanto, apesar da utilização de protocolos terapêuticos cada vez mais eficazes, pacientes submetidos ao tratamento antineoplásico com drogas cardiotóxicas como a doxorrubicina comumente desenvolvem cardiomiopatia dilatada.

Há vários estudos no Brasil e no mundo avaliando métodos de detecção precoce da cardiotoxicidade induzida pela DOX, assim como pesquisas que testam diferentes antioxidantes na prevenção dos seus efeitos deletérios, as quais devem ser cada vez mais encorajadas, visando o desenvolvimento de estratégias de controle dos efeitos colaterais relacionados à terapia antineoplásica.

Vale ressaltar que este trabalho teve o intuito de encontrar um protocolo adequado de indução de cardiotoxicidade pela DOX em ratos, representando um bom modelo experimental, considerando que esses animais são frequentemente utilizados em estudos dessa natureza e a taxa de mortalidade costuma ser alta, mesmo quando se utiliza doses de DOX previamente descritas em artigos científicos publicados com êxito. Assim, os resultados deste estudo podem auxiliar futuras pesquisas na área, reduzindo a taxa de mortalidade e o número de animais utilizados em cada estudo. Ainda, destaca-se o valor da abordagem relacionada à dose a ao tempo neste trabalho, pois como a DOX possui efeito cumulativo, é importante avaliar tanto a dose de administração quanto o tempo que os animais precisam permanecer vivos para a conclusão da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. DUDNAKOVA, T.V.; LAKOMKIN, V.L.; TSYPLENKOVA, V.G.; SHEKHONIN, B.V.; SHIRINSKY, V.P.; KAPELKO, V.I. Alterations in Myocardial Cytoskeletal and Regulatory Protein Expression Following a Single Doxorubicin Injection**. J Cardiovasc Pharmacol** , Volume 41, Number 5, May 2003.
2. DUMONT, C.B.S.; MORAES, J.M.; LEITE, C.R.; ALVES, R.O.; MOREIRA, M.; MOSCARDINI, A.R.C.; GODOY, R.F.; LIMA, E.M.M. Parâmetros eletrocardiográficos de equinos desclassificados por exaustão em competições de enduro. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**., v.63, n.1, p.20-27, 2011
3. FERREIRA, A.L.A.; RUSSELL, R.M.; ROCHA, N.; LADEIRA, M.S.P.; SALVADOR, D.M.F.; NASCIMENTO, M. Effect of lycopene on doxorubicin-induced cardiotoxicity: An echocardiographic, histological and morphometrical assessment. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v.101, n.1, p.16-24, 2007.
4. GIOLO, SR. Introdução à Análise de Dados Categóricos com Aplicações. Notas Didáticas, versão 2011.
5. IQBAL, M.; DUBEY, K.; ANWER, T.; ASHISH, A.; PILLAI, K.K. Protective effects of telmisartan against acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. **Pharmacological Reports**, v.60, n.3, p.382-390, 2008. Disponível em: <http://www.if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2008/3_382.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2013.

6. KARIM, S.; BHANDARI, U.; KUMAR, H.; SALAM, A.; SIDDIQUI, M.A.A.; PILLAI, K.K. Doxorrubicin Induced Cardiotoxicity And Its Modulation By Drugs. **Indian Journal of Pharmacology**; 33: 203-207, 2001.
7. KARIMI, G. RAMEZANI, M.; ABDI, A. Protective effects of lycopene and tomato extract against doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.1, n.2, p.85-90, 2005.
8. KHAN, M.; SHOBHA, J.C.; MOHAN, I.K.; NAIDU, M.U.R.; SUDARAM, C.; SINGH, S.; KUPPUSAMY, P.; KUTALA, V.K. Protective effect of spirulina against doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Phytotherapy Research**, v.19 n.12, p.1030-1037, 2005.
9. KIZAKI, K.; ITO, R.; OKADAA, M.; YOSHIOKA, K.; UCHIDE, T.; TEMMAC, T.; MUTOHB, K.; UECHI, M.; HARA, Y. Enhanced gene expression of myocardial matrix metalloproteinases 2 and 9 after acute treatment with doxorubicin in mice. **Pharmacological Research**, Londres, v.53, p.341–346, 2006.
10. MALVA, J.G. **Cardiomiopatia dilatada em cães**. 2007. 61f. Monografia (Pós-Graduação em clínica médica de pequenos animais) – Universidade Castelo Branco, São Paulo.
11. MARTINS, W.A.; SOUZA, B.V.; ROCHA, L.F.C.; JUNIOR, H.V. Cardiomiopatia por doxorrubicina em pacientes com câncer de mama – a propósito de dois casos. **Revista Brasileira de Cardiologia**, Niterói, v.24, n.3, p.196-198, 2011.
12. MOURA, L.R.; MARTINS, A.C.; VAZ, L.A.R.; ORPINELLI, S..R.T.; SILVA, T.L.; FALEIRO, M.B.R.; SANTOS, S.C.; MOURA,V.M.B.D. Extrato hidroalcoolico da casca do pequi (*Caryocar brasiliense*) em ratos submetidos à aplicação de doxorrubicina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.1, p.100-106, jan, 2013.
13. ÖZDOGAN, K.; TASKIN, E.; DURSUN, N. Protective effect of carnosine on adriamycin-induced oxidative heart damage in rats. **Anadolu Kardiyol Derg**, İstanbul, v.11, n.1, p.3-10, 2011.
14. PONTES, J.C.D.V.; GOMES JÚNIOR, J.F.; SILVA, G.V.R.; BENFATTI, R.A.; DIAS A.E.M.A.S.J.; DUARTE, J.J.; GARDENAL, N.; MAÇANORI ODASHIRO, M.; SANTOS, C.H.M. Estudo anatomopatológico da miocardiopatia induzida pela doxorrubicina em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.25, n.2, p.137-143, 2010.
15. POTÁCOVÁ, A.; ADAMCOVÁ, M.; ŠTĚRBA, M.; POPELOVÁ, O.; ŠIMŮNEK, T.; MAZUROVÁ, Y.; GUNČOVÁ, I.; GERŠL,V. A pilot study of matrix metalloproteinases on the model of daunorubicin-induced cardiomyopathy in rabbits. **Acta Medica (Hradec Králové),** Praga, v.50, n.2, p 109-111, 2007.
16. R. Development Core Team. R Foundation for Statistical Computing. R: A language and environment for statistical computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL. Disponivel em: http://www.R-project.org.
17. SANTOS, A.C.S.; MESQUITA, E.T.; MENEZES, M.E.F.C.; COSTA, M.P.; SANTOS, M.C.S. Cardioncologia: anormalidades eletrocardiográficas em pacientes com cardiomiopatia pós-uso de doxorrubicina. **Rev SOCERJ**, 22(5):281-288, 2009.
18. SILVA, C.E.V.; CAMACHO, A.A. Alterações ecocardiográficas em cães sob tratamento prolongado com doxorrubicina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** Belo Horizonte, v.57, n.3, p.300-306, 2005.

19. SINGAL, P.K.; ILISKOVIC, N. Doxorrubicin –Induced Cardiomyopathy. **The New England Journal of Medicine**. Vol. 339, Number 13, September, 34, 1998.

20. SOUZA, N.N.F.; ROSCANI, M.G.; POLEGATO, B.F.; PEREIRA, E.J.; FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S.; MATSUBARA, B.B. Avaliação ecocardiográfica da cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorrubicina em ratos. **Revista Brasileira de Ecocardiografia e Imagem Cardiovascular,** Botucatu, v.22, n.3, p.20-25, 2009.

21. WASMEIER, G.H.; MELNYCHENKO, I.; VOIGT, J.; ZIMMERMANN, W.H.; ESCHENHAGEN, T.; SCHINEIS, N.; REULBACH, U.; FLACHSKAMPF, F.A.; DANIEL, W.G.; NIXDORFF, U. Reproducibility of thansthoracic echocardiography in small animals using clinical equipment. **Coronary Artery Disease**, 18:283-291, 2007.

22. YU, P.C.; CALDERARO, D.; IKEOKA, S.T.; DEMARCHI, L.M.M.F.; CARAMELLI, B. Toxicidade Miocárdica por Doxorrubicina. **Rev Assoc Med Bras**; 51(3): 121-32; 2005.

23. XIN, Y.F.; WAN, L.L.; PENG, J.L.; GUO, C. Alleviation of the acute doxorubicin-induced cardiotoxicity by *Lycium barbarum* polysaccherides through the suppression of oxidative stress. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.49, p.259-264, 2011.

24. ZHANG, B.; SANNAJUST, F. Diurnal rhytms of blood pressure, heart rate, and locomotor activity in adult and old male Wistar rats. **Physiology & Behavior**, 70: 375-380, 2000.

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DA CAFEÍNA E DO ÁCIDO ACÉTICO EM DISCO DE PAPEL E EM FILMES DE ACETATO DE CELULOSE.

Júlie Èvany dos Santos CARNEIRO[1]; Robson Maia GERALDINE[2]; Miriam Fontes Araujo SILVEIRA[3]; Maria Célia Lopes TORRES[3], Deivis de Moraes CARVALHO[4].

[1]Bolsista de iniciação científica - EA/UFG, julievanyufg@gmail.com

[2]Professor orientador – EA/UFG, robson.agro.ufg@gmail.com

[3]Professoras do Setor de Tecnologia em Alimentos da Escola de agronomia - EA/UFG

[4]Aluno de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Setor de Tecnologia em Alimentos da Escola de Agronomia - EA/UFG

Resumo:

A grande exigência do consumidor por alimentos naturais e saudáveis faz com que as indústrias de alimentos se modifiquem, investindo em pesquisas e tecnologias avançadas para garantir ao consumidor produtos similares ao in natura. A produção de embalagens ativas pode contribuir na conservação de alimentos, aumentando sua vida útil e preservando suas características físicas, químicas e sensoriais. O presente trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana da cafeína, do ácido acético e do efeito sinérgico destes componentes, em discos de papel e incorporados em filmes de acetato de celulose, frente às cepas Escherichia coli, Bacillus cereus e Salmonella entérica sorotipo Enteritidis. Foram testadas concentrações de 1 e 2% de ácido acético, 1 e 2% de ácido acético em solução de cafeína (2%) e cafeína a 2%. O tratamento com 2% de ácido acético em solução de cafeína (2%), em disco de papel, apresentou bom potencial antimicrobiano frente à cepa S. enteritidis. Observou-se que a incorporação dos compostos em filmes de acetato de celulose não apresentou atividade antimicrobiana sobre os microrganismos testados.

Palavras-chave: embalagens ativas, cafeína, ácido acético, microrganismos.

Revisado pelo orientador

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento sócio econômico do Brasil tornou a sociedade brasileira mais exigente em termos de qualidade de vida, afetando todos os setores, principalmente no aspecto alimentação. Segundo SILVEIRA (2005), percebe-se transformação nítida na mudança de hábitos alimentares da sociedade, que tem deixado de se alimentar com produtos industrializados, optando por alimentos naturais e saudáveis. Dado a demanda do mercado por produtos com características similares aos *in natura*, surge a necessidade do desenvolvimento de embalagens ou filmes ativos com a finalidade de aumentar a vida de prateleira e assegurar ao consumidor produtos com qualidade visual, sensorial e microbiológica.

Uma base polimérica bastante utilizada na produção de filmes é o acetato de celulose. A partir dele são produzidos filmes transparentes e flexíveis. O acetato de celulose é um polímero amorfo, não tóxico e inodoro, estável em óleos minerais, permeável ao vapor d'água e solúvel em acetona (CERQUEIRA et al., 2010; SILVEIRA, 2005).

A cafeína, encontrada em café, chá, nozes de cola, folhas de mate, sementes de guaraná e, em menor escala, em frutos do cacau, contém nitrogênio em sua molécula e possui propriedades de uma base amina orgânica (DONALD et al., 2009). É bastante estudada por pesquisadores, devido sua função antimicrobiana contra fungos e bactérias (ALMEIDA et al., 2007). IBRAHIM et al. (2006) testaram a atividade antimicrobiana da cafeína contra a *E. coli*. ALMEIDA et al. (2007) mostraram que a redução do pH da solução de cafeína aumentou seu potencial de inibição sobre a *Salmonella typhimurium.*

Outra substância utilizada como agente antimicrobiano é o ácido acético, sendo muito antigo o procedimento de conservação dos alimentos pela acidificação. Os ácidos têm sido utilizados como agentes que conferem sabor ao alimento, como tampões para o controle do pH, conservantes na prevenção do crescimento de microrganismos e da germinação de esporos, sinérgica aos antioxidantes, na prevenção da rancidez e do escurecimento, modificadores da viscosidade, entre outros (GARDNER, 1972). De acordo com RAUPP et al. (2008), para assegurar a inibição do crescimento das bactérias em alimentos, o pH deste deve ser inferior a 4,5.

O presente trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana da cafeína, do ácido acético e do efeito sinérgico destes componentes, em discos de papel e incorporados em filmes de acetato

de celulose, frente às cepas de *Escherichia coli, Bacillus cereus e Salmonella entérica* sorotipo *Enteritidis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios do Setor de Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

Testes em discos de papel

Para avaliar a ação antimicrobiana da cafeína (Cromoline, 98,5% de pureza) e do ácido acético (CAQ - 99,5% de pureza) foram testadas soluções 2% de cafeína (S1); 1% de ácido acético (S2); 2% de cafeína e 1% de ácido acético (S3); 2% de ácido acético (S4) e 2% de cafeína e 2% de ácido acético (S5).

Culturas ativas das bactérias *Salmonella enteritidis* (IAL 1132), *Escherichia coli* (ATCC 25922) ou *Bacillus cereus* (ATCC 14579 IAL 55) foram inoculadas em placas de petri (15 cm de diâmetro) contendo Ágar Mueller Hinton (HIMEDIA). Posteriormente, cinco discos esterilizados de papel filtro, com 10 mm de diâmetro, foram colocados sobre o ágar e, em seguida, receberam 20 µL de uma das soluções em estudo. As placas foram incubadas a 35 ºC por 2 dias. Após este período, foi avaliada a formação de halo ao redor do disco.

Testes em filmes de acetato

Filmes foram produzidos tendo como base polimérica o acetato de celulose (doado pela empresa Rhodia) que, sem a incorporação dos aditivos, foram caracterizados como controle (AC). Os demais tratamentos foram realizados incorporando-se aos filmes de acetato de celulose: 2% de cafeína; 2% de ácido acético; cafeína e ácido acético, ambos a 2%. Os filmes foram produzidos pelo método *casting* (SOARES, 1998), utilizando-se acetona 99,5% de pureza (LABIMPEX Indústria e Comércio de Produtos para Laboratório Ltda) como solvente. Os filmes foram cortados na forma de discos com 10 mm de diâmetro e, para testar seu efeito sobre a *Salmonella enteritidis,* utilizou-se o teste de halo, conforme descrito anteriormente.

Delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das diferentes soluções sobre o crescimento dos microrganismos *Salmonella enteritidis, Bacillus cereus e Escherichia coli* estão apresentados na Figura 1.

Observou-se que, no tratamento apenas com cafeína, não houve inibição do crescimento dos microrganismos. Resultados contrários foram apresentados por ALMEIDA et al. (2007) que observaram efeito antimicrobiano da cafeína sobre *Salmonella typhimurium*. Também, ALMEIDA (2007) constatou ação antibacteriana da cafeína sobre algumas espécies de enterobactérias, como *Proteus hauseri,Serratia marcescense* e *Escherichia coli*, com menor efetividade sobre *Citrobacter freundii, Enterbacter aerogenes, Klebsiella oxytoca e Proteus mirabilis.* IBRAHIM et al. (2006) demonstraram o potencial da cafeína como agente antimicrobiano frente à cepa da *Escherichia coli* e como conservante em alimentos.

As bactérias não tiveram seu crescimento inibido quando submetidas aos tratamentos S1, S2 e S3. A solução 2% de ácido acético (S4) propiciou a formação parcial de halo no meio com *S. enteritidis*, caracterizado pelo menor crescimento do microrganismo em uma faixa de 2 mm da borda do disco de papel. Observou-se que a solução com 2% de cafeína e 2% de ácido acético (S5) foi efetiva na inibição do crescimento da *S. enteritidis* em até 2 mm da borda do papel. Portanto, o efeito antimicrobiano sinérgico da cafeína com ácido acético ficou evidenciado, sendo melhorado com a redução do pH da solução (entre 3,0 e 3,2). ALMEIDA et al. (2007) observaram influência do pH sobre o efeito inibitório da cafeína frente à cepa *Salmonella typhimurium*, com atividade antimicrobiana equivalente ou superior a 96%, quando aplicada em pH 4,5.

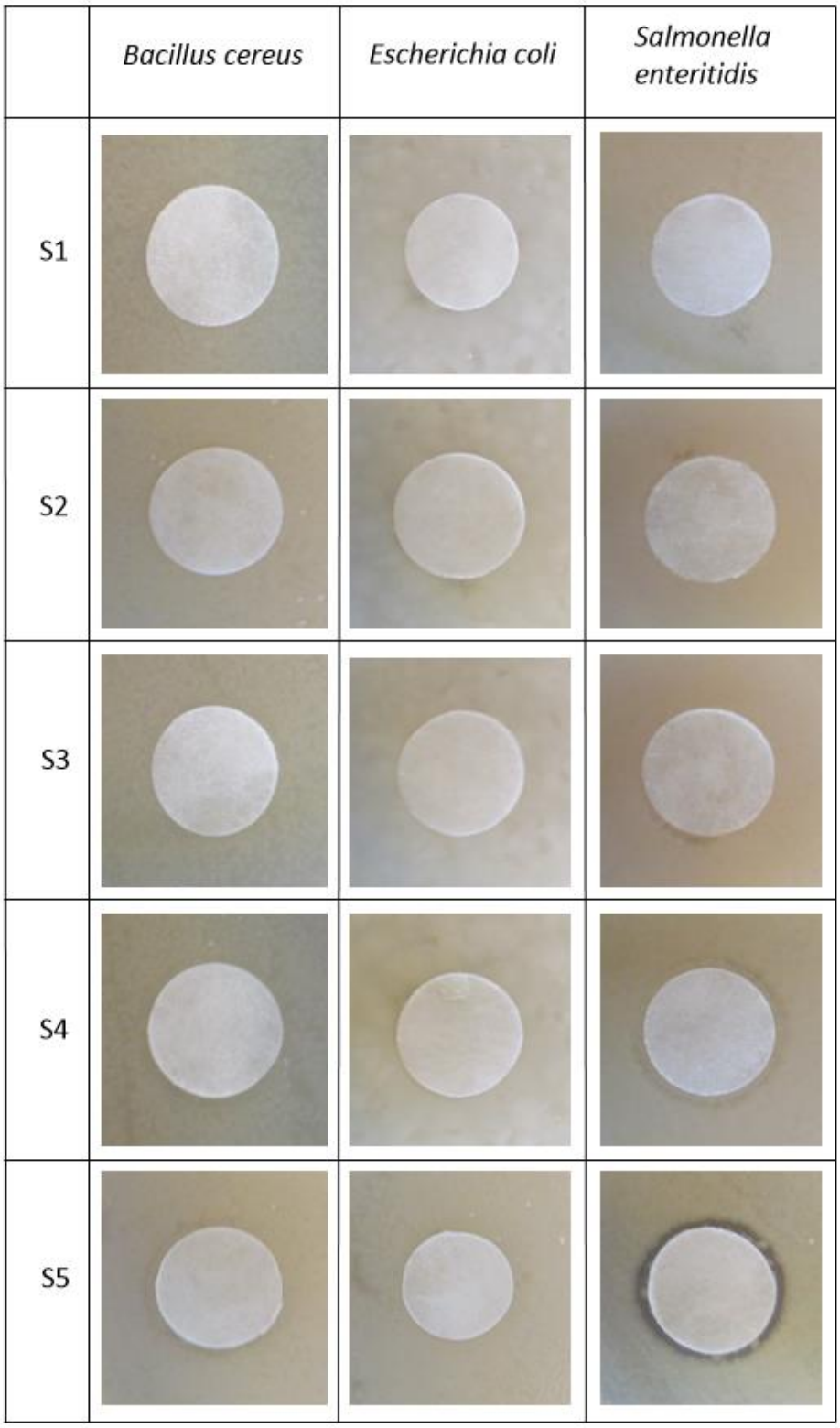


Figura 1. - Efeito das soluções 2% de cafeína (S1); 1% de ácido acético (S2); 2% de cafeína e 1% de ácido acético (S3); 2% de ácido acético (S4) e 2% de cafeína e 2% de ácido acético (S5), sobre as bactérias *Salmonella enteritidis, Escherichia coli* e *Bacillus cereus.*

Os resultados obtidos pela incorporação da cafeína e do ácido acético em filmes de acetato de celulose foram diferentes dos apresentados na avaliação direta da solução S5 sobre o disco de papel. Provavelmente, boa parte dos compostos antimicrobianos, cafeína e ácido acético, ficaram presos à matriz polimérica do filme, impedindo sua migração para o meio de cultura. Portanto, a quantidade desses compostos pode ter sido insuficiente para inibir o crescimento dos microrganismos.

CONCLUSÃO

A cafeína apresentou efeito antimicrobiano, potencializado pela adição do ácido acético (efeito sinérgico), sobre a *Salmonella enteritidis.* Não apresentou atividade contra *Bacillus cereus e Escherichia coli*, nas condições experimentais testadas. Quando incorporados ao filme de acetato de celulose, não foi observada ação antimicrobiana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. A. P. **Atividade antimicrobiana de extratos e compostos fenólicos e nitrogenados do café: avaliação *in vitro* e em modelo alimentar**. 2005. 135 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

ALMEIDA, A. A. P.; VILAÇA, M. C. C.; NUANAN, E. A.; GLÒRIA, M. B. A. Inibição de *Salmonella typhimurium* por compostos do café em diferentes valores de pH e eficiência conservante em um modelo alimentar. In :**Simpósio dos Cafés do Brasil**, 5, 2007, Águas de Lindóia, SP. Anais. DF: Embrapa Café, 2007. p. 391.

CERQUEIRA, D. A.; FILHO, G. R.; CARVALHO, R. A.; VALENTE,A. J. M. Caracterização de acetato de celulose obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar por 1H-RMN. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 2, p. 85-91, 2010.

DONALD, L. PAIVA;GARY, M. LAMPMAN; GEORGE, S. KRIZ;RANDAL, G. ENGEL. Química experimental técnicas de escala pequena. Rio Grande do Sul: Bookman, 2009. 880p.

GARDNER, W.H. Acidulants in food processing. In: **Handbook of Food Additives.** 2 ed., CRC Press, Cleveland, 1972, p. 225-270.

IBRAHIM,S.A.;SALAMEH,M.M;PHETSOMPHOU,S.;YANG,H.;SEO,C.W.Application of caffeine, 1,3,7-trimethylxantine to control *Escherichia coli* O157:H7. *Food Chem*, **Food Safety and Microbiology Laboratory**, North Carolina, v. 99, p. 645-650, 2006.

RAUPP, D. S.;GARDINGO, J. R.; MORENO, L. R.; HOFFMAN, J. P. M.; MATEILLO, R. R.; BORSATO, A. V. Minimilho em conserva: avaliação de híbridos. **Acta Amazônia**, Manaus,v. 38, n. 3, p. 509-516, 2008.

SILVEIRA, M. F. A. **Filme antimicrobiano incorporado com ácido sórbico na conservação de massa de pastel**. 2005. 64f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

SOARES, N. F. F; HOTCHCISS, J.H. Bitterness reduction in citrus juice through naringinase immobilized into polymer film.1998. 130 f.Tese (Ph.D. em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Cornell University, Nova York, 1998.

Índice de perfuração de luvas de procedimento/cirúrgica utilizadas por trabalhadores do expurgo de um Centro de Material e Esterilização

Júnnia Pires de Amorim Trindade[1]; Anaclara Ferreira Veiga Tipple[2]
Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás
Endereço eletrônico: junniatrindade@gmail.com; anaclara@fen.ufg.br

Resumo: Os trabalhadores de Centro de Material e Esterilização (CME) estão constantemente expostos ao risco biológico, pelo manuseio de secreções orgânicas, especialmente durante a limpeza manual de artigos. O uso dos equipamentos de proteção individual (EPI) durante o processo de limpeza torna-se fundamental para minimizar o risco de contato direto da pele e mucosas com matéria orgânica. O objetivo do estudo foi identificar a incidência de perfurações em luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe de enfermagem durante a realização da limpeza de artigos. Trata-se de um estudo transversal, descritivo e quantitativo realizado em um CME de um hospital de ensino de grande porte em Goiânia – GO no período de outubro a novembro de 2012. Foram avaliadas 300 luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe responsável pela limpeza manual de artigos no expurgo (grupo A), 100 luvas de procedimento e 100 cirúrgicas novas (grupo B) e 3 pares de luvas nitrílicas utilizadas por acadêmicos de enfermagem (grupo C). Entre as luvas do grupo A, 135 (45,0%) estavam perfuradas. O maior percentual de perfuração foi localizado nas luvas utilizadas na mão esquerda, apresentando 70 (51,5%) perfurações. O tempo de utilização influenciou no índice de perfuração das luvas. Não foram encontradas perfurações no grupo B. No grupo C, foram identificadas 4 perfurações de um total de 288 horas de uso. Verificamos que as luvas cirúrgicas/procedimento são inadequadas para o processo de limpeza manual de artigos, constituindo uma barreira ineficaz na segurança dos trabalhadores, que são usualmente expostos ao risco de contaminação por agentes biológicos.

Palavras-chave: Enfermagem; Exposição a agentes biológicos; Risco ocupacional; Equipamentos de Proteção; Saúde do trabalhador.

1. Acadêmica do 10º período de graduação da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás (FEN/UFG).

2. Enfermeira. Doutora. Enfermeira. Doutora. Professora Associada da FEN/UFG, Pesquisadora NEPIH e CNPq

Revisado pelo orientador

1. INTRODUÇÃO

Os acidentes do trabalho são os agravos à saúde do trabalhador mais documentados em todo mundo, mesmo levando em conta a subnotificação ou sub-registro do acidente, sabe-se que o risco biológico é o mais comum entre os profissionais de saúde (SARQUIS, 2008; MONTEIRO 2009).

Risco biológico é a possibilidade de contato com material biológico, como sangue ou outros fluidos orgânicos, que são potencialmente capazes de transmitir agentes biológicos patogênicos causadores de danos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2006).

Um estudo de revisão da literatura realizado por Tarantola et al (2006), identificou que três vírus (HBV, HCV e HIV) são responsáveis pela maioria dos casos de infecção ocupacional descritos na literatura devido a sua prevalência em pacientes e da gravidade das infecções que causam, porém os autores identificaram nos estudos analisados o total de 60 agentes patogênicos associados ao risco ocupacional.

Nesse sentido, os acidentes com material biológico são um grande problema entre os trabalhadores da área da saúde, que podem ser expostos por inoculação percutânea, através de agulhas ou objetos cortantes, além do contato direto com pele íntegra, não íntegra e mucosas (BRASIL, 2010).

O Centro de Material e Esterilização (CME) é definido como uma unidade funcional destinado ao processamento de produtos para saúde (PPS) dos serviços de saúde, onde são realizadas as seguintes etapas: limpeza, acondicionamento, esterilização, guarda e distribuição dos artigos (SOBECC, 2013; BRASIL, 2012).

A limpeza do artigo após seu uso remove a matéria orgânica e reduz a carga microbiana do material, sendo esta a etapa mais importante do processamento (PINTO et al, 2013).

Segundo a SOBECC (2013), a limpeza pode ser manual ou automatizada. A manual é executada com solução detergente e fricção com escovas de cerdas firmes e macias, seguida de água corrente ou sob pressão, possuindo grandes limitações, como a falta de uniformidade de execução pelos diferentes profissionais, baixa produtividade e os riscos ocupacionais biológicos e químicos.

Os trabalhadores de Centro de Material e Esterilização (CME) estão constantemente expostos ao risco biológico, pelo manuseio de secreções orgânicas, ao lavar e manusear artigos contaminados (TIPPLE, 2007). Risco que é potencializado quando a limpeza é feita de forma manual, método bastante usual em nosso país (APECIH, 2004).

O manuseio de artigos contaminados por material biológico requer a adoção de medidas de segurança pelos profissionais, sendo que o uso do EPI durante o processo de limpeza torna-se fundamental à medida que minimiza o risco de contato direto da pele e mucosas com qualquer material contaminado (TIPLLE et al, 2004; KAZUKO, 2011). Segundo a SOBECC (2013), os EPI recomendados para a limpeza manual de artigos são: luvas nitrílicas ou butílicas de cano longo, avental impermeável de manga longa, gorro, proteção de face ou máscara e óculos de proteção, botas plásticas ou impermeáveis.

Estudos verificaram que grande parte dos trabalhadores do CME de Goiânia – Goiás, não usavam os EPI recomendados para limpeza manual dos artigos quando ocorreram acidentes em que mãos e dedos foram atingidos, observando ainda que os trabalhadores do expurgo utilizavam luvas de procedimento durante a limpeza dos artigos (TIPPLE et al, 2004, 2008).

Um estudo que avaliou os acidentes com material biológico ocorridos no expurgo de um centro de material e esterilização verificou que apesar dos trabalhadores referirem ter recebido orientações sobre o uso correto de EPI, 103 (92,8%) não souberam citar quais os EPI recomendados para o trabalho em expurgo, e entre os 33 que se acidentaram, 31 (93,9%) não usavam os EPI recomendados. A maioria dos acidentes ocorreu com instrumentos perfurocortantes durante o processo de lavagem manual atingindo, predominantemente, membros superiores (Tipple et al, 2004).

Outro estudo realizado por Canalli et al (2010), verificou a ocorrência de um acidente com estudante de enfermagem durante a lavagem de artigos, identificando ainda que o estudante não utilizava as luvas grossas de borracha indicadas para a tarefa. O uso de luvas grossas não impede o acidente, mas reduz a possibilidade de lesões superficiais, comuns durante o processo de limpeza manual dos artigos, reduzindo, consequentemente o risco de contaminação por agentes biológicos (TIPPLE et al, 2003).

Os EPI resultam, por vezes, em incômodo devido à redução da sensação tátil, aumento da temperatura corpórea e dificuldade de movimentos, exigindo perseverança e reconhecimento dos benefícios do uso (CRUZ, 2009).

Nesse sentido, a realização desse estudo contribui para a compreensão da extensão do risco biológico para os trabalhadores de enfermagem que realizam a limpeza manual de artigos contaminados com secreção orgânica. Visando ampliar o escopo de conhecimentos que justificam o uso de luvas grossas e contribuir para a discussão em torno dessa prática que é muito comum, principalmente em nossa região.

2. OBJETIVO

- Identificar a incidência de perfurações em luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe de enfermagem durante a realização da limpeza de artigos.

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Trata-se de um estudo transversal, descritivo e quantitativo realizado em um Centro de Material e Esterilização de um hospital de ensino de grande porte em Goiânia – GO.

O CME da instituição é centralizado, ou seja, a unidade de processamento de produtos para saúde atende a mais de um serviço de saúde do mesmo gestor e acontece na mesma unidade (BRASIL, 2012), sendo subdividida em três grandes áreas separadas por uma barreira física. São elas, a área suja, composta pelo expurgo e a área limpa, composta pelo preparo, dobradura, esterilização e a área responsável pela guarda e distribuição de artigos. Além dessas, ainda possui o setor de desinfecção química que atende a demanda de todo o hospital.

Procedimento de obtenção das luvas

Foram avaliadas luvas de procedimento/cirúrgicas utilizadas pela equipe responsável pela limpeza manual de artigos no expurgo de um Centro de Material e Esterilização (CME) de um hospital escola de Goiânia, Goiás. A coleta foi realizada nos meses de outubro a novembro de 2012 e foram avaliados os seguintes grupos de luvas:

- Grupo A: Luvas em uso pelos trabalhadores para a limpeza manual dos artigos. Para definição da amostra foi realizado um cálculo amostral baseado no consumo mensal de luvas do expurgo, com intervalo de confiança de 10%, que indicou uma amostra de 280 luvas e foram analisadas 300 luvas.
- Grupo B: 100 luvas de procedimento e 100 luvas cirúrgicas da mesma marca e tamanho
- Grupo C: Seis luvas nitrílicas grossas utilizadas por acadêmicos do 4º período do curso de graduação em enfermagem, durante o período do estudo. As luvas nitrílicas não são descartáveis e após cada uso são processadas para reuso.

A coleta foi realizada nos finais de turno de trabalho das 12:00 às 14:00 e das 17:00 às 20:00 em dias alternados e totalizou 25 vezes de acesso à unidade de expurgo do hospital. O

expurgo, local do estudo, possuía grandes janelas de vidro dividindo a parede lateral com um corredor de acesso que permitia a visualização da unidade externamente, desse local o pesquisador observava o término das atividades para paramentar-se e entrar na unidade. Momento que solicitava a disponibilização das luvas.

Foi verificado que, a maior parte dos trabalhadores utilizava mais de uma luva em cada mão que variou de duas a quatro. Sendo assim, solicitou-se que ao retirar a luva, o trabalhador depositasse as mesmas em sacos plásticos identificados de acordo com a ordem de retirada. Foi considerada a mais externa como a de "número 1" e assim, sucessivamente.

Os sacos de coleta das luvas também foram identificados como direito e esquerdo correspondente à mão de utilização das luvas e tempo de utilização de cada luva, considerando a possibilidade de troca das mais externas.

O índice de perfuração foi avaliado por inspeção visual e para facilitar a visualização dos pontos de perfuração foi utilizada a solução de azul de metileno na concentração de 1,0 ml em 1000 ml de água. Os volumes para o preenchimento das luvas foram estabelecidos após testagem prévia dos diferentes tamanhos de luvas, considerando como limite dois centímetros abaixo da abertura da luva.

Foram contabilizados como perfurações todos os pontos onde houve o vazamento de água após aplicação de leve compressão, primeiramente da palma e posteriormente os dedos um a um. Foi adotado esse procedimento considerando o estudo realizado por MACHADO et al (2008) avaliou a eficácia dos testes empregados na detecção de perfurações em luvas cirúrgicas, revelando que o teste de inspeção visual pelo vazamento de água após compressão foi o que detectou maior número de perfurações. As luvas coletadas eram analisadas no expurgo do CME após o turno de trabalho.

Procedimento para avaliação das luvas

As luvas de procedimento/cirúrgicas foram identificadas de acordo com o tempo e ordem de utilização, lote e tamanho.

Após o término do processo de limpeza foram realizadas as etapas seguintes para as luvas do grupo A, no expurgo do Centro de Material e Esterilização:

- Paramentação adequada do pesquisador para o acesso á área de expurgo (capote, avental impermeável, máscara e óculos, sapato fechado e luvas grossas de borracha);

- Coleta das luvas em sacos para resíduos infectantes, identificados de acordo com a ordem de utilização, o tempo de utilização e a mão em que foi utilizada (direita ou esquerda);

- Pré-enxágue das luvas em água corrente;

- Diluição de azul de metileno na concentração de 1,0 ml em 1000 ml de água;

- Preenchimento das luvas com o volume respectivo ao tamanho.

- Aplicação de leve compressão da palma e posteriormente dos dedos um a um.

- Preenchimento do roteiro de coleta que contemplava os itens: tipo da luva (cirúrgica ou procedimento), lote, data, hora de início e término da utilização da luva e figura ilustrativa das mãos para marcação dos pontos de perfuração.

- Esvaziamento das luvas e descarte recipiente para resíduo infectante (saco branco leitoso com o símbolo de infectante).

As luvas dos grupos B e C foram submetidas aos mesmos procedimentos descritos acima, sendo as cirúrgicas e de procedimento descartadas em recipientes para lixo comum. Para a avaliação das luvas nitrílicas foi considerado o tempo de uso pelo aluno nos respectivos dias de atividade prática. Todos os dias durante o período de estudo em que houve atividade prática as luvas foram avaliadas. As luvas eram solicitadas aos alunos e após a avaliação aquelas que estavam integras eram lavadas e armazenas para próximo uso e as perfuradas eram substituídas por novos pares da mesma marca e tamanho.

Os dados foram processados no programa SPSS – *Statistical Package for the Social Sciencies,* versão 19.0. Para comparação entre os dois grupos foi utilizado o teste X^2 e os valores $p > 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

Durante o período de realização do estudo observamos que todos os trabalhadores utilizavam luvas de procedimento/cirúrgicas para o processo de limpeza manual dos artigos. As luvas avaliadas foram utilizadas por diferentes trabalhadores que atuavam no CME que em 75 oportunidades disponibilizaram suas luvas para análise, sendo que um mesmo trabalhador disponibilizou suas luvas mais de uma vez. A figura 1 mostra detalhes da obtenção das luvas.

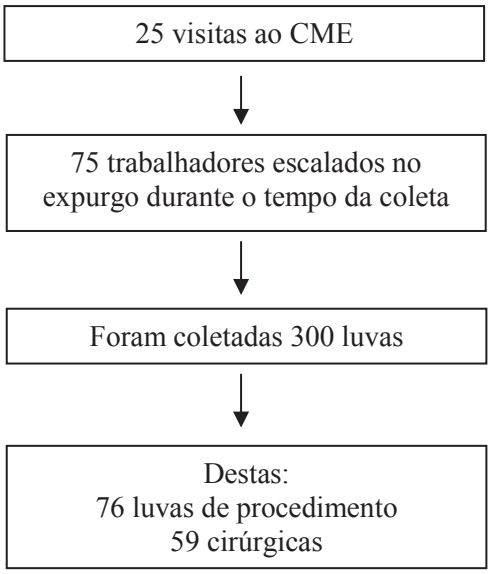


Figura 1 – Detalhamento do modo de obtenção de luvas de procedimentos/ cirúrgicas utilizadas por trabalhadores da unidade de expurgo em um Centro de Material e Esterilização e analisadas quanto ao índice de perfuração. Goiânia – GO, 2012

Foram avaliadas 300 luvas do grupo A, dessas 135 (45,0%) estavam perfuradas. Entre as luvas do grupo B (100 luvas de procedimento e 100 luvas cirúrgicas da mesma marca e tamanho das luvas do grupo A), não foram encontradas perfurações.

Com relação às luvas do grupo C, das seis luvas novas colocadas em uso no início das atividades práticas dos alunos, três permaneceram íntegras até o último dia do último grupo de prática, totalizando 288 horas de uso (17.280 min). As demais apresentaram perfurações e foram substituídas, sendo que a primeira perfuração ocorreu após 6 (2,08%) horas de uso. O total de luvas avaliadas foi de 12, pois houve caso de perfuração em luva já substituída.

A tabela 1 mostra os índices de perfuração das luvas de acordo com o tipo.

Tabela 1. Frequência das luvas de procedimento/cirúrgica (n=300) perfuradas durante o processo de limpeza manual de artigos no expurgo de um Centro de Material e Esterilização de um Hospital de ensino. Goiânia – GO, 2012

Tipo de Luva	**Índice de Perfuração**							
	Sim		**Não**		**Total**		**X²**	***p***
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**		
Procedimento	76	44,2	96	55,8	172	42,5	0,108	0,743
Cirúrgica	59	46,1	69	53,9	128	57,5	0,108	0,743
Total	135	45,0	165	55,0	300	100,0	0,108	0,743

Entre as luvas avaliadas no grupo A, 172 (57,3%) eram de procedimento e 128 (42,9%) cirúrgicas e não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Do total de luvas perfuradas (136 /45,2%), o maior percentual de perfuração foi identificado nas luvas utilizadas na mão esquerda comparado à direita, que apresentaram respectivamente, 70 (51,5%) e 66 (48,5%) e x^2 0,310 e p 0,577, não tendo relevância estatística.

Não foram encontrados perfurações na região do dorso da luva, todas foram localizadas na face interna das mãos. Os locais com os maiores índices de perfuração foram polegar 62 (42,5%), palma 49 (32,6%) e dedo indicador com 48 (32,0%), conforme demonstra a Tabela 2.

Tabela 2 – Caracterização das luvas de procedimento/cirúrgicas perfuradas (N=135) durante o procedimento de limpeza manual de artigos realizada por trabalhadores da área de expurgo de um Centro de Material e Esterilização. Goiânia - GO, 2012

Locais de perfuração em luvas cirúrgicas/procedimento	Direita		Esquerda		Total	
	n	%	n	%	n	%
Face posterior						
Polegar	24	15,8	38	25,7	62	42,5
Indicador	21	13,8	27	18,2	48	32,0
Médio	16	10,5	17	11,5	33	28,5
Anelar	16	10,5	12	8,1	28	18,6
Dedo mínimo	7	4,6	6	4,1	13	8,7
Face anterior	0	0	0	0	0	0
Palma da mão	25	16,4	24	16,2	49	32,6
Punho	3	2,0	4	2,7	7	4,7

Do total de luvas analisadas do grupo A, verificou-se que em 17 (22,6%) oportunidades os trabalhadores usavam pares de luvas simples e 58 (77,4%) usavam luvas sobrepostas. Nas oportunidades em que os trabalhadores utilizavam luvas simples, em 13 (76,4%) as luvas estavam perfuradas.

Nas oportunidades em que os trabalhadores utilizavam luvas sobrepostas, em 12 (20,6%) observou-se perfurações apenas nas luvas externas e em 34 (58,6%) nas luvas externas e internas. Em dois (3,4%) casos, a luva externa estava íntegra e as luvas subsequentes (internas) perfuradas.

A tabela 4 distribui as perfurações encontradas conforme o tempo de uso das luvas, sendo que o menor tempo de duração foi de 60min e o maior de mais de 181min. Houve

relevância estatística entre o número de perfurações e o tempo de utilização das luvas ($p < 0,05$), demonstrando que, quanto maior o tempo de uso, maior o número de perfurações.

Tabela 4. Distribuição da ocorrência de perfuração (N=135) conforme o tempo de utilização da luva de procedimento/cirúrgica utilizadas por trabalhadores do expurgo após a limpeza manual de artigos. Goiânia - GO, 2012

Tempo de utilização das luvas	Luvas perfuradas				X^2	*p*
	Sim		Não			
	N	%	N	%		
Até 60min	31	23,0	50	30,3	2,030	0,154
61 a 120min	38	28,1	62	37,6	2,970	0,085
121 a 180min	48	35,6	37	22,4	6,305	**0,012**
Mais de 181min	18	13,3	16	9,7	0,977	0,323
TOTAL	135	45,0	165	55,0	8,538	**0,031**

5. DISCUSSÃO

Os trabalhadores da área de CME, local do estudo, utilizavam luvas de procedimento e/ou cirúrgica para a lavagem manual dos artigos, sendo comum a sobreposição das luvas cirúrgicas sobre as de procedimento, entretanto quando comparados o índice de perfuração não observamos diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), portanto para a lavagem dos artigos manualmente, ambas não oferecem segurança ao trabalhador e são contraindicadas para a atividade (BRASIL, 2012; SOBECC, 2013). Vale destacar que os EPI são recomendados de acordo com o risco de exposição envolvido (BRASIL, 2005) e para limpeza manual são indicadas luvas nitrílicas ou butílicas, que conferem maior proteção ao trabalhador (SOBECC, 2013).

A SOBECC (2013) recomenda ainda que a indicação de limpeza manual deve se restringir apenas a materiais delicados que não suportam o uso de métodos automatizados, uma vez que os riscos ao trabalhador são potencializados quando a limpeza é realizada manualmente. Além disso, a limpeza automatizada possibilita a reprodutividade do processo, controle dos parâmetros e minimiza os riscos ocupacionais.

O estudo demonstrou que do total de 300 luvas analisadas, 45,0% estavam perfuradas. Não foram encontrados na literatura estudos semelhantes, porém estudos realizados com luvas estéreis durante procedimentos cirúrgicos demonstraram índices menores e variáveis de

perfuração de 11,9% a 16,3% (SOLDÁ et al, 2009; MURTA et al, 2000; SERRATINE et al, 2007)

No grupo B, constituído de luvas novas, não constatamos perfurações, corroborando com um estudo realizado por SERRATINE et al, (2007) que não identificou perfuração em 40 pares de luvas novas de um grupo controle. Em contrapartida, outros estudos demonstraram haver perfurações (1,0% e 1,7%) decorrentes do processo de fabricação de luvas, respectivamente (LOPES et al, 2009; MURTA et al, 2000).

Avaliações de luvas em procedimentos cirúrgicos evidenciaram maior incidência de perfuração na mão esquerda (MURTA, et al, 2000; SERRATINE, 2007) o que coincide com os achados desse estudo e que corresponde à mão que o trabalhador segura o artigo para a limpeza manual, e os locais de perfuração mais frequentes contribuem para essa análise, polegar (42,5%), palma (32,6%) e indicador (32,0%).

Ao analisar as perfurações conforme o tempo de utilização das luvas verificou-se que houve diferença significativa, quanto maior o tempo de uso maior o índice de perfuração ($p < 0,05$). Resultado semelhante foi observado em outros estudos com luvas cirúrgicas que constataram que o tempo de utilização interfere com a manutenção da integridade das luvas de látex, sendo que o número de perfurações é significativamente maior após duas horas de uso (MISTELI et al, 2009; LOPES, 2009).

Quanto à utilização de luvas múltiplas observada nesse estudo foi interessante observar que o maior índice perfuração ocorreu concomitantemente nas luvas internas e externas. Não encontramos estudos semelhantes ao nosso, mas existem estudos que demonstram a eficácia da utilização de duas luvas em diminuir o risco de contato com sangue e secreções em procedimentos cirúrgicos, pois as perfurações costumam ocorrer com maior frequência apenas na luva externa (LARS et al, 2000; MISTELI et al, 2009). Thomas et al (2001) estudando a frequência de perfurações em 66 procedimentos cirúrgicos, concluiu que em 82% dos casos quando a luva exterior é perfurada, a luva interior protegerá a mão do profissional.

Outro estudo realizado por Na'aya et al (2009) em que foram analisados 1.120 luvas, dos quais 240 pares eram conjuntos duplos e 880 simples, concluiu que apenas 2,3% tinham perfurações em ambas as luvas externas e internas do grupo de luvas duplas. Por conseguinte, houve um risco significativamente maior para a exposição de pele de sangue nos conjuntos individuais de luvas ($p < 0,01$).

Dessa forma, para a limpeza manual de artigos observou-se nesse estudo, que a sobreposição das não contribuiu para redução dos índices de perfuração das internas, pois na maioria das vezes, as duas luvas possuíam perfurações configurando em riscos ao trabalhador.

É integrante observar as oportunidades (3,4%), nas quais as luvas internas estavam perfuradas enquanto que as externas estavam integras. Fato que leva à suspeição de que diante da constatação da ocorrência de perfuração, o trabalhador retirava apenas as luvas externas e procedia nova sobreposição. O estudo não permite avaliar o risco potencial envolvido que dependerá de cada situação, mas existe a possibilidade de haver retenção de matéria orgânica nessa condição observada.

Em todas as 25 vezes que foi realizada a coleta os trabalhadores utilizavam luvas de procedimento/ cirúrgicas evidenciando nessas oportunidades a não adesão às luvas grossas recomendas para a atividade (SOBECC, 2013). Portanto, o estudo reforça que embora as luvas cirúrgicas ajustem melhor às mãos e confiram maior destreza são inapropriadas para a realização do processo manual de limpeza dos artigos, (TIPPLE, 2007).

A limpeza é a etapa fundamental do processamento de artigos, mas apesar de sua relevância essa atividade é considerada de menor importância, sem necessidade de treinamento e supervisão. Essa crença favorece a ocorrência de falhas no processo que acaba sendo delegado a pessoas despreparadas, desmotivadas e desvalorizadas (UCHIKAWA, 2011). Para Rapparine e Reinhardt (2010) a baixa adesão a alguns EPI se deve ao fato de que os trabalhadores têm dificuldade em alterar práticas antigas que já se tornaram hábitos e acreditam que o risco de ser vítima de acidente envolvendo material biológico é inexistente ou mínimo.

As luvas nitrílicas grossas são as recomendadas (BRASIL, 2005; SOBECC, 2013), para limpeza manual de artigos. De fato observou-se que três luvas foram usadas subsequentemente por 288horas o que corresponde 17.280 e poderia permanecer em uso não o fim do período acadêmico. Entretanto, o estudo mostrou que as luvas nitrílicas também são passíveis de perfurações durante as atividades desenvolvidas na etapa de limpeza manual de artigos. E, vale ressaltar que as perfurações ocorridas nessas luvas não foram percebidas, elas já haviam sido processadas para uso subsequente quando foram submetidas ao teste de vasamento, o que pode levar a uma falsa sensação de segurança.

Nesse sentido, no nosso ponto de vista, urge a necessidade de substituição da limpeza manual por métodos automatizados, que além de uma lista de vantagens para a segurança do processamento e, portanto dos usuários, reduz o risco ao trabalhador (SOBECC, 2013). E, por

conseguinte faz valer um dever ético e moral dos serviços de saúde de preservar a saúde dos seus trabalhadores.

6. CONCLUSÃO

O estudo analisou 300 luvas procedimento/ cirúrgicas utilizadas para limpeza manual de artigos em um CME e demonstrou que, dessas, 135 (45,0%) estavam perfuradas. Não foram encontradas perfurações no grupo controle (B) e as luvas nitrílicas (grupo C) apresentaram 4 perfurações de um total de utilização de 288 horas.

Os locais com os maiores índices de perfuração polegar 62 (42,5%), palma 49 (32,6%) e dedo indicador com 48 (32,0%). O tempo elevado de utilização das luvas aumentou a probabilidade de perfurações.

O estudo reforça que as luvas cirúrgicas/procedimento são inadequadas para o processo de limpeza manual de artigos, constituindo uma barreira ineficaz na segurança dos trabalhadores da área de limpeza em CME. A sobreposição de luvas pode incorrer numa falsa noção de segurança pois foram identificadas situações nas quais o trabalhador utilizava dois, três e quatro pares de luvas e todas estavam perfuradas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O elevado índice de perfuração das luvas utilizadas por profissionais na área de expurgo de um CME é preocupante, pois os trabalhadores de CME estão expostos a secreções orgânicas, especialmente uma alta carga de sangue, ao lavar e manusear artigos cirúrgicos. Sabe-se que qualquer quantidade de contato com sangue pode ser suficiente para a transmissão de patógenos, desde que ocorra o rompimento da barreira cutânea. E, embora não tenha sido avaliado nesse estudo, seus resultados permitem inferir essa possibilidade.

Compreende-se que os estabelecimentos de saúde têm responsabilidade de gerir o risco biológico dos seus trabalhadores e nessa direção, frente aos achados desse estudo, devem empreender esforços para a substituição do método de limpeza manual pelo automatizado.

Existe hoje no Brasil uma rigorosa legislação que exige que os perfurocortantes sejam substituídos por equipamentos com dispositivos de segurança. O que é considerado um avanço, na medida em que divide com o “empregador” a responsabilidade com o acidente

com material biológico, cuja culpa sempre foi atribuída ao trabalhador. Nesse sentido e frente aos achados desse estudo, cabe aqui um questionamento; não teria a mesma finalidade uma lavadora automática? A substituição da limpeza manual por métodos automatizados não deveria ser uma exigência para todos os serviços de saúde? Certamente teria um impacto nos índices de acidentes em CME, mas os benefícios extrapolam em muito esse aspecto e poderíamos citar outros de ordem individual como a redução da carga de trabalho na unidade, a qualidade do trabalho atrelada à questão da salubridade; de ordem econômica como o tempo gasto e o desperdício de insumos na limpeza manual. E, outro aspecto de importância fundamental, a qualidade da limpeza por métodos automatizados que está diretamente relacionada à qualidade da esterilização e, portanto à segurança dos usuários.

7. REFERÊNCIAS

1. Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar – APECIH. **Precauções e Isolamento.** São Paulo; 2004.

2. BRASIL. Agência de Vigilância Sanitária. RDC nº 15, de 15 de março de 2012. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências, 2012.

3. BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para Atendimento e Acompanhamento de Exposiçao Ocupacional a Material Biológico : HIV e Hepatites B e C**, Brasília, 2010, 57 p.

4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Exposição a materiais biológicos,** Brasília, 2006, 76 p.

5. BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 485, de 11 de Novembro de 2005. NR 32 - Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 nov. 2005. Disponível em: <http://www.mte.gov.br/legislaçao/normas_regulamentadoras/nr_32.pdf>. Acesso em: 02 de agosto de 2013.

6. CANALLI, R.T.C; MORIYA, T.M; HAYASHIDA, M. Acidentes com Material biológico entre Estudantes de Enfermagem. **Rev. enferm. UERJ,** Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 254-69, 2010.

7. CRUZ, E.D.A. Comportamento Preventivo do Risco Ocupacional Biológico em Centro de Material e Esterilização. **Ciênc. Biol. Saúde,** v. 11, n. 4, p. 5-8, 2009.

8. GRAZIANO, K. U.; CASTRO, M. E. S.; MOURA, M. L. P. A. A importância do procedimento de limpeza nos processos de desinfecção e esterilização de artigos. **Rev. SOBBEC,** v. 7, n. 3, p. 9-23, 2002.

9. LARS, P.S.N; GOTTRUP, F. Incidence of glove perforations in gastrointestinal surgery and the protective effect of double gloves: a prospective, randomised controlled study. **European Journal of Surgery,** v. 166, n. 4, p. 293-295, 2000.

10. LOPES, N et al. Análise da permeabilidade das luvas de látex para procedimento mais utilizadas por alunos da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. **R. Ci. méd. biol.,** Salvador, v.8, n.2, p. 206-212, mai./ago. 2009.

11. MACHADO, E.; Avaliação dos testes empregados para detecção de perfurações em luvas cirúrgicas. **Arquivos Catarinenses de Medicina,** v. 37, n. 3, 2008.

12. MISTELI, H, et al. Surgical Glove Perforation and the Risck of Surgical Site Infection. **Arch Surg,** v. 144, n. 6, p. 553-558, 2009.

13. MONTEIRO, C.M; BENATTI, M.C.C; RODRIGUES, R.C.M. . Acidente do trabalho e qualidade de vida relacionada à sáude: um estudo em três hospitais. **Rev. Latino-Am. Enfermagem,** Ribeirão Preto, v. 17, n. 1, 2009 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-11692009000100016&script=sci_arttext&tlng=pt

14. MURTA, E.F.C.; SILVA, C.S.; FERREIRA, N.A.F.D.; Perfuração de Luvas durante Cirurgias Ginecológicas. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet**. v.22, n. 4, 2000.

15. NA'AYA H.U; MADZIGA, A.G; ENI, U.E. Prospective randomized assessment of single versus double-gloving for general surgical procedures. Niger J Med, v. 18, n. 1, p.73-4, 2009.

16. PINTO, M.B; VILAAS-BOAS, V.A; FREITAS, M.I.P. Validação do processo de limpeza de artigos odonto-médico-hospitalares: uma revisão integrativa. **Rev. SOBECC,** n. 18, n. 1, p. 64-72, 2013.

17. RAPPARINI, C.; REINHARDT, E. L. Manual de implementação: programa de prevenção de acidentes com materiais perfurocortantes em serviços de saúde. São Paulo: Fundacentro, 2010. Disponível em: <www.riscobiologico.org>; acesso em: 21 de julho de 2012. 161p.

18. SARQUIS, L.M.M; FELLI, V.E.A. Recomendações em saúde aos trabalhadores expostos a fluidos biológicos. **REME,** v. 12, n. 3, p. 381-9, 2008.

19. SERRATINE, A.C.P; PACHECO, E.; MIERO, M.; Avaliação da Integridade das luvas Cirúrgicas após a utilização em cirurgias odontológicas. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 36, n. 1, 2007.

20. Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização. **Práticas Recomendadas,** SOBECC, 6ª Ed, São Paulo, 2013.

21. SOLDA, S.C, et al; Perfurações não detectadas de luvas em procedimentos de urgência. **Rev Assoc Med Bras,** v. 55, n. 5, p. 597-600, 2009.

22. TARANTOLA, A.; ABITEBOUL, D.; RACHLINE, ANNE. Infection risks following accidental exposure to blood or body fluids in health care workers: A review of pathogens transmitted in published cases. **Am J Infect Control,** v. 34, n. 6, p. 367-75, 2006.

23. THOMAS, S; AGARWAL, M; MEHTA, G. Intraoperative glove perforation—single versus double gloving in protection against skin contamination. **Postgrad Med J**, v. 77, p. 458-460, 2001.

24. TIPPLE, A. F. V. et al. O Ensino do Controle de Infecção: um ensaio teórico-prático. **Rev. Latino Am. Enf.,** v. 11, n. 2, p. 245-250, 2003.

25. TIPPLE, A.F.V, et al; Acidente com material biológico entre trabalhadores da área de expurgo em centros de material esterilização. **Acta Scientiarum,** v. 26, n. 2, p. 271-278, 2004.

26. TIPPLE, A.F.V, et al; Equipamentos de proteção em centros de material e esterilização: disponibilidade, uso e fatores intervenientes à adesão. **Cienc Cuid Saude,** vol. 6, n. 4, p. 441-448, 2007.

27. TIPPLE, A.F.V, et al; O trabalhador sem formação em enfermagem atuando em centro de material e esterilização: desafio para o enfermeiro. **Rev Esc Enferm USP**, v. 29, n. 2, p. 173-180, 2005.

28. UCHIKAWA, K; SILVA, A; PSALTIKIDIS, E.M. Enfermagem Em Centro de Material e Esterilização. 1ª Edição. São Paulo: Manole, 2011. 440p.

Leitura e interpretação de textos escritos no Ensino Médio: análise das habilidades e competências de leitura requeridas pela avaliação do ENEM em material didático do *Sistema Positivo de Ensino*[1]

Kamila Lauany Lucas Lima (Bolsista) – Universidade Federal de Goiás/Campus Jataí
kamilalauany@hotmail.com

Sílvio Ribeiro da Silva (Orientador) – Universidade Federal de Goiás/Campus Jataí
shivonda@gmail.com

Resumo: O presente trabalho, feito sob a ótica da pesquisa interpretativista, teve como objetivo analisar o ensino da leitura e da interpretação de textos escritos no apostilado do Sistema Positivo de Ensino (Ensino Médio – EM), observando se ele mobiliza os saberes e competências requeridos pela matriz de referência da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias da avaliação do ENEM. A motivação para a realização do estudo está ligada ao baixo resultado da unidade escolar usuária do material mencionado na avaliação do ENEM em 2011. Estaria esse resultado desfavorável associado ao fato de que o material didático em uso não mobiliza de forma eficiente os saberes e competências mensurados pela avaliação? Os resultados indicam a necessidade de mudanças na política de elaboração de material didático do sistemas em análise, tendo em vista que esse material deve oportunizar ao aluno a vivência de situações em que o conhecimento esteja relacionado com a realidade, objetivando a construção de competências e habilidades, assim como prevê o exame do ENEM.
Palavras-chave: Leitura e Interpretação; Material Didático; Exame Nacional do Ensino Médio

1. Introdução

Neste relatório, apresentamos os resultados de uma pesquisa sobre as atividades de leitura e interpretação de textos escritos trazidas pelo apostilado do *Sistema Positivo de Ensino* (Ensino Médio – EM)[2].

Os objetivos do estudo foram: (a) analisar se os saberes mobilizados pelas atividades de leitura e interpretação de textos escritos propostas pelo apostilado do *Sistema Positivo de Ensino* (EM) priorizam as competências e habilidades de área exigidas pela avaliação da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias do ENEM; (b) verificar se o insucesso dos alunos do Instituto Samuel Graham na prova da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias pode ter sido causado pelas propostas de leitura e interpretação de textos escritos do *Sistema Positivo de Ensino* não trabalharem o desenvolvimento das competências e habilidades requeridas pelo exame do ENEM.

As avaliações de larga escala, como o ENEM, levam em conta o uso de competências específicas que devem ser usadas na leitura ou na produção escrita[3]. No ENEM,

[1] Revisado pelo orientador.
[2] A escolha se deu, dentre outros fatores, por esse ser o sistema de apostilados usado pelo maior número de alunos da cidade de Jataí (GO). Também pelo fato de o *Sistema Positivo de Ensino* ter um grande alcance, liderando o segmento privado de Educação Básica no país. Em parte dos 10 milhões de alunos que o Grupo Positivo atende em sala de aula, estão os 535 mil alunos do Brasil, Japão e EUA, estudantes de 2.400 escolas que adotam o material elaborado pelo sistema. FONTE: Grupo Positivo Educacional (www.positivo.com.br).

dentre outras habilidades, espera-se que o aluno, na avaliação da leitura, seja capaz de inferir em um texto quais são os objetivos de seu produtor e quem é seu público-alvo, pela análise dos procedimentos argumentativos utilizados.

Em se tratando dos resultados dessas avaliações, o que foi relevante para a realização deste estudo é o resultado do ENEM, referente às escolas privadas da cidade de Jataí (GO), onde, das 08 (oito) unidades escolares, cujos alunos fizeram a avaliação em 2011, 07 (sete) tiveram um índice de participação dos alunos igual ou superior a 75%[4], sendo o Instituto Samuel Graham (usuário de apostilado do *Sistema Positivo de Ensino*) o que obteve a menor média em Linguagens, Códigos e suas Tecnologias[5]: 545,52[6].

2. Metodologia de geração dos dados

Para o alcance dos objetivos elencados, realizamos um estudo que se baseia nos procedimentos metodológicos da Linguística Aplicada (LA). Moita Lopes (2005) diz que a pesquisa desenvolvida pela LA é aplicada, ocorre no contexto de aplicação, isto é, no contexto de ação, e não se faz aplicação em LA, ou seja, a LA não consiste em simplesmente aplicar teorias desenvolvidas pela Linguística. Rojo (2006, p. 258) reitera a afirmação de Moita Lopes, dizendo que em LA "não se busca aplicar uma teoria a um dado contexto para testá-la".

Este estudo usou como fonte de referência para a análise dos dados a matriz de competências e habilidades da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias, do componente curricular Língua Portuguesa e Literatura, do exame do ENEM, referente ao ano de 2011[7]. Essa matriz, elaborada pelo INEP com a colaboração de especialistas, foi criada com o intuito de operacionalizar o exame. Segundo o Ministério da Educação, as competências avaliadas são voltadas ao aluno cuja fase de desenvolvimento cognitivo

[3] A avaliação por competência não prioriza uma nota, mas traz informações necessárias sobre o processo de ensino/aprendizagem para que o aprendiz possa ampliar seus conhecimentos (LUCKESI, 1997).
[4] FONTE: Portal INEP: http://sistemasenem2.inep.gov.br/enemMediasEscola/
[5] Convém esclarecer que estamos interessados apenas pela pontuação referente à prova da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias, já que a prova de Redação avalia outras competências e estamos focando aquelas que dizem respeito à leitura especificamente.
[6] Segundo informe do INEP, a maior pontuação na avaliação de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias foi de 810,1. Com isso, a nota do Instituto Samuel Graham equivale a 67% do total da maior pontuação. Convém não se esquecer de que não é apenas o desempenho na prova que fornece dados para a elaboração dos resultados. São avaliados, também, os dados do Questionário Socioeconômico, respondido pelo candidato no momento da inscrição. Através dele, o participante fornece informações importantes, como sexo, idade, raça/cor, etnia, nível de escolaridade dos pais, etc.
[7] Não foram todas as competências da área de Linguagem, Códigos e suas Tecnologias que interessaram a este estudo. Desconsideramos aquelas mais voltadas a aspectos da Arte, ou a Práticas Corporais, por exemplo.

corresponde ao término da escolaridade básica, associando-se aos conteúdos curriculares do Ensino Fundamental e Médio.

Fizemos um levantamento dos gêneros discursivos/textuais que são apresentados ao aluno para leitura e interpretação de texto escrito, intencionando observar se existe diversidade deles. Isso porque é de conhecimento coletivo que o trabalho com a diversidade de gêneros traz inúmeros benefícios ao aluno num programa de ensino de Língua.

As competências e habilidades serviram como categorias de análise quantitativa e qualitativa. Do ponto de vista quantitativo, apresentamos dados percentuais, intencionando mostrar o montante de atividades, em relação a um valor total, que se encaixam em cada uma das competências e habilidades. Em se tratando da análise qualitativa, apresentamos exemplos de questões, indicando que competências e que habilidades estão sendo trabalhadas, apontando, com base nos teóricos da área, as contribuições que essas atividades podem trazer para que o aluno desenvolva seu(s) letramento(s).

Para a análise dos dados específicos (as atividades de leitura), optamos por apresentar o quantitativo de atividades por seção e habilidades inicialmente para, depois, apresentarmos exemplos ilustrativos com comentários analíticos. Por questão de espaço, apresentaremos apenas um exemplo para cada competência, levando em conta que todas as habilidades associadas a cada uma devem mobilizar aspectos semelhantes. Acreditamos que mesmo com um único exemplo para cada competência haverá condições de visualização de como o apostilado mobiliza as competências e habilidades do ENEM, tendo em vista que o conjunto de atividades apresentado pelo material didático deve seguir sempre o mesmo estilo didático.

3. A leitura – organizadora da aprendizagem e disseminadora de letramento(s)

Antes de direcionar o olhar especificamente para os dados, queremos apresentar uma breve discussão sobre a importância da leitura na escola para o desenvolvimento do(s) letramento(s) do aluno.

A leitura é uma atividade de extrema importância na vida de um aluno. Ela é tida como ponto de partida para a aquisição de conhecimento e para a ampla socialização do ser. Quando a escola não ensina o aluno a ler e a interpretar o que leu, ela deixa de cumprir sua função enquanto instância de desenvolvimento de letramento(s), porque acaba formando autômatos ao invés de pessoas capazes de usar a língua escrita nas diferentes situações em que se requer o seu uso.

Uma das formas de fazer com que o aluno seja capaz de se manifestar dentro do sistema é através da prática regular da leitura. Segundo Moita Lopes (2005), a leitura é um modo específico de interação entre participantes discursivos, envolvidos na construção social do significado: a leitura é uma prática social, é uma forma de agir no mundo através da linguagem. Sendo uma prática social, é ela que vai permitir ao aluno a interação com os outros, participando e discutindo todos os acontecimentos que estão a sua volta.

Em se tratando de ensino formal, o dever da escola é fazer com que o aluno aprenda o que não sabe. O que precisa aprender é a ler e interpretar a palavra, mas não a palavra isolada. A importância no ensino adequado da leitura e da interpretação da palavra reside no fato de ela estar, segundo Bakhtin/Volochínov ([1929]1981, p. 41), penetrada "literalmente em todas as relações entre os indivíduos, nas relações de colaboração, nas de base ideológica, nos encontros fortuitos da vida cotidiana, nas relações de caráter político, etc".

A escola, a mais importante agência de letramento (KLEIMAN, 1995), deve, então, ensinar ao aluno a forma adequada de usar a palavra, uma vez que ela pode transformá-lo, dar uma nova dimensão à sua consciência, o que acaba por possibilitar-lhe uma reflexão sobre a sua realidade e a maneira de agir sobre ela. Na escola, o aluno deverá saber como recorrer a diferentes materiais impressos para atender a diferentes necessidades.

As práticas de leitura escolar, papel central da escola, deveriam ser preocupação permanente dos professores de todas as disciplinas. No entanto, a responsabilidade pela prática de leitura costuma ser dada ao professor de Língua Portuguesa[8]. Esse pensamento segue uma tradição cristalizada de práticas didáticas que resistem a modificações e que trazem sérios obstáculos ao bom andamento do processo de didatização e de ensino. De acordo com Rösing (2001), a formação de leitores não é tarefa exclusiva dos professores de Língua Portuguesa, mas compromisso de todos educadores que forem leitores, caracterizando, assim, uma dinâmica *multi*disciplinar sustentada, necessariamente, por princípios teóricos consistentes.

A prioridade a ser dada ao eixo de ensino de leitura está, também, "na centralidade que ele ocupa nos sistemas avaliativos e nos estudos linguísticos atuais, bem como na contribuição que pode oferecer à qualificação do ensino" (MARCUSCHI, B., 2006, p. 60).

[8] Essa ideia faz com que o desenvolvimento de capacidades de leitura e de letramentos no aluno siga uma perspectiva isolada quando, na verdade, deveria ocorrer um trabalho conjunto com todos os professores, de qualquer área, buscando o mesmo objetivo: a formação de um leitor proficiente, portador de variadas capacidades letradas. Ocorrendo essa relação conjunta, seria favorecido um ambiente interdependente e interligado; um ambiente *complexo* nas palavras de Morin (2007), quem afirma haver complexidade quando elementos diferentes são constitutivos do todo e há um tecido interdependente, interativo e inter-retroativo entre o objeto de conhecimento e seu contexto, as partes e o todo, o todo e as partes, as partes entre si. O trabalho com a leitura deveria seguir esse princípio *complexo*, sendo iniciado na formação do professor.

4. A arquitetônica do material didático em observação

O *Sistema Positivo de Ensino* (EM) é formado por um *Livro Integrado*, composto por 4 volumes anuais para cada série. Segundo o próprio sistema, o *Livro Integrado* é o eixo articulador da sua proposta de organização curricular e mediação pedagógica. Constitui-se como um livro didático que traz o diferencial de organizar uma proposta de ensino para os saberes escolares das diversas áreas de conhecimento em um volume único, por série e bimestre. Está planejado para atender necessidades pedagógicas da escola. Por isso, propõe-se a organizar os programas, considerando as necessidades de cada série, contemplando diferentes níveis de profundidade e sistematização, bem como a inter-relação das diversas áreas de conhecimento[9].

Cada volume é organizado por unidades, cujo número varia, sendo 9 na 1ª série, 10 na 2ª e 8 na 3ª. Cada unidade é dividida em seções, nomeadas: *Tecendo Ideias; Entrando na Rede; Nas Malhas do Texto; Comparando; Relacionando; Conhecendo a Teoria; Aplicando a Teoria* e *Leitura e Produção Textual*.

Em se tratando do número total de atividades de leitura e interpretação apresentado nas três séries, em cada uma das seções indicadas anteriormente, tem-se o seguinte[10]: *Entrando na rede*, com 150 atividades; *Nas malhas do texto*, com 147 atividades; *Relacionando*, com 85 atividades; *Comparando*, com 62 atividades; *Tecendo ideias*, com 52 atividades, totalizando 496 atividades nas 3 séries.

5. Os dados – resultados e análises

Iniciamos esta parte tecendo comentários quanto aos gêneros apresentados ao aluno ao longo do material didático nas seções que o mesmo considera como sendo específicas para o trabalho com a leitura e a interpretação de textos escritos. Os proponentes do material assumem (p. 01 – Livro do professor) explorar uma diversidade de gêneros. O trabalho com a diversidade de gêneros traz inúmeros benefícios ao aluno num programa de ensino de língua. Segundo Dolz, Noverraz & Schneuwly ([2001]2004), para que a diversidade das capacidades de linguagem seja desenvolvida com êxito, devem ser trabalhados com o aluno gêneros

[9] Em trabalhos anteriores (SILVA, 2012, 2013), fizemos uma apresentação do aspecto composicional do material didático em observação de maneira mais detida. Aqui fazemos algo menos elaborado, apenas para que o leitor possa ter uma visão genérica do material.
[10] Apresentamos somente as seções indicadas pelo próprio apostilado como sendo aquelas em que aparecem atividades específicas de leitura e interpretação de textos escritos.

pertencentes a agrupamentos diferentes[11], reservando-se espaço e não se negligenciando o ensino-aprendizagem da modalidade oral[12]. Esta escolha também será efetuada em função dos objetivos do programa de cada série e do grau de dificuldade para os alunos.

Em relação à consideração sobre a variedade de gêneros a ser trabalhada com o aluno, o material didático em análise apresenta os seguintes para a leitura e a interpretação por série[13]: 1ª série – *Notícia; Reportagem; Crônica; Conto fantástico; Anúncio publicitário; Artigo de opinião; Crônica; Carta do leitor; Carta ao leitor*. 2ª série – *Resenha; Texto de divulgação científica; Poema; Jingle; Editorial; Charge; Cartum; Diário de viagem; Artigo de opinião.* 3ª série – *Artigo de opinião; Carta argumentativa; Currículo; Artigo científico; Reportagem dissertativa; Texto informativo/dissertativo*.

Os gêneros apresentados ao aluno privilegiam os seguintes aspectos tipológicos, segundo proposta de Dolz & Schneuwly ([1996]2004), em ordem decrescente: argumentar, relatar, expor e narrar[14]. Levando em conta a variedade de gêneros apresentados ao aluno para a leitura e a interpretação, observamos que o sistema *Positivo* faz isso de maneira satisfatória, já que privilegia gêneros que contemplam a maioria absoluta dos aspectos tipológicos. Assim, oferece ao aluno uma boa oportunidade de ampliar seu repertório de capacidades linguísticas a partir do contato com um bom número de gêneros ao longo dos três anos do EM.

Como já mencionado, este estudo usou como fonte de referência para a análise dos dados a matriz de competências e habilidades da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias, do componente curricular Língua Portuguesa e Literatura, do exame do ENEM. As competências e habilidades que interessaram ao estudo foram.

Competências	Habilidades relacionadas
5 - Analisar, interpretar e aplicar recursos expressivos das linguagens, relacionando textos com seus contextos, mediante a natureza, função, organização, estrutura das manifestações, de acordo com as condições de produção e recepção	H15 - Estabelecer relações entre o texto literário e o momento de sua produção, situando aspectos do contexto histórico, social e político H16 - Relacionar informações sobre concepções artísticas e procedimentos de construção do texto literário H17 - Reconhecer a presença de valores sociais e humanos atualizáveis e permanentes no patrimônio literário nacional
6 - Compreender e usar os sistemas simbólicos das diferentes linguagens como meios de organização cognitiva da realidade pela constituição de significados, expressão,	H18 - Identificar os elementos que concorrem para a progressão temática e para a organização e estruturação de textos de diferentes gêneros e tipos H19 - Analisar a função da linguagem predominante nos

[11] Segundo Dolz & Schneuwly ([1996]2004), agrupamento se refere à montagem de sequências didáticas que tragam determinado número de gêneros agrupados de acordo com os aspetos tipológicos e capacidades de linguagens dominantes no gênero. Na proposta dos autores, esses aspectos tipológicos são narrar, relatar, argumentar, expor e descrever ações.
[12] A respeito da consideração dos autores acerca do trabalho com a modalidade oral, cabe comentar que o sistema *Positivo* pouco trabalha com o desenvolvimento das capacidades vinculadas a esse eixo de ensino.
[13] Não foram considerados os gêneros apresentados nas demais seções não específicas de leitura e interpretação.
[14] O aspecto tipológico 'descrever ações' não aparece.

comunicação e informação	textos em situações específicas de interlocução
7- Confrontar opiniões e pontos de vista sobre as diferentes linguagens e suas manifestações específicas	H21 - Reconhecer em textos de diferentes gêneros, recursos verbais e não verbais utilizados com a finalidade de criar e mudar comportamentos e hábitos H22 - Relacionar, em diferentes textos, opiniões, temas, assuntos e recursos linguísticos H23 - Inferir em um texto quais são os objetivos de seu produtor e quem é seu público alvo, pela análise dos procedimentos argumentativos utilizados H24 - Reconhecer no texto estratégias argumentativas empregadas para o convencimento do público, tais como a intimidação, sedução, comoção, chantagem, entre outras
8 - Compreender e usar a língua portuguesa como língua materna, geradora de significação e integradora da organização do mundo e da própria identidade	H25 - Identificar, em textos de diferentes gêneros, as marcas linguísticas que singularizam as variedades linguísticas sociais, regionais e de registro H26 - Relacionar as variedades linguísticas a situações específicas de uso social H27 - Reconhecer os usos da norma padrão da língua portuguesa nas diferentes situações de comunicação

Figura 1: Competências e habilidades da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias em uso

Os dados quantitativos sobre o número de atividades em que são mobilizadas competências e habilidades, por seção, são os seguintes.

Seção	Total de atividades	Total de atividades/ habilidades	Percentual
Nas malhas do texto	147	38	26%
Relacionando	85	22	26%
Comparando	62	16	26%
Entrando na rede	150	34	23%
Tecendo ideias	52	5	10%
Total geral	**496**	**115**	**23%**

Tabela 1: Valores percentuais das habilidades por seção

Os dados anteriormente apresentados apontam um baixo número de ocorrências de atividades que mobilizam as habilidades do ENEM. Esse comentário se torna mais relevante se atentarmos para o fato de que apenas 23% dum total de 496 atividades mobilizam essas habilidades, não chegando nem a 25% do total.

Dirigindo o olhar para a quantidade de atividades que integra cada seção do material ao longo das três séries, notamos que a seção com maior número (Entrando na rede = 150) também não apresenta nem 25% do total de atividades mobilizando as habilidades do ENEM. Se o fato de não trabalhar com essas habilidades realmente justificar um baixo desempenho dos alunos no ENEM, os dados, até aqui, deixam claro porque a unidade escolar usuária do material do *Sistema Positivo* teve a menor nota na prova da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias.

Do ponto de vista da quantidade de ocorrências por habilidade em relação ao montante total de atividades (115), os dados gerados são os seguintes.

Competências	Habilidades	Ocorrências	Percentual
5	H15	2	2%
	H16	0	0%
	H17	0	0%
6	H18	8	7%
	H19	0	0%
7	H21	6	5%
	H22	24	21%
	H23	6	5%
	H24	34	30%
8	H25	15	13%
	H26	12	10%
	H27	8	7%
Total Geral		**115**	**100%**

Tabela 2: Valores percentuais das habilidades

Acerca da competência 5, as habilidades a ela vinculadas querem mensurar se ocorre análise, interpretação e aplicação de recursos expressivos das linguagens, relacionando textos com seus contextos, mediante a natureza, função, organização, estrutura das manifestações, de acordo com as condições de produção e recepção.

Como pode ser visto na tabela 2, as habilidades vinculadas a esta competência ocorreram em baixíssimo número nas atividades do material. A hipótese para isso é que o material apostilado pouco prioriza, nas atividades de leitura e interpretação de texto escrito, aspectos vinculados a abordagens de ordem literária, tendo em vista que as habilidades 15 a 17 estão relacionadas a isso.

A apresentação dessas habilidades indica que o ENEM tem preocupação com o grau de letramento literário dos alunos concluintes do Ensino Médio. Frederico & Osakabe (2004), citados por Marcuschi B. (2006), colocam que a avaliação do ENEM aborda, dentre outras questões, a experiência de leitor literário do aluno, medindo isso a partir de questões verificadoras das suas capacidades de leitura do texto literário. Além disso, as questões pretendem observar como se dá o processo de percepção de aspectos literários mais particulares do texto, sem, contudo, se debruçar em considerações associadas a datas, autores ou escolas literárias.

O prejuízo que a ausência de atividades focadas no letramento literário pode representar ao aluno é evidente, já que o material didático deve propiciar a ele a maior experiência possível em qualidade no que se refere à ampliação de experiências sociais ou culturais, tão presentes no texto literário. Os aspectos a se considerar na leitura do texto literário são muito relevantes para o aprimoramento desse tipo de letramento, especialmente se levarmos em conta o contexto do aluno do Ensino Médio.

Lidar menos com os aspectos da leitura literária e com as competências e habilidades associadas a isso pode formar um aluno menos proficiente no que diz respeito aos letramentos mais próximos dessa esfera. Há de se considerar, também, que o texto literário oferece boas oportunidades para o uso das capacidades leitoras associadas à apreciação e valoração críticas, ficando estas em prejuízo com a ausência de abordagens literárias mais contundentes.

O exemplo ilustrativo para a competência 5 (habilidade 15, a única que apresentou atividades associadas) está no vol. 4 da 1ª série. Aparece na seção **Entrando na rede**, cuja abordagem, segundo os autores do material (p. 03, Livro do professor), está associada a questões de compreensão e desenvolvimento de habilidades de leitura.

O objetivo da unidade é apresentar ao aluno o gênero 'crônica'. Para chegar a esse objetivo, apresenta-se o texto "Tempos Modernos", de Carlos Heitor Cony, originalmente publicado no Jornal Folha de São Paulo, em 2005. O tema central do texto gira em torno da liberdade e do seu controle feito pela sociedade atualmente. Sobre o texto, são apresentadas 8 questões, sendo a última delas ilustrativa para a competência 5/habilidade 15.

H15 - Estabelecer relações entre o texto literário e o momento de sua produção, situando aspectos do contexto histórico, social e político	**Entrando na rede:** 8. Considerando-se a data em que o livro de Orwell foi publicado (1948), é possível afirmar que esse autor também previu como seria a sociedade pós-moderna? Sendo assim, o que podemos concluir a respeito da arte cinematográfica e da literatura em relação à sociedade: elas apenas representam a realidade ou elas podem instaurar, começar, estabelecer ou prever uma nova realidade? Troque ideias e, posteriormente, produza um texto curto, de cerca de 10 linhas, apresentando por escrito suas opiniões. [p. 4]

Figura 2: atividade ilustrativa para a competência 5/habilidade 15

Ao observar a atividade, percebemos uma tentativa de aproximação entre o texto lido e o momento de sua produção, conforme prevê a habilidade 15, por mais que o texto apresentado não seja um exemplar de texto literário canônico. Essa estratégia pode ser importante para fazer com que o aluno estabeleça relações, construindo sentido para o texto a partir disso. As informações apresentadas precisam ser associadas a outras já apreendidas pelo aluno leitor em outros momentos de sua vivência, proporcionando, assim, uma aproximação maior com o texto lido.

Outro indicativo que consideramos positivo está na possibilidade de relação entre as esferas cinematográfica e literária e o que ocorre nelas. Essa relação pode gerar um eficiente olhar acerca da intertextualidade e da interdiscursividade, fazendo com que o aluno produza boas reflexões sobre a construção do que acontece nas duas esferas e na relação que pode ser feita entre elas e a sociedade atual. Lamentável se torna o fato de que a atividade se encerra em apenas 10 linhas que devem ser escritas pelo aluno e, possivelmente, guardadas para si. A

abertura de uma discussão maior poderia gerar inferências, generalizações, comparações, levando a réplicas ativas (BAKHTIN/VOLOCHINOV, ([1929]1981).

A atividade pode fazer com que o aluno dialogue com o texto e, complementar a isso, dialogue com os colegas, já que existe a indicação de que deve haver troca de ideias. Essa troca de ideias entre os alunos pode favorecer a construção do conhecimento, levando em conta que Vygotsky ([1934]2003) dizia que o conhecimento se constrói nas relações interpessoais, em que a linguagem está presente, mediando a interação.

A atividade oportuniza ao aluno fazer uso de seu conhecimento linguístico (decodificador), mas, principalmente, de seu conhecimento enciclopédico, já que ele precisa construir uma conclusão acerca do que foi lido no texto em associação com o cinema, a literatura e a sociedade.

Sobre a competência 6, as habilidades a ela vinculadas querem saber se o aluno é capaz de compreender e usar os sistemas simbólicos das diferentes linguagens como meios de organização cognitiva da realidade pela constituição de significados, expressão, comunicação e informação.

Da mesma forma que ocorreu com a competência 5, esta também apresentou um número muito baixo de ocorrências, sendo que, para a habilidade 19, não houve nenhum caso relacionado às 115 atividades em que houve algum tipo de abordagem dessas habilidades.

O exemplo ilustrativo para a competência 6 (habilidade 18, a única que apresentou atividades ilustrativas) está no vol. 4 da 3ª série. O objetivo da unidade em que está a atividade é apresentar ao aluno o gênero 'artigo de opinião'. A atividade está na seção **Relacionando**, cujo objetivo, segundo os autores do material (p. 03, Livro do professor), é apresentar um novo texto, proporcionando um trabalho complementar ou de ampliação do sentido do texto principal da unidade. É, também, para que os alunos possam estabelecer relações entre diferentes textos, focando, principalmente, as semelhanças entre eles.

O texto cuja atividade ilustra a habilidade 18 é uma notícia, de autoria de Letícia Tancredi, publicada originalmente no site do MEC em 2009. A seu respeito, são apresentadas cinco questões, sendo uma delas específica para a habilidade 18.

H18 - Identificar os elementos que concorrem para a progressão temática e para a organização e estruturação de textos de diferentes gêneros e tipos	**Relacionando:** 1. O texto que você acabou de ler é uma notícia. Nesse gênero, a disposição das informações segue um determinado padrão jornalístico: no primeiro parágrafo, podemos encontrar o lide, ou seja, as informações básicas que levam à divulgação da informação. Encontre essas informações: a) O quê?; b) Quem?; c) Onde?; de) Por quê?; e) Quando? [p. 26].

Figura 3: atividade ilustrativa para a competência 6/habilidade 18

Na atividade, podemos perceber que o que se pretende, dentre outras questões, é mostrar ao aluno aspectos relacionados às condições de produção e recepção do texto. Os PCN (1998) colocam que (p. 58) essas condições são importantes porque atribuem ao texto uma finalidade, levando em conta que indicam a especificidade do gênero, os lugares preferenciais de circulação e o interlocutor. Costa Val (2003) nos diz que as condições de produção de um texto devem considerar, além da escolha do gênero discursivo, aspectos acerca de para que se escreve, para quem se escreve, em que esfera e sobre que suporte deverá circular o texto produzido, fazendo com que ele seja contextualizado, ressaltando seu uso social. Tendo em vista que a questão apresentada leva em conta alguns desses aspectos, torna-se relevante para o aluno.

Ao fugir de uma prática de avaliação de leitura que considera apenas o recorte de partes do texto, tendo apenas o trabalho de reconhecer ou identificar palavras ou expressões, a atividade põe em prática a oportunidade de o aluno construir uma compreensão ativa (BAKHTIN/VOLOCHINOV, ([1929]1981). Ao analisar os elementos que fazem parte do contexto de produção do texto em estudo, o aluno pode perceber a natureza dialógica que o mesmo estabelece com o contexto e com outros textos, recuperando sua situacionalidade social.

Faltou explorar melhor os aspectos inerentes à esfera jornalística, já que são determinantes de como deve ser o formato dos textos que vão ser produzidos na referida. As perguntas que são feitas para que o aluno perceba as informações básicas do texto não terão as mesmas respostas se forem feitas em relação a outro texto, cuja circulação seja outra esfera de atividade humana. Brait & Rojo (2002), citadas por Bunzen (2006, p. 154) nos dizem que "as práticas e atividades (de linguagem) que têm lugar nas diferentes esferas de atividades não são as mesmas – ainda que, às vezes, possam ser parecidas e estejam relacionadas às outras esferas – e não são os mesmos os textos orais e escritos e a linguagem que nelas circulam". As escolhas feitas por um jornal em relação ao tratamento temático, estilístico e composicional a ser dado a uma notícia decorrem da apreciação valorativa do próprio jornal acerca do que está sendo tratado, de quem serão os interlocutores e dos lugares sociais por onde passam e onde ficam esses interlocutores. Nenhuma das questões associadas à notícia levou isso em consideração.

Outra contribuição que a atividade poderia trazer ao aluno era não ficar somente presa ao ato de responder as questões relacionadas ao *lide*. Se o aluno tivesse sido chamado a observar a ordem com que os elementos aparecem na notícia, teria condições de avaliar o que o jornal ou o redator da notícia consideraram como mais relevante para a mesma. Chamar a

atenção para essa ordem poderia fazer com que o aluno não só compreendesse e interpretasse melhor o texto, mas poderia fazer com que ele tivesse um olhar mais dirigido no momento de ler outras notícias em situações fora da escola, identificando os elementos concorrentes para a progressão temática em diferentes veículos de informação oriundos da esfera jornalística.

Se o material didático tivesse apresentado mais de uma notícia, veiculada em jornais diferentes, e solicitado que o aluno observasse o desenvolvimento do *lide*, poderia ter chamado sua atenção, direta ou indiretamente, para o fato de que veículos diferentes variam a forma de organizar e apresentar o tema, levando em conta quem produziu, a quem se destina e em que esfera de atividade humana aquela notícia circulará, dando origem a um jornal mais 'leve' ou mais sensacionalista.

Teria sido produtivo, também, não ficar preso somente ao fato estrutural do *lide*. Tendo a intenção de trabalhar o gênero 'notícia', o material didático deveria ter explorado também o tratamento temático dado à notícia apresentada, bem como aspectos do estilo que foi impresso ao gênero. Observando as demais questões da atividade, notamos que isso não aconteceu.

Focando o que a habilidade 18 avalia, notamos que ela está para identificar elementos que concorrem para a progressão temática do gênero. Sem a exploração do tema, isso fica prejudicado. O que se espera é que tema e forma composicional sejam trabalhados em conjunto, já que a progressão temática está associada à abordagem que é dada ao gênero, não devendo ficar relacionada tão somente à divisão dos textos em partes, como podemos perceber na atividade em questão.

A competência 7 conforme tabela 2, é a que mais apresenta atividades vinculadas a habilidades, sendo a habilidade 24 a que mais apresenta atividades relacionadas (30%) em todo o material. Todas as habilidades associadas à competência 7 dizem respeito a aspectos ligados à argumentação.

Optamos por apresentar a atividade ilustrativa referente à habilidade 21 por ser ela uma das que menos ocorrência apresentou. Como o número de atividades vinculadas a esta habilidade foi pequeno, podemos ter ideia de que tipo de prejuízo os alunos podem ter pelo fato de não haver um conjunto maior de atividades associadas a ela.

A atividade que apresentamos como ilustrativa para a habilidade 21 está no vol. 3 da 1ª série. Aparece na seção **Nas malhas do texto**, cuja abordagem, segundo os autores (p. 03, Livro do professor), está voltada ao estudo da gramática do texto, englobando atividades que têm por objetivo a análise e a sistematização de conhecimentos relativos ao texto, ao gênero, à tipologia e aos recursos discursivos.

O objetivo da unidade é apresentar ao aluno o gênero 'anúncio publicitário'. Para tanto, inicialmente, a unidade traz três anúncios publicitários, seguidos de 5 questões discursivas, voltadas à exploração dos aspectos argumentativos dos textos. Na sequência, aparecem a conceituação e os aspectos estruturais do gênero em estudo para, então, vir uma atividade específica sobre a relação entre imagem e texto verbal.

O texto em estudo na seção anteriormente mencionada é um anúncio do WWF Brasil (organização não governamental brasileira dedicada à conservação da natureza), veiculado originalmente na contracapa da Revista Língua, ano 1, nº 9, de julho de 2006. O referido texto traz um apelo para que as pessoas doem para o ARPA (Programa Áreas Protegidas da Amazônia), no intuito de ajudar a conservar a Amazônia. A atividade de interpretação contém 7 questões, sendo apenas uma delas objetiva. Uma das discursivas vai ao encontro do que explora a habilidade 21.

H21 - Reconhecer em textos de diferentes gêneros, recursos verbais e não verbais utilizados com a finalidade de criar e mudar comportamentos e hábitos	**Nas malhas do texto:** 4. Reúna-se em grupos e analise a organização da campanha do ponto de vista gráfico-visual: imagens, cores, tipos de letra, destaques, etc. reflita, também, sobre a eficácia comunicativa da mensagem, ou seja, se os elementos destacados e analisados produzem o efeito que deveriam produzir em uma campanha publicitária: a sensibilização e o convencimento do público. Depois da discussão, registre por escrito, sob a forma de itens, as qualidades e os eventuais defeitos da campanha. [p. 6]

Figura 4: atividade ilustrativa para a competência 7/habilidade 21

A pertinência da atividade para o desenvolvimento da habilidade 21 é considerável. Ao pedir aos alunos que façam uma análise da campanha publicitária do ponto de vista gráfico-visual, a atividade colabora no sentido de fazer com que eles se apropriem da "heterogeneidade das práticas sociais de leitura, escrita e uso da língua/linguagem" (ROJO, 2009, p. 102). Além disso, auxilia o desenvolvimento do letramento visual, tão importante por se tratar de uma habilidade necessária para a interpretação e uso das imagens que fazem parte dos textos, entendendo como elas podem ser usadas com finalidades específicas para a prática de determinadas leituras (SOUZA & SERAFIM, 2012). Segundo Kress e Van Leeuwen ([1996]2006), o letramento visual bem desenvolvido colabora na construção e reconstrução do significado do texto.

Na contemporaneidade, vivemos num mundo em que é preciso levar em conta o entrecruzamento de diversos signos (multissemiose) em uso no mundo social da leitura e da escrita em que nos encontramos. Esses usos têm nos obrigado a dominar diversos letramentos, muitos deles bem recentes, especialmente aqueles ligados às tecnologias digitais. O não domínio, ou domínio menos eficiente, desses letramentos pode trazer dificuldades, já que hoje

em dia é diferente do que era há alguns anos a forma de se ler, produzir e fazer circular textos na sociedade (ROJO, 2009).

Solicitar que o aluno atente aos aspectos gráficos (abordagem textual), observando a eficácia disso para o convencimento (abordagem discursiva), é uma forma de instrumentalizá-lo ao consumo, e mesmo à produção, de textos multissemióticos. Com isso, a colaboração é relevante, tendo em vista que o mundo atual é multissemiótico, não bastando mais apenas a leitura do texto verbal escrito, sendo "preciso relacioná-lo com um conjunto de signos de outras modalidades de linguagem que o cercam, ou intercalam, ou impregnam" (ROJO, 2009, p. 106).

Pedir para que os alunos se reúnam objetivando uma discussão para depois registrar a mesma em forma de escrita, aproxima a atividade de um viés bakhtiniano. Dizemos isso levando em conta que, ao discutir oralmente o que foi solicitado, de maneira distensa, usa-se um gênero primário; ao elaborar o que foi discutido e transpor isso para um texto escrito, usa-se um gênero secundário. Dessa forma, ambas as maneiras de consolidação dos gêneros são favorecidas. Outra consideração acerca da indicação para que os alunos se agrupem diz respeito à possibilidade de execução de uma tarefa compartilhada (SOLÉ, 1998). Nesse sentido, os alunos têm a oportunidade de, na discussão em grupo, formular perguntas sobre o que foi lido, esclarecer com os colegas possíveis dúvidas sobre o texto e resumir as ideias do mesmo; tarefas que poderão não só garantir uma leitura mais eficiente, como também formar um leitor mais autônomo.

A respeito da escrita das ideias previamente discutidas de maneira oral, Dolz, Schneuwly & de Pietro ([1998]2004) enfatizam que somente com a ajuda da escrita é que o trabalho de observação e de análise se torna possível. Para eles, é necessário anotar as observações para ser possível lembrar-se delas posteriormente ou para transmiti-las aos outros, sendo imprescindível transcrever certas expressões para comentá-las. Moraes (2005) discute que a anotação deveria ser tratada na escola como objeto de ensino, já que ela favoreceria muito o processo de aprendizagem, tendo em vista que se constitui em um instrumento muito útil para a aprendizagem dos alunos.

Teria sido ainda mais relevante se a atividade de registrar por escrito as ideias previamente discutidas de forma oral tivesse sido orientada para a produção de um texto, não apenas sob a forma de itens[15]. Nesse sentido, ao orientar o aluno para a elaboração desse

[15] Estendemos este comentário às considerações feitas sobre a atividade ilustrativa da habilidade 15. A atividade apresentada pelo material didático solicita que os alunos escrevem em 10 linhas conclusões sobre uma pequena discussão oral em grupo.

texto, poderia ser indicado o uso de argumentos em favor de suas colocações sobre as qualidades e defeitos da campanha publicitária em estudo, preparando o aluno para a produção do texto solicitado pela/na unidade[16].

A competência 8 está relacionada ao fato de que o aluno deve buscar compreender e usar a língua portuguesa como língua materna, geradora de significação e integradora da organização do mundo e da própria identidade. Conforme podemos visualizar na tabela 2, as habilidades associadas a esta competência foram as que tiveram o segundo maior número de atividades contempladoras.

A atividade ilustrativa para esta competência (habilidade 27) está no vol. 2 da 2ª série, na seção **Comparando.** Segundo o livro do professor (p. 3), nesta seção é apresentado um novo texto, cuja leitura tem por objetivo um trabalho de diferenciação entre linguagem, função, gênero ou ponto de vista, ou seja, o enfoque maior está nas diferenças.

O objetivo da unidade é trabalhar com o aluno a 'charge' e o 'cartum'. Na seção em observação, o texto apresentado não está ancorado em nenhum desses gêneros. Trata-se de um conto, de Ignácio de Loyola Brandão, originalmente publicado em 1993, na coletânea 'Os melhores contos de Ignácio de Loyola Brandão'. O conto narra a história de um homem que, de uma hora para outra, vê sua orelha crescendo de forma descontrolada. São apresentadas cinco questões, sendo apenas uma delas não voltada a algum aspecto gramatical normativo, mesmo o material tendo dito que esta seção não é específica para o trabalho com aspectos gramaticais.

H27 - Reconhecer os usos da norma padrão da língua portuguesa nas diferentes situações de comunicação	**Comparando:** 2. Releia o trecho a seguir, observando o uso das preposições, e depois responda às questões: "Quando chegou à pensão, a orelha saía pela perna da calça. O escriturário tirou a roupa. Deitou-se, louco para dormir e esquecer, E se fosse ao médico? Um otorrinolaringologista. A esta hora da noite? Olhava o forro branco. Incapaz de pensar, dormiu de desespero". c) No trecho "E se fosse ao médico?", nota-se o uso da preposição **a** junto ao verbo **ir**, indicando movimento. Entretanto, é frequente ouvirmos "ir no médico", "no cinema", "na praia", para expressar a ideia de deslocamento. Que regência é mais adequada ao padrão do português escrito? Justifique. [p. 24]

Figura 5: atividade ilustrativa para a competência 8/habilidade 27

Pela forma como é apresentada, a questão é muito mais voltada para a avaliação

[16] Na proposta de produção de texto escrito (p. 12), pede-se que o aluno selecione um anúncio publicitário de sua preferência e, com base na imagem do produto, serviço ou ideia nele apresentada, crie outro título, *slogan* e texto para esse anúncio. A proposta pode render um texto interessante se o aluno for capaz de usar adequadamente os recursos que devem ser usados no mesmo. Sabemos que se trata de um texto persuasivo cuja tentativa é seduzir alguém através de apelos emocionais e sentimentais, atuando diretamente sobre a vontade desse alguém (ação, nas palavras de Perelman & Olbrechts-Tyteca, [1958]2005), a partir de imagens, fotografias e alusão aos sentidos (tato, olfato, paladar, visão, audição). Sendo bem desenvolvida, pode dar uma boa ideia ao aluno da importante relação entre texto verbal e não verbal, bem como acerca do que é preciso para se conseguir uma boa persuasão.

de aspectos associados à gramática tradicional (análise de uma oração) do que a algum aspecto da leitura e interpretação do texto em observação, desvalorizando o uso e a ampliação de capacidades de leitura e letramento(s) dos alunos, já que o sentido é desvalorizado.

Favorecer a questão da norma ao invés do sentido e da significação nos dá um indício de que a atividade desvaloriza o enunciado. Nos dizeres de Bakhtin ([1952-53]1974), a abordagem da oração é menos oportuna num trabalho com a linguagem, já que reduz o uso linguístico, tendo em vista que a oração descarta qualquer viés dialógico e o filósofo da linguagem considerava esta puro dialogismo.

Bakhtin considera a oração uma unidade da língua, distinta do enunciado, que é uma unidade da comunicação verbal. Acreditamos que a intenção do ENEM com a habilidade 27 é mensurar como o aluno consegue observar os diferentes usos da língua em situações reais e concretas de interação, mesmo que apenas simuladas numa questão integrante de uma prova. Ao apresentar uma situação real, coloca-se em evidência o diálogo, marcado, dentre outras coisas, pela alternância dos sujeitos falantes. Numa atividade como a apresentada, isso inexiste, já que prevalece o sentido de oração e Bakhtin ([1952-53]1974, p. 296) nos informa que "o contexto da oração é o contexto do discurso de um único e mesmo sujeito falante (do locutor)". Inexiste uma reação a qualquer ato anterior; inexiste ato linguístico sucessório; inexistem locutores ativos; inexiste compreensão ativa (BAKHTIN/VOLOCHINOV, ([1929]1981).

Por não haver diálogo, a situação simulada de realidade fica completamente inexistente. É possível notar, ainda, que o viés da oração prevalece na questão pelo fato de que não se apresenta algo que indique a necessidade de uma resposta e Bakhtin nos diz que a oração não pode determinar uma resposta, já que esta só é possível no todo de um enunciado.

Do ponto de vista da ampliação de competências associadas ao uso eficiente das normas gramaticais (competência gramatical), a atividade é colaborativa. Porém, se levarmos em conta que os estudiosos das questões relativas ao ensino de língua materna afirmam que o objetivo central desse ensino é a ampliação da competência comunicativa do usuário da língua, ela pouco contribui, entendendo que competência comunicativa diz respeito à capacidade que o usuário tem de empregar de maneira eficiente a língua em quaisquer situações de comunicação.

Mesmo que a atividade escolhida por nós como ilustrativa para a habilidade 27 faça com que esta fique em evidência, o recurso da expressividade, o qual deveria fazer parte de qualquer atividade de leitura, não aparece. Para Bakhtin ([1953-54]1974, p. 315) "[...] a expressividade aparece como uma particularidade constitutiva do enunciado. [...] O

enunciado, seu estilo e sua composição são determinados pelo objeto do sentido e pela expressividade, ou seja, pela relação valorativa que o locutor estabelece com o enunciado".

Sem a expressividade, a atividade de leitura se perde num vazio, tornando-se uma mera atividade escolar. Vygotsky ([1934]2003) dizia que as práticas escolares seguidoras de uma pedagogia que privilegia os conteúdos tipicamente escolares se torna estéril, já que deixa de lado a apreensão do conhecimento vivo, substituído pelo que ele chama de esquemas verbais mortos e vazios. Com essa prática, tão comum na escola desde os tempos mais remotos, a aprendizagem não passa de uma utopia.

Considerações finais

O principal objetivo deste estudo foi analisar se os saberes mobilizados pelas atividades de leitura e interpretação de textos escritos propostas pelo apostilado do *Sistema Positivo de Ensino* (EM) priorizam as *competências e habilidades de área* exigidas pela avaliação da área de Linguagens, Códigos e suas Tecnologias do ENEM, componente Língua Portuguesa e Literatura.

Os dados gerados mostram que o baixo rendimento da unidade escolar usuária do material em análise pode estar ligado a um despreparo por parte dos alunos no uso de competências e habilidades esperadas não só pela avaliação do ENEM, mas também por parte das propostas de ensino de língua mais contemporâneas, as quais priorizam a discursividade. Afirmamos isso levando em conta o que os dados nos mostraram acerca do baixo número de uso das competências e habilidades do ENEM nas atividades dos 3 volumes do EM.

Esse baixo desempenho dos alunos pode estar relacionado, ainda, a uma baixa competência dos mesmos em atividades de leitura. Rodríguez (2004), citado por Machado *et al* (2012), diz que leitores competentes apresentam uma série de características bem definidas, diretamente associadas a estratégias de compreensão. Quando o leitor não consegue fazer um bom uso dessas estratégias, indica baixo grau de competência leitora.

Observando a tabela 2, notamos que as competências 7 e 8 foram as que apresentaram o maior conjunto de atividades associadas. Interpretamos esse fato como sendo positivo, já que as habilidades a elas associadas vão ao encontro de capacidades vinculadas à argumentação, ação linguística inerente a todo ato interacional em que a linguagem esteja associada. As capacidades vinculadas a relação linguagem e identidade também foram em quantidade considerável. Porém, o fato de as demais competências e habilidades apresentarem um conjunto tão irrisório de ocorrências foi negativo, uma vez que as habilidades a elas associadas dizem respeito ao olhar sobre o fenômeno literário da língua e sobre as

manifestações das outras linguagens, podendo as atividades associadas a elas trazerem excelentes contribuições aos alunos.

Para terminar, gostaríamos de enfatizar que o ENEM tem preocupação com o que o aluno foi capaz de aprender na escola em se tratando de habilidades e competências de leitura e escrita, sem, contudo, estar focado mais detidamente nos aspectos que envolvem as práticas sociais de leitura. A valorização é muito mais sobre o letramento escolar.

No contexto do Ensino Médio atual, o que se espera é que o aluno saia dele tendo domínio sobre capacidades de leitura e escrita que lhe garantam o exercício pleno sobre qualquer manifestação verbal de forma eficiente, agindo sobre o mundo, replicando-o, implicando com ele, respondendo a qualquer questionamento. A avaliação do ENEM, através das competências e habilidades, proporciona meios para que possa ser possível avaliar se isso foi ou não alcançado. Nesse sentido, levando em conta que o que ocorre na sala de aula, na figura do professor e/ou do material didático usado pelos alunos, a esfera sala de aula pode ser bastante representativa para o bom ou mau sucesso desse aluno não só na avaliação oficial, mas em suas práticas linguísticas fora da escola.

Em um estudo futuro, poderíamos observar como ocorre a contribuição do professor para que o aluno se aproprie, desenvolva ou amplie as competências e habilidades mensuradas pela prova de Língua Portuguesa e Literatura do ENEM. O papel do professor no processo de ensino e aprendizagem é indiscutível, tendo em vista que ele 'funciona' como mediador nesse processo. Cabe a ele o papel de orientar e conduzir a aprendizagem do aluno, melhorando aquilo que o material didático não consegue cumprir eficientemente. Mesmo que o material didático exerça um importante papel no processo de aquisição de habilidades e competências leitoras, é na mediação do professor e nas suas intervenções que o progresso da aquisição dessas habilidades e competências reside.

O papel do professor é relevante e merece atenção também pelo fato de que na interlocução professor/aluno a aprendizagem é construída. É também nessa relação interacional que os processos de ampliação das capacidades linguísticas do aluno podem ocorrer, já que, para Bakhtin ([1929]1981), a interação verbal constitui a realidade fundamental da língua.

Também poderia ser feito um estudo buscando acesso às questões da prova do componente curricular Língua Portuguesa e Literatura realizada em 2011, analisando se um conjunto maior delas mobilizou as competências 5 e 6, menos enfatizadas nas questões de leitura e interpretação de texto escrito do material didático em análise. Sendo positiva a resposta a isso, estaria melhor confirmado por que os alunos tiveram um baixo desempenho.

Acreditamos que este estudo mostrou que aquilo que o material didático mobiliza ou não pode ser muito significativo para os resultados do aluno nas avaliações de larga escala. Esperamos que nossas análises reflitam não só em melhorias na elaboração do material de didático, mas também num ensino-aprendizagem de leitura e interpretação de texto escrito mais eficiente.

Referências bibliográficas

BAKHTIN, M./VOLOCHINOV, V. N. (1929). **Marxismo e filosofia da linguagem**. São Paulo: Hucitec, 1981.

BAKHTIN, M. (1952-53). Os gêneros do discurso. In ___. **Estética da criação verbal**. São Paulo: Martins Fontes, 1979. p. 277-326.

BRASIL (SEF/MEC). **Parâmetros Curriculares Nacionais** – 3º e 4º Ciclos do Ensino Fundamental. Língua Portuguesa. Brasília, DF: SEF/MEC, 1998. 107 p.

BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Média e Tecnológica. **Parâmetros Curriculares Nacionais (Ensino Médio).** Brasília: MEC, 2000.

BRASIL/MEC/SEB. **Orientações curriculares para o ensino médio:** Linguagens, códigos e suas tecnologias. Secretaria de Educação Básica. – Brasília: Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica, 2006. 239 p.

BUNZEN, C. Da era da composição à era dos gêneros: o ensino de produção de texto no ensino médio. In: BUNZEN, C. & MENDONÇA, M. (org.). **Português no ensino médio e formação do professor.** São Paulo: Parábola, 2006. p. 139-161.

COSTA VAL, M. da G. C. Atividades de produção de textos escritos em livros didáticos de 5ª à 8ª séries do ensino fundamental. In ROJO, R. & BATISTA, A. A. **Livro didático de língua portuguesa, letramento e cultura da escrita**. Campinas: Mercado de Letras, 2003. p. 125-152.

DOLZ, J. & SCHNEUWLY, B. (1996). Gêneros e progressão em expressão oral e escrita: elementos para reflexões sobre uma experiência suíça (francófona). In: SCHNEUWLY, B., DOLZ, J. et al. **Gêneros orais e escritos na escola**. Campinas: Mercado de Letras, 2004, p. 41-70.

DOLZ, J., NOVERRAZ, M. & SCHNEUWLY, B. (2001). Sequências didáticas para o oral e a escrita: apresentação de um procedimento. In: SCHNEUWLY, B., DOLZ, J. et al. **Gêneros orais e escritos na escola**. Campinas: Mercado de Letras, 2004. p. 95-128.

DOLZ, J., SCHNEUWLY, B. & DE PIETRO, J-F. (1998). Relato da elaboração de uma sequência: o debate público. In: SCHNEUWLY, B., DOLZ, J. *et al*. **Gêneros orais e escritos na escola**. Campinas: Mercado de Letras, 2004. p. 247-276.

FURTADO, E. M., KOLB, C. W., NEMITZ, V. [et al.] **Língua Portuguesa: ensino médio**. 1ª, 2ª, 3ª séries. Curitiba: Positivo, 2008.

KLEIMAN, A. B. **Os significados do letramento**: uma nova perspectiva sobre a prática social da escrita. Campinas: Mercado de Letras, 1995.

KRESS, G., VAN LEEUWEN, T. (1996). **Reading images:** grammar of visual design. Londres: Routledge, 2006.

LUCKESI, C. C. **Avaliação da aprendizagem escolar**. São Paulo: Cortez, 1997

MACHADO, V. R.; CASTANHEIRA, S. F.; BESSA, A. L do C; OLIVEIRA, F. E. de. Leitura e mediação pedagógica no ensino fundamental – formação continuada de professores. In: BORTONI-RICARDO, S. M. *et al.* (org.). **Leitura e mediação pedagógica.** São Paulo: Parábola, 2012. p. 221-242.

MARCUSCHI, B. O que nos dizem o SAEB e o ENEM sobre o currículo de língua portuguesa para o ensino médio? In: BUNZEN, C.; MENDONÇA, M. (org.). **Português no ensino médio e formação do professor.** São Paulo: Parábola, 2006. p.57-82.

MOITA LOPES, L. P. da. **Oficina de linguística aplicada**. Campinas, Mercado de Letras, 2005.

MORAES, E. M. M. **Anotações de aulas:** contribuições para a caracterização de um gênero discursivo e sua apropriação escolar. 2005. 188 p. Tese (Doutorado em Linguística) – Programa de Pós-Graduação em Linguística, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2005.

MORIN, E. **Introdução ao pensamento complexo**. Porto Alegre: Editora Sulina, 2007.

PERELMAN, C. & OLBRECHTS-TYTECA, L. (1958). **Tratado da argumentação: a nova retórica**. São Paulo: Martins Fontes, 2005.

ROJO, R. H. R. Fazer linguística aplicada em perspectiva sócio histórica: privação sofrida e leveza do pensamento. In: MOITA LOPES, L. P. da (org.). **Por uma linguística aplicada indisciplinar**. Parábola Editorial: São Paulo, 2006. p. 253-276.

___. **Letramentos múltiplos, escola e inclusão social.** São Paulo: Parábola Editorial, 2009.

RÖSING, T. M. K. (1996) **A Formação do professor e a questão da leitura.** Passo Fundo-RS: EDIUPF, 2001.

SILVA, S. R. da. Didatização da leitura e interpretação de textos no ensino médio: capacidades de leitura em desenvolvimento. **Vertentes** (UFSJ), v. 20, p. 13-25, 2012.

SILVA, S. R. da. Competências e habilidades em uso: práticas de leitura e interpretação de texto no apostilado da rede privada de ensino médio conforme a avaliação do ENEM. In: GERHARDT, A. F. M.; AMORIM, A. M. de; CARVALHO, A. M. (org.). **Linguística Aplicada e Ensino**: língua e literatura. 1ªed.Campinas: Pontes, 2013, v. Único, p. 115-149.

SOLÉ, I. **Estratégias de Leitura**. 6ª edição - Porto Alegre: Artmed, 1998.

SOUZA, H. D. S. C. de & SERAFIM, M. de S. A Mediação da Leitura na Educação Infantil: onde a leitura de mundo precede a das palavras. In BORTONI-RICARDO, S. M. (org.) [et al.]. **Leitura e mediação pedagógica.** São Paulo: Parábola, 2012. p. 19-41.

VYGOTSKY, L. S. (1934). **Pensamento e linguagem.** São Paulo: Martins Fontes, 2003.

ANÁLISE DA CARGA VIRAL E VARIABILIDADE GENÔMICA DA REGIÃO S DO HBV EM PACIENTES HIV SOROPOSITIVOS COM HEPATITE B OCULTA EM GOIÂNIA, GOIÁS

Kamilla Nogueira Pimentel[1], Marina Pedroso de Oliveira, Regina Maria Bringel Martins, Márcia Alves Dias de Matos[2]

[1]Orientanda; [2]Orientadora

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP-UFG), Goiânia-Goiás-Brasil

Endereço Eletrônico: nogueira.kamilla@gmail.com, marciaalvesdias@yahoo.com.br

RESUMO

A hepatite B é um sério agravo de saúde pública, sendo considerada uma das principais causas de hepatopatia crônica, cirrose e hepatocarcinoma em todo o mundo. No curso da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) podem ser observados perfis atípicos, como a infecção oculta, na qual o DNA viral é encontrado no soro e/ou fígado dos indivíduos HBsAg negativos. Sabe-se que na coinfecção com HIV tais perfis atípicos podem surgir com maior frequência, além de episódios de reinfecção e reativação do HBV. Os objetivos deste estudo foram determinar a carga viral e analisar a variabilidade genômica da região S do HBV em isolados de pacientes HIV soropositivos com hepatite B oculta em Goiânia-Goiás. Esta pesquisa foi realizada a partir de um estudo de corte transversal conduzido com pacientes HIV soropositivos, atendidos no período abril/2009 a abril/2010 no Hospital de Doenças Tropicais em Goiânia-Goiás. Amostras de pacientes com infecção oculta pelo HBV foram selecionadas e submetidas à quantificacção do DNA viral por PCR em tempo real (tecnologia TaqMan). Em seguida, as amostras foram genotipadas por sequenciamento de nucleotídeos da região S do HBV, sendo também analisadas quanto a presença de mutações. Os genótipo A (A1) foi encontrado em maior proporção, seguido do F(F2) e D (D2,D3). Uma baixa carga viral (média $6{,}59x10^2$ cópias/mL) foi detectada e mutações sT131N e sY100C foram encontradas em sete e cinco isolados, respectivamente. Os dados da presente pesquisa poderão auxiliar no planejamento das intervenções clínicas e terapêuticas necessárias a esse grupo de pacientes.

Palavras-Chave: hepatite B, infecção oculta, genótipos, carga viral, mutações.

Revisado pelo orientador

1. INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é reconhecidamente um sério agravo de saúde pública, sendo considerada uma das principais causas de hepatopatia crônica, cirrose e hepatocarcinoma em todo o mundo (KEW 2010; OTT et al. 2012). A despeito da eficácia da vacina, utilizada nas últimas décadas, a Organização Mundial da Saúde estima que mais de dois bilhões de pessoas já foram infectadas pelo HBV e que aproximadamente 240 milhões de pessoas estejam cronicamente infectadas (WHO 2012).

O HBV é um vírus pequeno, de 40-42 nm de diâmetro, pertencente à família *Hepadnaviridae* e gênero *Orthohepadnavirus*. Esse vírus é constituído externamente pelo envelope viral e, internamente, pelo nucleocapsídeo de simetria icosaédrica, o qual abriga o material genético. O genoma do HBV é DNA circular de fita parcialmente dupla, que está organizado em quatro unidades de leitura aberta (*Open Reading Frame* - ORF): Pré-S/S, Pré-C/C, P e X (DOO; GHANY 2010; ICTV 2012; LIANG 2009).

A região Pré-S/S codifica as proteínas de superfície, denominadas L (*large*), M (*middle*) e S (*small*), a partir dos códons de iniciação das regiões Pré-S1, Pré-S2 e S, respectivamente. A proteína S, ou HBsAg, representa o antígeno de superfície do HBV, sendo o constituinte predominante do envelope. A região pré-C/C possui dois códons de iniciação. A região C codifica o HBcAg (antígeno do "core" do HBV), que compõe o nucleocapsídeo viral. Por outro lado, quando a transcrição começa na região pré-C, há formação do HBeAg (antígeno "e" do HBV), um peptídeo solúvel secretado pelos hepatócitos e liberado na circulação sanguínea, que é considerado um importante marcador de replicação viral. A região P codifica a DNA polimerase/transcriptase reversa. E finalmente, a região X codifica a proteína HBx, que atua como transativadora de genes celulares e virais (DOO; GHANY 2010; KIDD-LJUNGGREN; MIYKAWA; KIDD, 2002; LIANG 2009).

Divergências maiores que 8% encontradas na sequência genômica do HBV, determinaram a classificação deste vírus em 10 genótipos, sendo estes denominados de A a J (CAO 2009; HUY; NGOC; ABE, 2008; TATEMATSU et al. 2009). Tais genótipos apresentam uma distribuição geográfica variável. Assim, os estudos realizados no Brasil, têm demonstrado a circulação predominante do genótipo A, seguido do genótipo D e em menor proporção, o genótipo F (ARAÚJO et al. 2004; MELLO 2007; MOTTA-CASTRO et al. 2005, 2008; VIANA et al. 2005).

O diagnóstico da infecção pelo HBV é realizado a partir da detecção de antígenos HBs e HBe e dos seus respectivos anticorpos (anti-HBs e anti-HBe), além do anti-HBc (IgM e

Total). Ainda, o HBV-DNA pode ser detectado no soro de indivíduos com infecção aguda ou crônica, sendo associado à replicação viral. Desta forma, técnicas moleculares, como por exemplo, a reação em cadeia pela polimerase (PCR), a análise quantitativa (carga viral) e sequenciamento do genoma (parcial/completo), têm sido cada vez mais empregadas no diagnóstico da infecção pelo HBV (CHEVALIEZ;PAWLOSTSKY 2009; FONSECA 2007).

Atualmente, a partir da utilização de técnicas moleculares altamente sensíveis, é possível diagnosticar a infecção oculta pelo HBV. Esse perfil atípico é caracterizado pela presença do HBV-DNA no sangue e/ou no tecido hepático de indivíduos HBsAg negativos (MELLO et al., 2011; ROMERO et al., 2011). A hepatite B oculta é relevante em diferentes contextos clínicos, pois os portadores desta infecção podem ser fontes de transmissão do HBV por transfusões sanguíneas ou transplantes hepáticos. Além disso, a infecção oculta pode influenciar no desenvolvimento da doença hepática crônica, de carcinoma hepatocelular e, ainda, favorecer os episódios de reativação do HBV (RAIMONDO et al, 2013).

Ensaios quantitativos do HBV-DNA tem ganhado importância para avaliar a infecciosidade, prever a progressão da doença, monitorar o tratamento e auxiliar na avaliação do surgimento de resistência aos fármacos utilizados no tratamento da hepatite B (SORIANO et al. 2008). Além disso, a combinação de exames que avaliam a carga viral, bem como aqueles que quantificam títulos de HBsAg podem ajudar na definição dos pacientes que irão melhor se beneficiar do tratamento (BAYLISS et al. 2013). Geralmente, os pacientes com infecção oculta apresentam baixa carga viral (HOLLINGER; SOOD 2010). Por outro lado, alguns autores têm apontado que a carga viral elevada pode estar associada ao desenvolvimento de doença hepática relacionada ao HBV, como cirrose e câncer hepático (HARKISOEN et al 2012; WITJES et al. 2011).

Mutações no genoma do HBV são comuns, já que a transcriptase reversa apresenta elevada taxa de erros devido à ausência de revisão nucleotídica. Estima-se que a taxa de substituição de nucleotídeos seja de 1,4-3,2 x 10-5 por sítio por ano (KIDD-LJUNGGREN; MIYAKAWA; KIDD, 2002). Variabilidade da região S pode ocasionar o escape viral à ação dos anticorpos (anti-HBs) e reduzir a eficiência da detecção do HBsAg por imunoensaios rotineiramente utilizados no diagnóstico. Dentre as mutações mais prevalentes na região S, encontram-se as substituições de aminoácidos dentro do determinante “a” nas posições 145, onde há troca de uma glicina por arginina (sG145R), e a inserção entre os resíduos 122 e 123. Já em casos de infecção oculta pelo HBV é comumente observada a substituição de um resíduo de tirosina por uma cisteína na posição 100 (sY100C) (LOU et al. 2011; MELLO et al. 2011).

A coinfecção com o HBV tem sido considerada um fator de risco para mortalidade em pacientes HIV soropositivos (LEE et al., 2013). Além disso, sabe-se que pacientes coinfectados apresentam diminuição da resposta imune, episódios de reinfecção e reativação do HBV, bem como o surgimento de perfis atípicos, como a hepatite B oculta. Devido a isso, pacientes com tal coinfecção merecem especial atenção no que concerne ao acompanhamento clínico e tratamento (LI; WANG; LI, 2012; MARTÍN-CARBONERO; POVEDA, 2012).

Apesar da relevância do conhecimento dos aspectos virológicos, no contexto da co-infecção HBV-HIV, informações sobre a carga viral de indivíduos com infecção oculta e a variabilidade genômica do HBV em indivíduos co-infectados no Brasil são escassas. Diante disso, a presente pesquisa foi realizada com o intuito de investigar as características moleculares do HBV em indivíduos HIV soropositivos, com hepatite B oculta em Goiânia-Goiás.

2. OBJETIVOS

- Determinar a carga viral das amostras HBV-DNA positivas;
- Analisar a variabilidade genômica da Região S do HBV no isolados estudados.

3. METODOLOGIA

Delineamento do estudo, população e fatores éticos

Este trabalho foi realizado a partir de um estudo de corte transversal (LEMES, 2011), que foi conduzido com 505 pacientes HIV soropositivos, virgens de tratamento antirretroviral, atendidos no hospital de referência para doenças infecciosas (Hospital de Doenças Tropicais Anuar Auad) em Goiânia-Goiás, no período de abril/2009 a abril/2010. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Doenças Tropicais Anuar Auad (CEP-HDT nº 004/2009) e os indivíduos concordaram em participar da investigação, mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Testes laboratoriais prévios e seleção de amostras:

No início do projeto, foi realizada uma triagem sorológica de toda população (n=505) para detecção de HBsAg, anti-HBc e anti-HBs (reagentes comerciais: Hepanostika e Biokit), sendo que um total de 99 indivíduos tiveram os resultados anti-HBc positivos/HBsAg negativos. As amostras desse grupo de pacientes foram então utilizadas para a pesquisa de infecção oculta pelo HBV. Assim, foi realizada a extração do DNA do HBV, conforme descrito por Niel et al. (1994) e o produto foi submetido a uma *semi-nested* PCR, para amplificação da região Pré-S/S, de acordo com Motta-Castro et al. (2005). Todos estes testes permitiram detectar o DNA viral e, portanto, a infecção oculta pelo HBV em 16 pacientes, sendo estas as amostras selecionadas para a presente pesquisa.

Quantificação do HBV-DNA

A PCR em tempo real foi realizada com a tecnologia TaqMan, de acordo com o descrito por Pas & Niesters (2002), com algumas modificações. Inicialmente, montou-se um painel de referência constituído de oito diluições seriadas, na razão de 10 vezes (2,2 x 10 - 2,2 x 10^8), do DNA de um plasmídeo recombinante, contendo a região do HBV de interesse (parte da região S).

Os ensaios de amplificação foram feitos em volume final de 25 µL de tampão universal "TaqMan MasterMix" (Applied BioSystems, Foster City, CA, USA), contendo 5 µL do DNA extraído (conforme descrito anteriormente), 1 µM de cada *primer* (S14 e S17) e 0,3 µM da sonda (5'-FAM-TGTTGACAARAATCCTCACAATACCRCAGA-TAMRA-3´, nt 218-247). Após uma incubação inicial de 2 minutos a 50°C e 10 minutos a 95° C, 50 ciclos de PCR foram realizados, seguindo um programa de 95°C por 15 segundos e 60°C por 60 segundos. As reações foram feitas em duplicata no sistema 7500 SDS (Applied BioSystems). O limite do ensaio foi estimado em 10 cópias por reação ou aproximadamente 100 cópias/mL de soro.

Sequenciamento de nucleotídeos da Região S do HBV – Genotipagem

As amostras HBV-DNA positivas foram inicialmente submetidas à amplificação da região S por *semi-nested* PCR conforme Motta-Castro et al. 2008. Em seguida, o produto obtido foi purificado utilizando o kit comercial "QIAquick PCR purification kit" (QIAGEN).

As sequências de nucleotídeos foram determinadas utilizando-se *BigDye Terminator* versão 3.01 *Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) utilizando-se os *primers* específicos S1, S4, S7, S2 e S22. A leitura dos eletroferogramas foi realizada em sequenciador automático ABI 3130 (Applied Biosystems, Applied Biosystems, Foster City, CA,USA).

Para análise das sequências obtidas montou-se uma sequência consenso das fitas *sense* e *anti-sense* utilizando o programa SeqMan II versão 5.01 (DNASTAR). As sequências foram editadas pelo *Bioedit*. Posteriormente, foi realizado o alinhamento das sequências de cada amostra juntamente com sequências dos diferentes genótipos do HBV obtidas no GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) com a utilização dos programas MEGA versão 4 e Clustal X (TAMURA et al. 2007; THOMPSON *et al*. 1997). Finalmente, uma árvore filogenética foi construída utilizando-se o programa MEGA pelo método *Neighbor-Joining*, modelo de substituição de nucleotídeos Kimura 2 parâmetros e a robustez dos grupos filogenéticos foi avaliada utilizando *bootstrap* de 1025 repetições.

Detecção de mutações por sequenciamento

Para a pesquisa das mutações, fez-se a dedução de aminoácidos (aa) a partir do sequenciamento de nucleotídeos utilizando o programa MEGA versão 4. As sequências obtidas foram alinhadas com um protótipo de isolado viral do tipo "selvagem" e analisadas visualmente para detecção de mutações na região S.

4. RESULTADOS

4.1. Genótipos do HBV nos pacientes HIV soropositivos com hepatite B oculta

O sequenciamento da região S do HBV foi realizado com sucesso em 15 das 16 amostras estudadas. Desta forma, a partir da análise filogenética, foi possível identificar os genótipos/subgenótipos A/A1 (n=9), D/D2 (n=1), D/D3 (n=1) e F/F2 (n=4) (Figura 1).

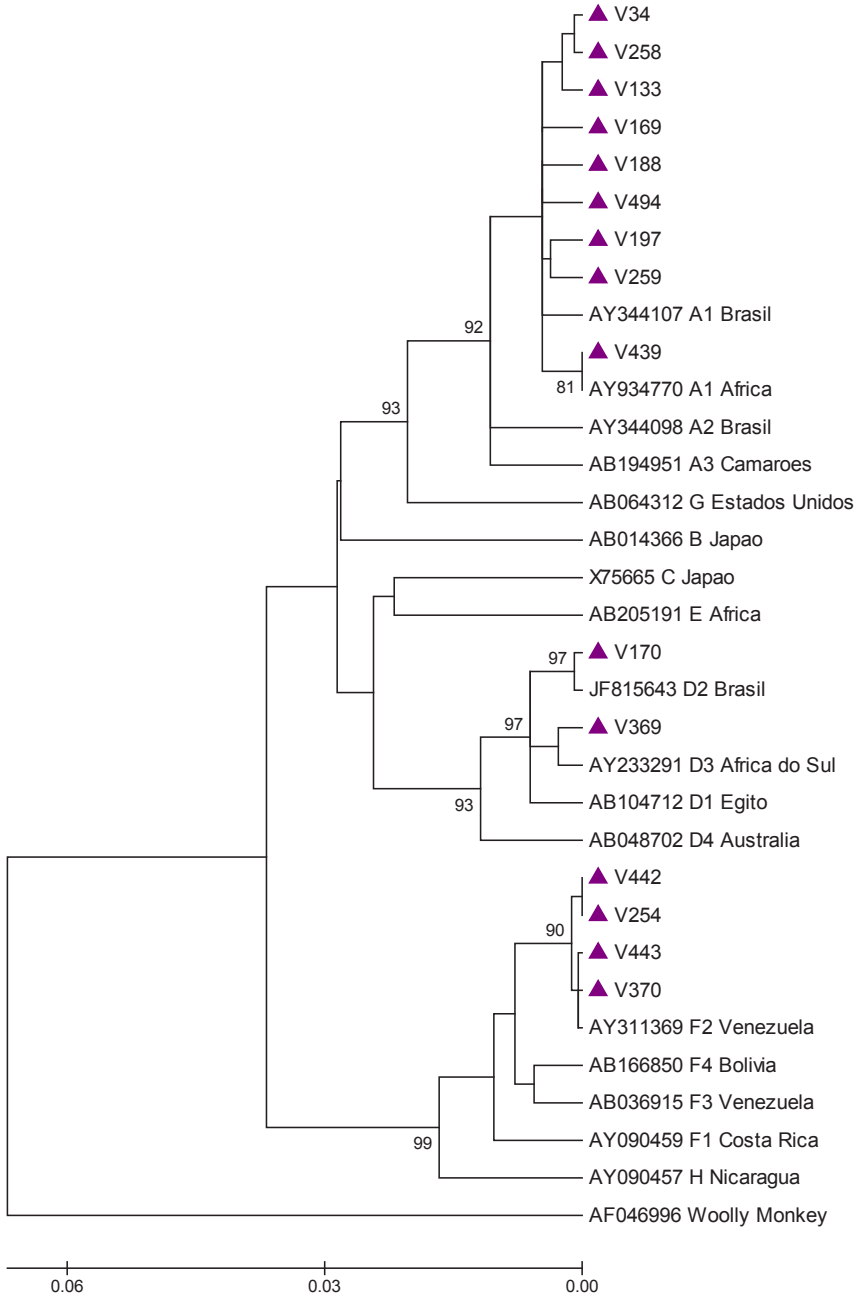


Figura 1- Árvore filogenética da região S do HBV, incluindo os 15 isolados dos pacientes com infecção oculta pelo HBV de Goiânia-GO e 18 sequências do GenBank (número do acesso e país de origem estão indicados). O genoma do HBV do *Woolly Monkey* (AF046996) foi utilizado como grupo externo

4.2. Quantificação do HBV-DNA e detecção de mutações na região S do HBV em pacientes com infecção oculta

Foi possível determinar a carga viral em 14 dentre as 16 amostras analisadas. Sendo assim, a carga viral do HBV-DNA em pacientes com infecção oculta variou de 7,03x 10 a 3,76x 10^3 cópias/mL (média de 6,59 x 10^2 cópias/mL). Dois indivíduos (V259 e V494) possuíam carga viral inferior ao limite de detecção do teste (Tabela 1).

Após a análise do sequenciamento da região S, observou-se que sete pacientes com infecção oculta pelo HBV apresentaram a mudança de uma treonina (T) por uma asparagina (N) na posição 131 (sT131N). Além disso, em cinco pacientes foi observada a substituição do resíduo de tirosina (Y) por uma cisteína (C) na posição 100 (sY100C).

Tabela 1- Carga viral e mutações na Região S do HBV em pacientes HIV soropositivos com hepatite B oculta em Goiânia-Goiás

Paciente	Carga viral (cópias/mL)	Mutações
V34	7,03 x 10	sY100C, sT131N
V133	3,07 x 10^2	sY100C, sT131N
V169	1,55 x 10^2	sT131N
V170	7,15 x 10	-
V188	1,23 x 10^3	sY100C, sT131N
V197	8,64 x 10^2	-
V254	3,76 x 10^3	-
V258	2,18 x 10^3	sY100C, sT131N
V259	ND*	-
V369	8,5 x 10	-
V370	1,22 x 10^3	-
V412	1,3 x 10^2	NS**
V439	1,5 x 10^2	sT131N
V442	1,25 x 10^2	-
V443	2,03 x 10^2	-
V494	ND*	sY100C, sT131N

*ND: Não detectável; **NS: Amostra não Sequenciada

5. DISCUSSÃO

A presente pesquisa integra um estudo maior, que representa a primeira investigação brasileira, com o intuito de investigar os aspectos moleculares da infecção pelo HBV em indivíduos HIV soropositivos, virgens de tratamento, incluindo a análise da carga viral, a determinação dos genótipos e a detecção de mutações em indivíduos coinfectados em Goiânia-Goiás.

No Brasil, a distribuição dos genótipos refletem a formação da população: o genótipo A, o mais prevalente representa a origem africana, introduzida a partir do tráfico de escravos; o genótipo D reflete a origem americana e europeia; já o Genótipo F é característico da população indígena das Américas (ARAÚJO et al. 2011; MELLO et al. 2007). Neste estudo foi observada maior proporção do genótipo A(A1), seguido dos genótipos F(F2) e D (D2, D3). Tais resultados confirmam a circulação e a predominância dos mesmos em nosso País (BECKER et al. 2010; BERTOLINI et al. 2012; SANTOS et al. 2010).

A literatura têm descrito que o curso da infecção oculta pelo HBV tem como característica a ocorrência de baixas cargas virais (OCANA et al. 2011; SHIRE et al. 2004). Dessa forma, os níveis de HBV-DNA encontrados nos pacientes deste estudo (média de $6{,}59x10^2$ cópias/mL) corrobora com os resultados de outras investigações sobre infecção oculta realizadas no Brasil e em outros países, que encontraram variação na carga viral de 200 cópias/mL a $3x10^4$ cópias/mL (ARAÚJO et al. 2008; MOTTA-CASTRO et al. 2008; SHIRE et al. 2004; SUCUPIRA et al. 2006)

As mutações no genoma do HBV são frequentes, devido à elevada taxa de erros da transcriptase reversa. Além disso, outras causas como pressão da resposta imune do hospedeiro, bem como o uso de medicamentos também podem gerar tais variações (SVICHER et al. 2011; WEBER 2005). O estudo das mutações na região S do HBV é importante, uma vez que podem levar a evasão do vírus à ação neutralizadora dos anticorpos e reduzir a eficiência da detecção dos marcadores sorológicos empregados para diagnóstico e triagem para hepatite B (SEDDIGH-TONEKABONI et al. 2000).

Na presente investigação, todos os pacientes que apresentaram mutação pertenciam ao genótipo A, sendo que sete (46,6 %) apresentaram a substituição sT131N. Alguns autores têm sugerido que essa mutação é um polimorfismo natural dos genótipos A e G, e está relacionada à persistência do HBV mesmo após a perda do HBsAg e soroconversão para anti-HBs, bem

como ao escape vacinal (SONG et al. 2009; SVICHER et al. 2011). A possibilidade da circulação e transmissão de HBV com mutação de escape vacinal pode representar um grande problema de saúde pública, sinalizando para uma mudança na estratégia de diagnóstico, prevenção e controle da infecção.

Ainda, cinco pacientes (33,3%) apresentaram a substituição do resíduo de tirosina (Y) por uma cisteína (C) na posição 100 (Y100C). Tal mutação tem sido associada à baixa expressão do HBsAg e encontrada em casos de infecção oculta pelo HBV (ARAÚJO et al. 2008; GUTIÉRREZ et al. 2004; MELLO et al. 2011; MOTTA et al. 2010; MOTTA-CASTRO et al. 2008, ZAAIJER et al. 2008), sendo essa associação demonstrada também *"in vitro"* (BISWAS; CANDOTTI; ALLAIN, 2013). Interessantemente, assim como nesta pesquisa, verifica-se que em outros estudos brasileiros, a mutação sY100C também foi encontrada somente em amostras do genótipo A (ARAÚJO et al. 2008; MOTTA et al. 2010; MOTTA-CASTRO et al. 2008).

6. CONCLUSÕES

- A carga viral encontrada neste estudo foi baixa (média: $6{,}59 \times 10^2$ cópias/mL), confirmando a característica do curso da infecção oculta pelo HBV, descrita na literatura;

- As mutações sT131N e sY100C foram encontradas nos isolados de pacientes com infecção oculta pelo HBV, sendo todos pertencentes ao genótipo A.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo demonstram a importância da realização da análise molecular em amostras de pacientes infectados pelo HBV, principalmente no que concerne ao contexto da infecção oculta, por se tratar de um tema ainda pouco esclarecido, apesar de todos os debates atuais. Sabe-se a quantificação do DNA do HBV e a detecção precoce de mutações no genoma podem auxiliar na escolha de melhores estratégias para o acompanhamento e terapia da hepatite B, principalmente naqueles indivíduos já infectados pelo HIV. Desta forma, acreditamos que os dados da presente pesquisa, poderão auxiliar no planejamento das intervenções clínicas e terapêuticas necessárias a esse grupo de pacientes, visando à melhoria da qualidade de vida e assistência aos indivíduos coinfectados.

8. REFERÊNCIAS

ARAÚJO N. M., MELLO F. C., YOSHIDA C. F., NIEL C., GOMES A. S. High proportion of subgroup A' (genotype A) among Brazilian isolates of Hepatitis B virus. **Arch Virol** v. 149 p. 1383-1395, 2004.

ARAÚJO N. M., BRANCO-VIEIRA M., SILVA A. C. M., PILOTTO J. H., GRINSZTEJN B., ALMEIDA A. J., TREPO C., GOMES A. S. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients: Evaluation of biochemical, virological and molecular parameters. **Hepatol Res** v. 38 p. 1194–1203, 2008.

ARAÚJO N. M., WAIZBORT R., K. A. Y. A. Hepatitis B virus infection from an evolutionary point of view: how viral, host, and environmental factors shape genotypes and subgenotypes**. Infect Genet Evol** v. 11 n. 6 p. 1199-207, 2011.

BAYLISS J., NGUYEN T., LESMANA C. R., BOWDEN S., REVILL P. Advances in the molecular diagnosis of hepatitis B infection: providing insight into the next generation of disease. **Semin Liver Dis.** v. 33, n. 2, p. 113-121, 2013.

BECKER C. E., MATTOS A. A., BOGO M. R., BRANCO F., SITNIK R., KRETZMANN N. A. Genotyping of hepatitis B virus in a cohort of patients evaluated in a hospital of Porto Alegre, South of Brazil. **Arq Gastroenterol**. v. 47 n. 1 p. 13-17, 2010.

BERTOLINI D. A., GOMES-GOUVÊA M. S., CARVALHO-MELLO I. M., SARACENI C. P., SITNIK R., GRAZZIOTIN F. G., LAURINDO J. P., FAGUNDES N. J., CARRILHO F. J., PINHO J. R. Hepatitis B virus genotypes from European origin explains the high endemicity found in someareas from southern Brazil. **Infect Genet Evol.** v. 12 n. 6 p. 1295-304, 2012.

BISWAS S., CANDOTTI D., ALLAIN J. P. Specific amino acid substitutions in the S protein prevent its excretion in vitro and may contribute to occult hepatitis B virus infection. **J Virol.** v. 87, n. 14, p. 7882-7892, 2013.

CAO G. H. Clinical relevance and publich health significance of hepatitis B virus genomic variations. **World J Gastroenterol.** v. 14;15 n. 46 p. 5761-5769,2009.

CHEVALIEZ S., PAWLOTSKY J. M. Virological techniques for the diagnosis and monitoring of hepatitis B and C. **Ann Hepatol** v. 8 n. 1 p. 7-12, 2009.

DOO C. E., GHANY G. M. Hepatitis B virology for clinicians. **Clin Liver Dis** v. 14 p. 397-408, 2010.

FONSECA J. C. F. História natural da hepatite crônica B. **Rev Soc Bras Med Trop** v. 40 n. 6 p. 672-677, 2007.

GUTIÉRREZ C., DEVESA M., LOUREIRO C. L., LEON G., LIPRANDI F. A. N. D., PUJOL F. H.. Molecular and serological evaluation of surface antigen negative hepatitis B virus infection in blood donors from Venezuela. **J Med Virol** v. 73 n. 2 p. 200–207, 2004.

HARKISOEN S., ARENDS J. E., ERPECUM K. J., HOEK A., HOEPELMAN A. I. M. Hepatitis B viral load and risk of HBV-related liver disease: from East to West? **Anals of Hepatology** v. 11 p. 164-171, 2012.

HOLLINGER F. B., SOOD G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. **J Viral Hepat** v. 17 n. 1 p. 1-15, 2010.

HUY T. T. T., NGOC T. T., ABE K. New Complex Recombinant Genotype of Hepatitis B Virus Identified in Vietnam. **J Virol** v. 82 n. 11 p. 5657-5663,2008.

ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses), 2012. Master Species List (MSL) version 2.

KEW M. C. Epidemiology of chronic hepatitis B virus infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. **Pathol Biol** v. 58 n. 4 p. 273-277,2010.

KIDD-LJUNGGREN K., MIYAKAWA Y., KIDD A. H. Genetic variability in hepatitis B viruses. **J Gen Virol** v. 83 p. 1267-1280, 2002.

LEE S. H., KIM K. H., LEE S. G., CHO H., CHEN D. H., CHUNG J. S., KWAK I. S., CHO G. J. Causes of Death and Risk Factors for Mortality among HIV Infected Patients Receiving Antiretroviral Therapy in Korea. **J Korean Med Sci.** v. 28, n. 7, p. 990-997, 2013.

LEMES P. S. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite B em pacientes HIV soropositivos em Goiânia-Goiás. **Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública - IPTSP/UFG,** 2011.

LI Y. J., WANG H. L., LI T. S. Hepatitis B virus/human immunodeficiency virus coinfection: interaction among human immunodeficiency virus infection, chronic hepatitis B virus infection, and host immunity. **Chin Med J (Engl).** v. 125, n. 13, p. 2371-2377, 2012.

LIANG T. J. Hepatitis B: The virus and Disease. **Hepatol** v. 49 p. S13-S21,2009.

LOU S. C., PEARCE S. K., LUKASZEWSKA T. X., TAYLOR R. E., WILLIAMS G. T., LEARY T. P. An improved Abbott ARCHITECT assay for the detection of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg). **J Clin Virol** v. 51 n. 1 p. 59-63,2011.

MARTÍN-CARBONERO L.,POVEDA E. Hepatitis B Virus and HIV Infection. **Semin Liver Dis** v. 32, p. 114-119, 2012.

MELLO F. C. A., SOUTO F. J. D., NABUCO L. C., VILLELA-NOGUEIRA C. A., COELHO H. S. M., FRANZ H. C. F., SARAIVA J. C. P., VIRGOLINO H. A., MOTTA-CASTRO A. R., MELO M. M. M., MARTINS R. M. B., GOMES S. A. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. **BMC Microbiol** v. 7 p. 103,2007.

MELLO F. C. A., MARTEL N., GOMES S. A., ARAÚJO N. M. Expression of Hepatitis B Virus Surface Antigen Containing Y100C Variant Frequently Detected in Occult HBV Infection. **Hepat Res Treat**., 2011.

MOTTA J. S., MELLO F. C., LAGO B. V., PEREZ R. M., GOMES S. A., FIGUEIREDO F. F. Occult hepatitis B virus infection and lamivudine-resistant mutations in isolates from renal patients undergoing hemodialysis. **J Gastroenterol Hepatol** v. 25 n. 1 p. 101-106, 2010.

MOTTA-CASTRO A. R., MARTINS R. M. B., YOSHIDA C. F. T., TELES S. A., PANIAGO A. M., LIMA K. M., GOMES A. S. Hepatitis B virus infection in isolated Afro-Brazilian communities. **J Med Virol** v. 77 p. 188-193, 2005.

MOTTA-CASTRO A. R. C., MARTINS R. M. B., ARAÚJO N. M., NIEL C., FACHOLI G. B., LAGO B. V., MELLO F. C. A., GOMES A. S. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in an isolated Afro-Brazilian community. **Arch Virol** v. 153 p. 2197-2205, 2008.

NIEL C., MORAES M. T. B., GASPAR A. M. C., YOSHIDA C. F. T., GOMES A. S. Genetic diversity of hepatits B virus strains isolated in Rio de Janeiro, Brazil. **J Med Virol** v. 44 p. 180-186, 1994.

OCANA S., CASAS M. L., BUHIGAS I., LLEDO J. L. Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection. **World J Gastroenterol** v. 17, n. 12, p. 1553-1557, 2011.

OTT J. J., STEVENS G. A., GROEGER J., WIERSMA S. T. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. **Vaccine** v. 30 n. 12 p. 2212-2219,2012.

PAS S. D., NIESTERS H. G. Detection of HBV DNA using real time analysis. **J Clin Virol** v. 25 n. 1 p. 93-94, 2002.

RAIMONDO G., CACCAMO G., FILOMIA R., POLLICINO T. Occult HBV infection. **Semin Immunopathol** v. 35 n. 1 p. 39-52,2013.

ROMERO M., MADEJÓN A., FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ C., GARCÍA-SAMANIEGO J. Clinical significance of occult hepatitis B virus infection. **World J Gastroenterol** v. 17 n. 12 p. 1549-1552, 2011.

SANTOS A. O., ALVARADO-MORA M. V., BOTELHO L., VIEIRA D. S., PINHO J. R. , CARRILHO F. J., HONDA E. R., SALCEDO J. M. Characterization of hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil. **Virol J** v. 7 p. 315, 2010.

SEDDIGH-TONEKABONI S., WATERS J. A., JEFFERS S., GEHRKE R., OFENLOCH B., HORSCH A., HESS G., THOMAS H. C., KARAYIANNIS P. Effect of variation in the common "a" determinant on the antigenicity of hepatitis B surface antigen. **J Med Virol** v. 60, p. 113-121, 2000.

SHIRE N. J. , ROUSTER S. D., RAJICIC N., SHERMAN K. E. Occult hepatitis B in HIV-infected patients. **J Acquir Immune Defic Syndr** v. 36 n. 3 p. 869-875,2004.

SONG E. Y., YUN Y. M., PARK M. H., SEO D. H. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in a general adult population in Korea. **Intervirology.** v. 52 n. 2 p. 57-62, 2009.
SORIANO V., PUOTI M., PETERS M., BENHAMOU Y., SULKOWSKI M., ZOULIM F., MAUSS S., ROCKSTROH J. Care of HIV patients with chronic hepatitis B: updated recommendations from the HIV-Hepatitis B Virus International Panel. **AIDS** v. 22 p. 1399-1410, 2008.

SUCUPIRA M. V. F., MELLO F. C. A., SANTOS E. A., NIEL C., ROLLA V. C., ARABE J., GOMES S. A. Patterns of hepatitis B virus infection in Brazilian human immunodeficiency virus infected patients: high prevalence of occult infection and low frequency of lamivudine resistant mutations. **Mem Inst Oswaldo Cruz** v. 101 n. 6 p. 655-660, 2006.

SVICHER V., CENTO V., SALPINI R., MERCURIO F., FRAUNE M., BEGGEL B., HAN Y., GORI C., WITTKOP L., BERTOLI A., MICHELI V., GUBERTINI G., LONGO R., ROMANO S., VISCA M., GALLINARO V., MARINO N., MAZZOTTA F., DE SANCTIS G. M., FLEURY H., TRIMOULET P., ANGELICO M., CAPPIELLO G., ZHANG X. X., VERHEYEN J., CECCHERINI-SILBERSTEIN F., PERNO C. F. Role of hepatitis B virus genetic barrier in drug-resistance and immune-escape development. **Dig Liver Dis**. v. 43 n. 12 p. 975-983,2011.

TAMURA K., DUDLEY J., NEI M., KUMAR S. MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. **Mol Biol Evol** v. 24 n.8 p. 1596-1599,2007.

TATEMATSU T., TANAKA Y., KURBANOV F., SUGAUCHI F., MANO S., MAESHIRO T., NAKAYOSHI T., WAKUTA M., MIYAKAWA Y., MIZOKAMI M. A Genetic Variant of Hepatitis B virus Divergent from Known Human and Ape Genotypes isolated from a japonese patient and provisionally assigned to new genotype J. **J of Virology** v. 22 n. 4 p. 10538–10547, 2009.

THOMPSON J. D., GIBSON T. J., PLEWNIAK F., JEANMOUGIN F., HIGGINS D. G. The Clustal_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence aligment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Res** v. 25 p. 4876-4882, 1997.

VIANA S., PARANA R., MOREIRA R. C., COMPRI A. C., MACEDO V. 2005. High prevalence of hepatitis B virus and hepatitis D virus in the western Brazilian Amazon. **Am J Trop Med Hyg** v. 73 p. 808-814, 2005.

WEBER B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. **J Clin Virol** v. 32 p. 102-112, 2005.

WITJES C. D., IJZERMANS J. N., VAN DER EIJK A. A., HANSEN B. E., VERHOEF C., DE MAN R. A. Quantitative HBV DNA and AST are strong predictors for survival after HCC detection in chronic HBV patients. **Neth J Med.** v.69 n. 11 p. 508-513, 2011.

WHO (World Health Organization) 2012. Hepatitis B. Fact sheet n°204. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> Acesso em: 18 de setembro de 2012.

ZAAIJER H. L., TORRES P., ONTAÑÓN A., PONTE L. G., KOPPELMAN M. H. G. M., LELIE P. N., HEMERT F. J., BOOT H. J. Multiple surface antigen mutations in five blood donors with occult hepatitis B virus infection. **J Med Virol** v. 80 n. 8 p. 1344–1349, 2008.

ISOLAMENTO DE *ESCHERICHIA COLI* EM AMOSTRAS DE CARNE BOVINA: PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS

Laís Guerra PRADO[1]; Rafael Serejo Fonseca ZAGHLUL[2]; Django Fabiano Gomes Bessa GADELHA[2]; Murillo Duarte SILVA[3]; Cecília Nunes MOREIRA[4]

Campus Jataí/UFG, curso de Medicina Veterinária

e-mails: laiss_guerra@hotmail.com; cissanm@yahoo.com.br

[1] Bolsista de Iniciação Científica, PIVIC, discente do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Rodovia BR 364, Km 192 n# 3.800 - Pq. Industrial, Caixa Postal 03 - Jataí-GO-Brasil. CEP: 75801-615.

[2] Discentes do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Rodovia BR 364, Km 192 n# 3.800 - Pq. Industrial, Caixa Postal 03 - Jataí-GO-Brasil. CEP: 75801-615

[3] Discente do curso de Biomedicina, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Rodovia BR 364, Km 192 n# 3.800 - Pq. Industrial, Caixa Postal 03 - Jataí-GO-Brasil. CEP: 75801-615

[4] Professora Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Rodovia BR 364, Km 192 n# 3.800 - Pq. Industrial, Caixa Postal 03 - Jataí-GO-Brasil. CEP: 75801-615 *Autor para correspondência: cissanm@yahoo.com.br

RESUMO

A infecção por *E.coli* verotoxigência (VTEC) se refere a todas as amostras capazes de produzir dois tipos de toxinas (VT1 e/ou VT2), causadoras em humanos de doenças graves como Colite hemorrágica e Síndrome Hemolítica Urêmica. Um dos principais alimentos envolvidos na transmissão desses patógenos é a carne mal cozida. O cozimento completo da carne é uma medida de proteção importante, já que a contaminação dessa carne pode ocorrer durante o abate, e após o abate, durante o processamento, transporte, armazenamento ou pela contaminação cruzada com micro-organismos encontrados no ambiente. Foram analisadas 58 amostras de carne bovina moída comercializadas no município de Jataí, para isolamento de cepas de *E. coli* para posterior caracterização molecular quantos aos genes *stx1, stx2,* confirmando a presença de *E. coli* verotoxigênicas nestes produtos. Foram avaliados prováveis fatores de risco associados à contaminação por *E. coli* desses alimentos. De cada estabelecimento foram obtidas duas amostras, a primeira de músculo e a segunda de coxão mole. Em 100% das amostras analisadas isolou-se *E. coli,* o Número mais provável variou de variando de 38 NMP/g a 1100NMP/g para coliformes totais, de 6,2 NMP/g a 1100 NMP/g para coliformes fecais, de 6,2 NMP/g a 1100 NMP/g para coliformes termotolerantes. Os

Texto Revisado pelo Orientador

resultados obtidos sugerem que as amostras de carne bovina moída analisadas encontravam-se com irregularidades nas condições higiênico-sanitárias o que implica em condições insatisfatórias de exposição, manipulação e comercialização do produto.
Palavras-chave: VTEC, qualidade microbiológica da carne, stx1, stx2

1. Introdução

A E. coli é um importante patógeno envolvido em doenças entéricas dos animais domésticos e quadros de toxinfecção alimentar em humanos. Embora as infecções causadas por *E. coli* verotoxigênicas, em bovinos, tenham começado a serem amplamente estudadas, existem poucos relatos que descrevem as reais correlações genéticas existentes na cadeia epidemiológica das colibaciloses para esta espécie animal, assim como a transmissão do agente através da água, leite, carne e outros alimentos contaminados pelas fezes bovinas. *E. coli* verotoxigênica (VTECs) se refere a todas as amostras capazes de produzir dois tipos de toxinas que apresentam efeito citotóxico em cultura de células Vero, VT1 e/ou VT2 também conhecidas como Toxina *Shiga-like* (Stx) (Orden, 2002). No Brasil, vários estudos detectaram a ocorrência de VTEC patogênicas para humanos em bovinos e alimentos de origem animal (Farah et al., 2007; Timm et al., 2007; Oliveira et al., 2008). Além disso, há confirmação (Moreira et al., 2011) da presença de bovinos como reservatórios de VTEC em Goiás, mas são poucos os estudos sobre a prevalência de VTEC nos alimentos na região central do Brasil, tornando evidente a confirmação de que bovinos são importantes reservatórios de VTECs em Goiás com alto risco de contaminação da carcaça no momento do abate.

A infecção por VTEC ocorre geralmente após a ingestão de alimentos (Gobert et al., 2008;Viscardi et al., 2008) ou água contaminados. Os principais alimentos envolvidos na transmissão desse patógeno são carnes mal cozidas,leites não pasteurizados e derivados e vegetais contaminados. O cozimento completo da carne é uma medida de proteção importante,mas não suficientes por si mesmas,uma vez que a contaminação pode ocorrer após esses procedimentos. A composição da carne é complexa e oferece um meio ideal para a multiplicação bacteriana. A contaminação dessa carne pode ocorrer durante o abate, e após o abate,durante o processamento,transporte,armazenamento ou pela contaminação cruzada com micro-organismos encontrados no ambiente,superfície,utensílios e equipamentos (Skandamis et al., 2009)

A limpeza e o uso de sanificantes adequados em equipamentos e utensílios utilizados na manipulação da carne contribuem para a redução da taxa de sobrevivência da

STEC; entretanto, as superfícies desses equipamentos e utensílios devem estar bem secas, pois a umidade promove a sobrevivência e até a multiplicação desses organismos (Etcheverría et al., 2010).O Brasil como grande produtor, exportador e consumidor de carne bovina deve se preocupar e zelar pela inocuidade de deus produtos.

2. Objetivos

Isolar cepas de *E. coli* a partir de amostras de carne bovina comercializadas no município de Jataí e entorno para posterior caracterização molecular quantos aos genes *stx1, stx2,* confirmando a presença de *E. coli* verotoxigênicas nestes produtos. Avaliar os fatores de risco associados à contaminação por *E. coli* desses alimentos.

3. Metodologia

Foram visitados de forma aleatória estabelecimentos comerciais de carne bovina dos municípios de Jataí e entorno. O número de amostras e estabelecimentos que foram considerados foi calculado utilizando-se o Programa EpiInfo 6.04 (Deam et al., 1994), com base na frequência porcentual esperada de alimentos contaminados por VTEC em diversos estados do Brasil. O critério de inclusão desses estabelecimentos foi o de comercializar carne bovina, e foram escolhidos a partir de uma listagem de todos os estabelecimentos comerciais. Os estabelecimentos e feiras selecionados foram visitados e as amostras adquiridas por meio de compra, foram processadas, manipuladas, pesadas e colocadas em sacos plásticos do próprio estabelecimento. Para identificação das amostras foi preenchido um formulário com descrição da data e hora da coleta, tipo de alimento colhido, informações disponíveis no rótulo das embalagens, anotações sobre as formas de armazenamento e conservação das amostras colhidas, o tipo de inspeção recebida (federal, estadual, municipal ou ausente), dados obtidos por observação sobre a higiene do estabelecimento (utilização de luvas descartáveis para o manuseio dos produtos, limpeza das balanças e bancadas, etc...), para identificação dos fatores de risco de contaminação dos alimentos analisados. Não foi aplicado nenhum tipo de questionário aos funcionários ou proprietários dos estabelecimentos e foi mantido total sigilo sobre a identidade dos estabelecimentos envolvidos no projeto.

3.2 Processamento microbiológico das amostras de carne bovina

De cada estabelecimento foram obtidas duas amostras de carne bovina moída no momento da aquisição, a primeira de músculo e a segunda de coxão mole. As mesmas foram acondicionadas em recipiente isotérmico contendo gelo e devidamente fechadas, o tempo

decorrido entre a coleta e inicio das análises não ultrapassou 3 horas. As amostras foram processadas de acordo com o manual de métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água (Mapa, 2003). Após a pesagem e o processamento das amostras em Stomacher higienizado, essa foi a diluição 10^{-1}. Para o teste presuntivo, a partir destas, foram feitas as diluições 10^{-2} e 10^{-3} em tubos contendo 9 mL de água salina peptonada 0,1%. Para realização dos testes presuntivos foram inoculados 10 volumes a partir da diluição 10^{-1} em uma série de 3 tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio 0,1% (LST) em concentração dupla correspondendo a diluição 10^{0}. Em seguida foram inoculadas 1 mL da diluição 10^{-1} em tubos contendo caldo LST 0,1% em concentração simples. A partir da diluição 10^{-1} foi transferido1 mL para um tubo contendo 9 ml de caldo LST perfazendo a diluição 10^{-2}, após obtenção da diluição foram transferidos 1 ml da diluição para a terceira série de 3 tubos. Após realização das diluições, os tubos foram incubados a 38 º C por 24 a 48 horas. Atingidas as 24-48 horas os tubos contendo gás no tubo de *Duhran* foram considerados positivos da mesma forma os que não possuíam gás foram considerados negativos. Para o teste confirmativo de coliformes fecais, a partir de cada tubo LST positivo foram repicadas para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile 2% lactose com tubos de *Durham* invertidos. Os tubos foram incubados a 36ºC por 24 a 48 horas, realizou-se leitura após esse período, observando o crescimento com a presença de gás no tubo de *Durham*. Para o teste confirmativo para coliformes termotolerantes, Os tubos contendo verde brilhante bile 2% lactose que forem positivos foram repicados para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC), incubadas a 45ºC por 24 a 48 horas em banho maria com agitação ou circulação de água. Após decorrido o tempo foram realizadas as leituras dos tubos positivos, sendo caracterizados por presença de gás nos tubos de Duhran. A incubação dos tubos foi feita sempre se utilizando um controle positivo de *E. coli* e um de *Enterobacter* aerogenes como controle negativo, já que nestas condições de incubação só as *E. coli* produzem gás. Nos casos de formação de gás nos tubos de *Durham*, foram anotados os números de tubos positivos e determinados o numero mais provável (NMP) de microrganismos termotolerantes utilizando tabelas apropriadas. Os tubos positivos passaram aos testes subsequente. Para seleção de colônias e testes bioquímicos, a partir de cada tubo positivo, uma alçada de amostra foi estriada em placas de ágar MacConkey e incubada a 37ºC por 24 hs. Posteriormente foram selecionadas três a cinco colônias sugestivas com características morfotintoriais de *E. coli* para confirmação através dos testes IMViC (Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e utilização de citrato). Cada isolamento de *E. coli* foi estocado a temperatura ambiente ágar nutriente fosfatado, para realização posterior dos testes de caracterização genotípica.

4. Resultados

Foram analisadas 58 amostras de carne provenientes de 26 estabelecimentos comerciais. Em 100% delas foram isoladas *E .coli.* As amostras de carne de músculo ou coxão mole apresentaram-se na mesma proporção de contaminação. As porcentagens das amostras contaminadas estão relacionadas no quadro 01 e os valores de NMP de cada amostra estão relacionados no quadro 02. Mas o NMP revelou que estes valores indicaram um alto índice de contaminação por *E. coli* em carne bovina quando comparados a estudos de outras regiões.

Quadro 1: Porcentagem de amostras em relação ao NMP de coliformes totais, fecais e termotolerantes em amostras de carne bovina moída

NMP	Coxão mole			Músculo		
	CT	**CF**	**CTO**	**CT**	**CF**	CTO
>1100	95%	62%	57%	95%	62%	62%
38	5%	4,7%	4,7%	5%	0%	0%
36	0%	4,7%	14,2%	0%	0%	9,5%
240	0%	4,7%	4,7%	0%	4,7%	4,7%
35	0%	4,7%	0%	0%	0%	0%
16	0%	4,7%	4,7%	0%	4,7%	0%
43	0%	0%	0%	0%	4,7%	4,7%
15	0%	4,7%	0%	0%	4,7%	4,7%
11	0%	0%	4,7%	0%	0%	0%
6,2	0%	0%	0%	0%	4,7%	4,7%
64	0%	4,7%	4,7%	0%	9,5%	9,5%
20	0%	4,7%	4,7%	0%	0%	0%
290	0%	0	0%	0%	4,7%	0%

CT.:Coliformes Totais; CF.: Coliformes Fecais; CTO.: Coliformes Termotolerantes

Quadro 2 – Valores de NMP de Coliformes totais e termotolerantes em 58 amostras de carne moída bovina, divididas em coxão mole e músculo

Amostras	Coxão mole (NMP/100ml)		Musculo (NMP/100ml)	
	Coliformes Totais	**Coliformes Termotolerantes**	**Coliformes Totais**	**Coliformes Termotolerantes**
1	>1100	36	>1100	>1100
2	>1100	>1100	>1100	>1100
3	>1100	>1100	>1100	>1100
4	>1100	>1100	>1100	>1100
5	>1100	>1100	>1100	>1100
6	>1100	240	>1100	240
7	>1100	>1100	>1100	>1100
8	>1100	>1100	>1100	>1100
9	>1100	240	>1100	240
10	>1100	38	>1100	6,2
11	>1100	>1100	>1100	36
12	>1100	64	>1100	>1100
13	>1100	>1100	>1100	>1100
14	>1100	>1100	>1100	36
15	>1100	>1100	>1100	>1100
16	>1100	36	>1100	>1100
17	38	20	38	64
18	>1100	16	>1100	64
19	>1100	36	>1100	>1100
20	>1100	>1100	>1100	>1100
21	>1100	>1100	>1100	15

Durante a visita aos açougues, foram analisadas as condições de higiene do local, como as condições do moedor (se havia sobras ou retalhos de carne), pesagem da carne na balança com ou sem saco plástico, uso de luvas, entre outros. O resultado da análise está relacionado no Quadro 03.

Quadro 03: Porcentagem de estabelecimentos com as condições de higiene analisadas por observação no momento da aquisição das amostras de carne

Condições de higiene do local	**Porcentagem de estabelecimentos**
Não utilização de luvas para o manuseio da carne	63,5%
Utilização de luvas para o manuseio da carne	44,5%
Pesagem de carne no saco plástico	93%
Pesagem de carne sem saco plástico	7%
Moedor sujo	27%
Animais no ambiente	6%

5. Discussão

Em 100% das amostras analisadas, independente de se tratar de carne moída bovina de músculo ou de coxão mole, foram isoladas *E. coli* com NMP variando de 38 NMP/g a 1100NMP/g para coliformes totais, de 6,2 NMP/g a 1100 NMP/g para coliformes fecais, de 6,2 NMP/g a 1100 NMP/g para coliformes termotolerantes . Estes resultados foram superiores aos encontrados por Lucatelli (2012), que em São Paulo encontraram a ocorrência de *E. coli* em carne moída comercializada no varejo de São Paulo de 0,4% entre 248 amostras analisadas. Em outro trabalho realizado no Rio grande do Sul, 8,9% das amostras de carne moída analisadas apresentaram níveis inaceitáveis para contagem de coliformes termotolerantes (Dias et al., 2009).

Com relação aos fatores de risco, os estabelecimentos visitados apresentavam condições baixas de higiene como a não utilização de luvas e moedor sujo o que podem ter contribuído para os elevados índices encontrados. Já em estudos onde os açougues apresentavam condições de higiene aparentemente aceitáveis, apesar de na maioria deles, haver sobras de carne nos moedores a prevalência foi bem menor (Lucatelli, 2012).

Com relação a contaminação pelo método do Número Mais Provável (NMP), nossos valores foram semelhantes aos encontrados por (Ferreira & Simm, 2012) e , que verificaram em amostras no Pará, que seus valores variaram de 3NMP/g à > 1.100NMP/g. Neste estudo, as amostras de carne moída no momento da aquisição e de carne pré-moída, mostraram pouca diferença quanto à contaminação microbiológica. Ambas apresentaram presença de altas contagens de coliformes, tanto totais quanto termotolerantes, o que aponta para possíveis falhas nos procedimentos higiênico-sanitários ao longo da cadeia produtiva e de distribuição deste produto. Também foram iguais aos encontrados por (Dias et al.,2009)

6. Conclusões

Os resultados obtidos sugerem que as amostras de carne bovina moída analisadas encontravam-se com irregularidades nas condições higiênico-sanitárias o que implica em condições insatisfatórias de exposição, manipulação e comercialização do produto. O estudo demonstrou que a carne bovina moída comercializada em Jataí não apresenta a qualidade higiênico-sanitária, em termos de coliformes termotolerantes, exigida pela legislação brasileira para esses parâmetros. Foi evidenciada a necessidade de um controle mais rigoroso no aspecto higiênico-sanitário desde a produção, no armazenamento e na distribuição da carne e a identificação e correção de pontos falhos do processo.

7. Considerações finais

O presente trabalho alcançou os objetivos propostos já que isolou cepas de *E. coli* de amostras de carne bovina moída comercializada em Jataí para posterior investigação da presença de STEC nestes alimentos. A elevada taxa de contaminação das amostras impressionou os pesquisadores, que em projetos anteriores já haviam confirmado que o bovino no estado de Goiás é um importante reservatório de cepas STEC patogênicas para humanos. Era esperada maior contaminação das amostras de carne provenientes do coxão mole, visto a proximidade com a porção final do intestino do animal o que poderia acarretar maior contaminação durante o processo de abate. Mas tal hipótese não se confirmou visto que as amostras provenientes do músculo e do coxão mole apresentaram taxas semelhantes de contaminação. Foi possível confirmar que amostras de carne bovina comercializadas em Jataí estão sendo contaminadas em algum ponto do seu processamento, tornando essencial que o controle higiênico-sanitário deste alimento seja iniciado com o animal vivo, durante o processo de abate e processamento dessas amostras nos frigoríficos e açougues, para que o produto chegue à mesa do consumidor com uma qualidade microbiológica segura, dessa forma minimizando riscos de enfermidades potencialmente graves para o homem.

Apoio Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. E Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás – FAPEG.

Referências

1. DEAM, A.G.; DEAM, J.A.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K.A.; SMITH, D.C.; BURTON, A. H.; DICKER, R.C.; SULLIVAN, K.; FAGAN, R.F.; ARNER, T.J. **Epi info version 6.0. A word processing, database, and statistics program for**

epidemiology on microcomputers. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA., 1994.

2. DIAS, P.A.; CONCEIÇÃO, R.C.S.; COELHO,F.J.O.; TEJADA, T.S.; SEGATTO, M.; TIMM, C.D. Qualidade Higiênico-Sanitária de Carne Bovina Moída e de Embutidos Frescais Comercializados no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.3, p.359-363, 2008.

3. ETCHEVERRÍA, A.I.; PADOLA, N.L.; SANZ, M.E.; POLIFRONI, R.; KRUGUER, A.; PASSUCCI, J.; RODRÍGUEZ, E.M.; TARABORELLI, A.L.; BALLERIO, M.; PARMA, A.E. Ocurrence of Shiga-toxine *Escherichia Coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. **Meat Science**, Oxford, v.86, p.418-421, 2010.

4. FARAH, S.M.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O.; IRINO, K, SILVA, L.R.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.; PIGATTO, C.P.; FADEL-PICHETH, C.M. Phenotypic and genotypic traits of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from beef cattle from Paraná State, southern Brazil. **Letters in Applied of Microbiology,** Oxford**,** v.44, n.6, p.607-612, 2007.

5. FERREIRA, R.S.; SIMM, E.M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de minas/MG. **SynThesis Revista Digital**, Pará de Minas, n.3, p.37 - 61, 2012.

6. GOBERT, A.P.; COSTE, A.; GUZMAN, C.A.; VAREILLE, M.; HINDRÉ, T.; DESABLET, T.; GIRARDEAU, J-P.; MARTIN, C. Modulation of chemokine gene expression by Shiga-toxine *Escherichia Coli* belonging to various origins and serotypes. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, Paris, v.10, p.159-165, 2008.

7. LUCATELLI, A. ***Escherichia Coli*** **produtora de toxina de Shiga em carne moída comercializada na cidade de São Paulo, SP.** 2012. 56f. Dissertação (Mestrado em Bromatologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

8. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.** Instrução Normativa Nº 62, 76f. 2003. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851. Acesso em: 10 mar. 2012.

9. MOREIRA, C.N.; FREITAS-FILHO, E.G.; MORAIS, L.C.S.; FERREIRA, M.R.A.; NAVES PINTO, J.F.; MOREIRA, A.N.; SILVA, A.H.G.; CONCEIÇÃO, F.R.

Caracterização e prevalência de *E. coli* produtoras de shiga toxinas (stec) em bovinos leiteiros na região sudoeste do estado de Goiás. **Veterinária e Zootecnia,** São Paulo, v.18, n.3, p.815-818, 2011.

10. OLIVEIRA, M.G.; BRITO, J.R.; GOMES, T.A.; GUTH, B.E.; VIEIRA, M.A.; NAVES, Z.V.; VAZ, T.M.; IRINO, K. Diversity of virulence profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes in food-producing animals in Brazil**. International Journal of Food Microbiology,** Amsterdam, v.127, n1-2, p.139-146, 2008.
11. ORDEN, J.A.; CID, D.; RUIZ-SANTA-QUITERIA, J.A.; GARCIA, S.; MARTINEZ, S.; DE LA FUENTE, R. Verotoxin-producing Escherichia coli (VTEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and necrotoxigenic *E. coli* (NTEC) isolated from healthy cattle in Spain. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.93, n.1, p.29-35, 2002.
12. SKANDAMIS, P.N.; STOPFORTH, J.D.; ASTHON,L.V.; GEORNARAS, I.; KENDALL, P.A.; SOFOS, J.N. *Escherichia Coli* 0157:H7 survival, biofilm formation and acid tolerance under simulated slaughter plant moist and dry conditions. **Food Microbiology,** London**,** v.26, p.112-119, 2009.
13. TIMM, C.D.; IRINO, K.; GOMES T.A.T.; VIEIRA, M.M.; GUTH, B.E.C.; VAZ, T.M.I.; MOREIRA, C.N.; ALEIXO, J.A.G. Virulence markers and serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, isolated from cattle in Rio Grande do Sul, Brazil. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.44, p.419-425, 2007.
14. VISCARDI, M.; PERUGINI, A.G.; AURIEMMA, C.; CAPUANO, F.; MORABITO,S.; KIM, K-P.; LOESSNER, M.J.; IOVANE, G. Isolation and characterization of two novel coliphages with high potetional to control antibiotic-resistent pathogenic *Escherichia Coli*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.31, p.152-157, 2008.

Uma prova geométrica para o Teorema de Cantor sobre números irracionais, o Teorema de Gelfond-Schneider e uma aplicação *

Paulo Henrique de Azevedo Rodrigues - Orientador

Instituto de Matemática e Estatística, UFG, CEP 74001970, Campus Samambaia, Goiânia, GO, Brasil

E-mail: paulo_rodrigues@ufg.br

Karla Carolina Vicente de Sousa - Orientanda

Instituto de Matemática e Estatísitca, UFG, CEP 74001970, Campus Samambaia, Goiânia, GO, Brasil

E-mail: karlakcvs@gmail.com

11 de setembro de 2013

Resumo

Seja $\theta := a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \frac{a_1 a_2}{b_1 b_2} + \cdots$ uma série de Cantor e suponha que cada número primo divida infinitos b_n. Neste trabalho provaremos que para que θ seja um número irracional é necessário e suficiente que $a_n > 0$ e $a_n < b_n - 1$ ocorram inifitas vezes. Uma vez mostrado um resultado acerca de números irracionais, partimos para o estudo do conjunto dos números transcendentes, conjunto este formado por números irracionais. Assim, apresentamos também a demonstração do Teorema de Gelfond-Schneider, que diz que sendo α um número algébrico diferente de zero e de um, e β um algébrico não racional real, teremos α^β transcendente. E por último mostramos uma aplicação do Teorema de Gelfond-Schneider e da Teoria de Galois em uma proposição que trata da densidade dos números algébricos da forma $P(T)^{Q(T)}$, para polinômios não constantes, com $P(x), Q(x) \in \mathbb{Q}[x]$ e T transcendente, sobre algum subconjunto conexo de dos reais e sobre algum subconjunto conexo dos complexos.

Palavras-Chave: Números Transcendentes, Irracionalidade, Gelfond-Schneider.

*Revisado pelo Orientador

1 Introdução

Apesar do certo domínio que existe sobre os conjuntos dos números racionais e algébricos, que por sinal constituem corpos, o que sobra, que são os irracionais e os transcendentes, respectivamente, não são, digamos, uma sobra enumerável. Estes dois conjuntos constituem a maior parte dos elementos do conjunto dos números reais e deram dores de cabeça a matemáticos de diversos séculos. Desde meados do século XVIII existe um fascínio por parte dos matemáticos pelos números transcendentes. Afinal, como não se interessar por um conjunto numérico tão misterioso e ao mesmo tempo tão presente na investigação de problemas matemáticos? Foram nomes como Cantor, Hilbert, Euler e Louiville que mais contribuíram ao que chamamos de teoria dos números transcendentes e para o estudo dos números irracionais. Como se não bastasse, alguns destes deixaram problemas sem solução para os futuros matemáticos, como foi o caso de Hilbert através do 7º problema proposto por ele em 1900, que mais tarde foi resolvido independentemente por Gelfond e Schneider e que hoje é conhecido como o Teorema de Gelfond-Schneider, que trata da natureza algébrica da potenciação de números e que nos mostrou uma nova cara de diversos números transcendentes.

Este trabalho tem como objetivo principal o estudo de alguns conceitos e resultados sobre números irracioanais, donde apresentamos o Teorema de Cantor sobre números irracionais, e também o estudo de um pouco da Teoria dos números transcedentes, apresentando assim um resultado clássico que é o, já comentado, Teorema de Gelfond-Schneider e uma aplicação do mesmo.

2 Metodologia e Estratégia de Ação

Como é comum em pesquisa em matemática, a metodologia utilizada foi a pesquisa bibliografica. Sendo assim, na primeira parte da pesquisa o foco foi o conjunto dos números irracionais e assim foram estudados os artigos de Jonathan Sondow [6], onde ele demonstra geometricamente a irracionalidade no número e, e o artigo de Diego Marques [7], que baseado na construção feita na demonstração de Sondow, prova o Teorema de Cantor sobre números irracionais. Além disso, foram utilizados como livros de apoio os livros de Ivan Niven, "Numbers: Rational and Irrational", [4], e Djairo Figueiredo, "Números irracionais e transcendentes", [3], onde o último foi estudado detalhadamente, por conta de suas inúmeras demonstrações acerca de irracionalidade e transcendência, como por exemplo, as provas da irracionalidade e trans-

cendência dos números e, π e dos números de Loiville. O livro de Figueiredo também serviu como elo de transição para a segunda parte do trabalho, que foi o estudo dos números transcendentes. Seguimos com a leitura e compreensão do Teorema de Gelfond-Schneider, cuja demonstração foi estudada pelo livro "Irrational Numbers", de Ivan Niven [5]. E, por último foi estudado outro artigo de Diego Marques [9], desta vez tratando de uma aplicação do Teorema de Gelfond-Schneider e da Teoria de Galois.

3 Resultados e Discussão

Um número é dito algébrico (nos referiremos ao conjunto dos números algébricos por $\overline{\mathbb{Q}}$) quando este é raíz de algum polinômio com coeficientes racionais, ou seja, quando este satisfaz uma equação polinimial com coeficientes inteiros. Um número que não é algébrico é chamado transcendente. O número de Euler e e o número π são exemplos de números transcendentes. Apesar de parecer difícil encontrar número transcentendes (tão pouco citá-los), este conjunto é não-enumerável, tanto no corpo dos reais quanto no corpo dos complexos, enquanto que o conjunto dos números algébricos é enumerável. Sabemos que todo número racional é algébrico e com isso temos que todo número transcendente deve ser irracional. O mistério no estudo deste conjunto é a ausência da recíproca deste fato, ou seja, nem todo número irracional é transcendente (por exemplo, $\sqrt{2}$ é algébrico, pois é raíz da equação polinomial $x^2 - 2 = 0$, por outro lado é um número irracional).

Quando se estuda números transcendentes se está também estudando números irracionais e a dificuldade de classificar um número como transcendente ou algébrico é tão grande quanto a de classificá-lo como irracional ou racional. Como todo número pode ser expresso como uma série de Cantor, o resultado seguinte nos mostra uma outra maneira de classificar um número como irracional ou não, olhando para alguma série de Cantor que converge para tal.

3.1 O Teorema de Cantor

Definição 3.1 *Sejam $a_0, a_1, \ldots, b_1, b_2, \ldots$ uma sequência de inteiros que satisfaz as inequações $b_n \geq 2$, e $0 \leq a_n \leq b_n - 1$, se $n \geq 1$. Então a série convergente*

$$\theta := a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \frac{a_1 a_2}{b_1 b_2} + \cdots \tag{1}$$

é chamada série de Cantor.

Teorema 3.1 *(Cantor) Seja θ uma série de Cantor. Suponha que cada primo divida infinitos b_n. Então θ é irracional se, e somente se, $a_n > 0$ e $a_n < b_n - 1$ ocorrem infinitas vezes.*

Demonstração: Primeiramente suponha θ irracional. Se $a_n = 0$ para $n \geq n_0$, ou seja, $a_n > 0$ ocorresse uma quantidade finita de vezes, teríamos

$$\theta := a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \frac{a_1 a_2}{b_1 b_2} + \cdots + \frac{a_{n0}}{b_1 b_2 \cdots b_{n0}}, \tag{2}$$

e assim θ seria uma soma finita de racionais, resultando em um racional. Contradizendo, assim, nossa hipótese. Então, de fato, $a_n > 0$ ocorre infinitas vezes. Dessa forma vamos construir uma sequência de intervalos fechados e encaixados I_n, de modo que

$$\bigcap_{i=1}^{n} I_i = \theta.$$

Defina $I_1 = \left[a_0 + \frac{a_1}{b_1}, a_0 + \frac{a_1+1}{b_1}\right]$ e proceda indutivamente para com os outros intervalos. Dessa forma temos duas possibilidades, $a_n = 0$ e $a_n > 0$. Se $a_n = 0$ defina $I_n = I_{n-1}$ e quando $a_n > 0$ divida o intervalo I_{n-1} em $b_n - a_n + 1 (\geq 2)$ subintervalos, o primeiro com comprimento $\frac{a_n}{b_1 \cdots bn}$ e os outros com comprimento $\frac{1}{b_1 \cdots b_n}$ e deixe o primeiro dentre estes últimos ser I_n. Assim, $|I_n| \geq \frac{1}{b_1 \cdots b_n}$, para todo $n \in \mathbb{N}$, sendo que a desigualdade estrita só ocorrerá quando $a_n = 0$, pois nesse caso $|I_n| = |I_{n-1}| = \frac{1}{b_1 \cdots b_{n-1}} > \frac{1}{b_1 \cdots b_n}$. Já que $a_n > 0$ ocorre infinitas vezes, é fato que $|I_n| = \frac{1}{b_1 \cdots b_n}$ infinitas vezes. E neste caso, temos que

$$I_n = \left[a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_n}{b_1 b_2 \cdots b_n}, a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_n + 1}{b_1 b_2 \cdots b_n}\right] = \left[\frac{A_n}{b_1 b_2 \cdots b_n}, \frac{A_n + 1}{b_1 b_2 \cdots b_n}\right],$$

sendo $A_n \in \mathbb{N}$. Temos por construção que $\theta \in I_n$, para todo $n \geq 1$. Assim, $\frac{A_n}{b_1 b_2 \cdots b_n} \leq \theta \leq \frac{A_n+1}{b_1 b_2 \cdots b_n}$. É fácil ver que $\theta > \frac{A_n}{b_1 b_2 \cdots b_n}$, pois caso contrário θ seria um racional, pois seria igual a uma soma finita de racionais.

Ainda nos resta provar que $a_n < b_n - 1$ ocorre infinitas vezes. Pela Definição 3.1, sabemos que $a_m \leq b_m - 1$, para todo $m \geq 1$, portanto

$$b_1 \cdots b_n \left(\theta - \left(a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_n}{b_1 b_2 \cdots b_n}\right)\right) \leq 1. \tag{3}$$

Para provar a equação (3) veja que, já que $b_m > 0$, podemos dividir ambos os lados da desigualdade dita anteriormente por b_m, ficando com $\frac{a_m}{b_m} \leq 1 - \frac{1}{b_m}$ e usando o mesmo argumento podemos dividir

ambos os lados por $b_1 \cdots b_{m-1}$, resultando em $\frac{a_m}{b_1 \cdots b_m} \leq \frac{1}{b_1 \cdots b_{m-1}} - \frac{1}{b_1 \cdots b_m}$. Já que θ é uma série como em (colocar eq 1.1) e $a_n > 0$ ocorre infintas vezes temos que

$$\theta - \left(a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_n}{b_1 b_2 \cdots b_n}\right) = \frac{a_{n+1}}{b_1 \cdots b_{n+1}} + \frac{a_{n+2}}{b_1 \cdots b_{n+2}} + \cdots .$$

Substituindo cada uma das frações $\frac{a_i}{b_1 \cdots b_i}$ por $\frac{1}{b_1 \cdots b_{i-1}} - \frac{1}{b_1 \cdots b_i}$, $i = n+1, n+2, \ldots$, temos

$$\theta - \left(a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_n}{b_1 b_2 \cdots b_n}\right) \leq \frac{1}{b_1 \cdots b_n} - \frac{1}{b_1 \cdots b_{n+1}} + \frac{1}{b_1 \cdots b_{n+1}} - \frac{1}{b_1 \cdots b_{n+2}} + \cdots$$
$$b_1 \cdots b_n \left(\theta - \left(a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_n}{b_1 b_2 \cdots b_n}\right)\right) \leq 1 - \frac{1}{b_{n+1}} + \frac{1}{b_{n+1}} - \frac{1}{b_{n+2}} + \frac{1}{b_{n+2}} + \cdots ,$$

mas $\lim_{j\to\infty} 1 - \frac{1}{b_{n+1} b_{n+2} \cdots b_{n+j}} = 1$ e também $\lim_{j\to\infty} 1 + \frac{1}{b_{n+1} b_{n+2} \cdots b_{n+j}} = 1$ e com isso provamos (colocar equação 1.2). Agora, se supormos, por contradição, que $a_n = b_n - 1$ para $n \geq n_0$ teremos

$$\left(\theta - \left(a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_{n_0-1}}{b_1 b_2 \cdots b_{n_0-1}}\right)\right) = \frac{a_{n_0}}{b_1 \cdots b_{n_0}} + \frac{a_{n_0+1}}{b_1 \cdots b_{n_0+1}} + \cdots$$
$$b_1 \cdots b_{n_0-1} \left(\theta - \left(a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_{n_0-1}}{b_1 b_2 \cdots b_{n_0-1}}\right)\right) = 1 - \frac{1}{b_{n_0}} + \frac{1}{b_{n_0}} - \frac{1}{b_{n_0+1}} + \frac{1}{b_{n_0+1}} + \cdots$$
$$\left(\theta - \left(a_0 + \frac{a_1}{b_1} + \cdots + \frac{a_{n_0-1}}{b_1 b_2 \cdots b_{n_0-1}}\right)\right) = \frac{1}{b_1 \cdots b_{n_0-1}},$$

que é o comprimento do intervalo, e assim θ seria a extremidade direita do intervalo I_{n_0-1}. E novamente θ seria racional, já que extremidade direita deI_{n_0-1} é um número racional. Portanto, de fato, $a_n < b_n - 1$ ocorre infintas vezes. Diante disso, se $a_m < b_m - 1$, então ocorre a desigualdade estrita de (colocar eq 1.2), para todo $n < m$. Uma vez que $a_n > 0$ ocorre infintas vezes,

$$\bigcap_{n=1}^{\infty} I_n = \theta.$$

Agora suponhamos que $a_n > 0$ e $a_n < b_n - 1$ ocorrem infinitas vezes e suponhamos por contradição que $\theta = \frac{p}{q} \in \mathbb{Q}$. Pela hipótese geral, temos que cada primo divide infinitamente muitos b_n, dessa forma já que q ou é um primo ou pode ser escrito como produto de primos existe n_0 suficientemente grande tal que $q | b_1 b_2 \cdots b_{n0}$ e além disso tal que $a_{n0} \neq 0$. Dessa forma $b_1 b_2 \cdots b_{n0} = t \cdot q$, para algum $t \in \mathbb{N}$. Tomando $N \geq n_0$, tal que $a_{N+1} < b_{N+1} - 1$ teremos

$$\left(\theta - \frac{A_N}{b_1 \cdots b_N}\right) > \frac{1}{b_1 \cdots b_N} = \left|\frac{A_N}{b_1 \cdots b_N} - \frac{A_N + 1}{b_1 \cdots b_N}\right|,$$

e θ se encontra no interior de I_N. Já que $N > n_0$, então $I_N = I_{n_0+k}$, para algum $k \geq 0$. Se $k = 0$, podemos escrever $\theta = \frac{t \cdot p}{b_1 \cdots b_{n0}}$, daí $\frac{A_{n0}}{b_1 b_2 \cdots b_{n0}} < \frac{t \cdot p}{b_1 \cdots b_{n0}} < \frac{A_{n0}+1}{b_1 b_2 \cdots b_{n0}}$. O que é um absurdo, já que entre dois números de numeradores consecutivos e mesmo denominador não pode haver outro número de mesmo denominador. Caso $k > 0$, então nós escrevermos $\theta = \frac{t \cdot b_{n_0+1} \cdots b_{n_0+k}}{b_1 \cdots b_{n_0+k}}$ e assim $\frac{A_{n_0+k}}{b_1 \cdots b_{n_0+k}} < \frac{t \cdot b_{n_0+1} \cdots b_{n_0+k}}{b_1 \cdots b_{n_0+k}} < \frac{A_{n_0+k}+1}{b_1 \cdots b_{n_0+k}}$ e novamente temos uma contradição. Portanto, θ é irracional.

◇

Exemplo 3.1 *O número e é uma série de Cantor. Basta tomar $a_0 = 2$, $a_n = 1$ e $b_n = n + 1$, para todo $n \geq 1$. É fácil ver que $a_n > 0$ corre infintas vezes, pois a partir de $n = 1$ temos que a_n é fixo e igual a 1; além disso, $a_n < b_n - 1$ ocorre infintas vezes, já que $a_n = 1 < b_n - 1 = n + 1 - 1 = n$, para todo $n > 1$. Portanto, pelo Teorema 3.1, temos que e é irracional.*

À seguir, faremos a demonstração de um resultado clássico da teoria dos números transcendentes que relaciona números algébricos e transcendentes. Este Teorema, conhecido fortemente como Teorema de Gelfond-Schneider surgiu como consequência da resolução do sétimo problema proposto por David Hilbert em 1900 na conferência do Congresso Internacional de Matemáticos, em Paris.

3.2 O Teorema de Gelfond-Schneider

Teorema 3.2 *(Gelfond-Schneider) Se α e β são números algébricos, com $\alpha \neq 0$, $\alpha \neq 1$, e se β não é um racional real, então α^β é transcendental.*

Dizemos que um número complexo $a+bi$ é um complexo racional se tanto a quanto b forem racionais; caso contrário diremos que $a + bi$ é um complexo irracional. A hipótese "β não é um racional real"é muitas vezes substituída por "β é irracional", mas, na realidade, β pode assumir valores complexos racional, desde que sua parte imaginária não seja nula. Assim, o teorema estabelece a transcendencia de números como 2^i e $2^{\sqrt{2}}$.

Antes de realizarmos a demonstração do Teorema vamos listar alguns lemas essenciais na demonstração do mesmo:

Lema 3.1 *Considere um determinante com um elemento não nulo ρ_j na linha j e na coluna $1 + a$, com $j = 1, 2, \ldots, t$ e $a = 0, 1, \ldots, t - 1$. Esse determinante é chamado determinante de Vandermonde e ele é zero, se, e somente se $\rho_j = \rho_k$ para algum par de índices distintos j, k.*

Lema 3.2 *Sejam α e β números algébricos em um corpo K de grau h sobre os racionais. Se os conjugados de α e β por K são $\alpha = \alpha_1, \alpha_2, \ldots, \alpha_h$ e $\beta = \beta_1, \beta_2, \ldots, \beta_h$, respectivamente, então os conjugados de $\alpha\beta$ e $\alpha+\beta$ são $\alpha_1\beta_1, \ldots, \alpha_h\beta_h$ e $\alpha_1+\beta_1, \ldots, \alpha_h+\beta_h$, respectivamente.*

Lema 3.3 *Se α é um número algébrico, então existe um inteiro positivo r tal que $r\alpha$ é um inteiro algébrico.*

Lema 3.4 *Se K é um corpo de números algébricos de grau h sobre os racionais, então existem inteiros $\beta_1, \beta_2, \ldots, \beta_h$ em K tais que todo inteiro de K pode ser expresso, de maneira única, como uma combinação linear $g_1\beta_1 + g_2\beta_2 + \cdots + g_h\beta_h$, com coeficientes inteiros racionais. Os números β_j constituem uma base integral para K, e o discriminante de cada base é um inteiro racional diferente de zero.*

Lema 3.5 *Se α é um número algébrico em um corpo K de grau h sobre os racionais, então a norma $N(\alpha)$, definida como o produto de α com seus conjudagos, satisfaz a relação $N(\alpha\beta) = N(\alpha) \cdot N(\beta)$. Também $N(\alpha) = 0$ se, e somente se $\alpha = 0$. Se α for um inteiro algébrico, então $N(\alpha)$ é um inteiro racional. Além disso, se α for racional, então $N(\alpha) = \alpha^h$.*

Lema 3.6 *Considere o seguinte sistema com m equações e n incógnitas*

$$a_{k1}x_1 + a_{k2}x_2 + \cdots + a_{kn}x_n = 0, \qquad k = 1, 2, \ldots, m, \tag{4}$$

onde os coeficientes a_{ij} são inteiros e $0 < m < n$. Seja o inteiro positivo A um limite superior para os valores absolutos dos coeficientes de todas as equações do sistema, ou seja, $A \geq |a_{ij}|$, para $i = 1, 2, \ldots, m$ e $j = 1, 2, \ldots, n$. Então existe uma solução de números inteiros, não trivial, $x_1, x_2, \ldots, x_n$ para o sistema (4) *tal que*

$$|x_j| < 1 + (nA)^{\frac{m}{n-m}}, \qquad j = 1, 2, \ldots, n. \tag{5}$$

Lema 3.7 *Considere o sistema com p equações e q incógnitas*

$$\alpha_{k_1}\xi_1 + \alpha_{k_2}\xi_2 + \cdots + \alpha_{k_n}\xi_n = 0, \qquad k = 1, 2, \ldots, p, \tag{6}$$

onde os coeficientes α_{ij} são inteiros em um corpo de números algébricos K de grau finito. Considere $0 < p < q$. Seja $A \geq 1$ um limite superior para os valores absolutos de todos

os coeficientes das equações do sistema e seus conjudados por K, ou seja, $A \geq \|\alpha_{ij}\|$, para $i = 1, 2, \ldots, p$ e $j = 1, 2, \ldots, q$. Então existe uma constante positiva c dependendo do corpo K mas independendo dos α_{ij}, p e q, tal que o sistema (6) *admite uma solução não trivial $\xi_1, \xi_2, \ldots, \xi_q$ nos inteiros do corpo K, satisfazendo*

$$\|\xi_k\| < c + c(cqA)^{\frac{p}{q-p}}, \qquad k = 1, 2, \ldots, p. \tag{7}$$

Demonstração:

Vamos considerar h como sendo o grau do corpo K sobre os racionais. Sabemos pelo Lema 3.4 que existe uma base, chamada base integral, formada por inteiros $\beta_1, \beta_2, \ldots, \beta_h$ em K tal que todo inteiro em K pode ser expresso de maneira única como combinação linear dos elementos da base integral. Dessa forma, se α é um inteiro qualquer de K existem inteiros racionais $g_1, g_2, \ldots, g_h$ tais que

$$\alpha = g_1\beta_1 + g_2\beta_2 + \cdots + g_h\beta_h.$$

Vamos denotar os conjugados de α por K por $\alpha = \alpha^{(1)}, \alpha^{(2)}, \ldots, \alpha^{(h)}$, e os conjudagos de β por $\beta = \beta^{(1)}, \beta^{(2)}, \ldots, \beta^{(h)}$. Expressando os conjugados como combinação linear dos elementos da base integral e usando o Lema 3.2 temos que

$$\alpha^{(i)} = g_1{\beta_1}^{(i)} + g_2{\beta_2}^{(i)} + \cdots + g_h{\beta_h}^{(i)}, \quad i = 1, 2, \ldots, h. \tag{8}$$

Este é um sistema com h equações e h incógnitas que têm uma única solução, pois o determinante dos coeficientes, que na verdade é o discriminante da base integral ($|\beta_j^{(i)}|$) é não-nulo, pelo lema 3.4. Assim, nós podemos resolver o sistema de equações (8) para os g_j como combinação linear dos α_i, com coeficientes dependendo somente da base. Tomando o valor absoluto dos valores de todas essas soluções temos que

$$\| \alpha^{(i)} \| = \sum_{j=1}^{h} |g_j\beta_j^{(i)}| \Rightarrow |g_j| < c_1 \| \alpha \|, \quad j = 1, 2, \ldots, h, \tag{9}$$

onde a constante positiva c_1 depende do corpo K, mas independe de α.

Queremos encontrar uma solução não-trivial para (6) que satisfaça (7). Para isso vamos escrever os ξ_i em termos da base integral, ou seja

$$\xi_i = \sum_{j=1}^{h} x_{ij}\beta_j, \quad i = 1, 2, \ldots, q. \tag{10}$$

Assim, o problema se reduz a encontrar inteiros racionais x_{ij} adequados. As equações (6) podem ser escritas como

$$\sum_{i=1}^{q} \alpha_{ki}\xi_i = \sum_{i=1}^{q}\sum_{j=1}^{h} \alpha_{ki}\beta_j\xi_{ij} = 0 \quad k = 1, 2, \ldots, p. \tag{11}$$

Agora os inteiros $\alpha_{ki}\beta_j$ podem, pelo Lema 3.4, ser expressos em termos da base integral, ou seja,

$$\alpha_{ki}\beta_j = \sum_{r=1}^{h} m_{kijr}\beta_r, \tag{12}$$

onde $k = 1, 2, \ldots, p$, $i = 1, 2, \ldots, q$, $j = 1, 2, \ldots, h$, e os m_{kijr} são inteiros racionais. Assim, (11) torna-se

$$\sum_{i=1}^{q}\sum_{j=1}^{h}\sum_{r=1}^{h} m_{kijr}x_{ij}\beta_r = 0, \quad k = 1, 2, \ldots, p.$$

Como os β_r formam uma base integral para K temos que estes são linearmente independentes sobre os racionais, e assim nós tomamos os coeficientes de cada β_r igual a zero, ou seja

$$\sum_{i-1}^{q}\sum_{j=1}^{h} m_{kijr}x_{ij} = 0, \tag{13}$$

onde $k = 1, 2, \ldots, p$ e $r = 1, 2, \ldots, h$. Agora, temos ph equações e qh incógnitas x_{ij}, e com o objetivo de aplicar o Lema 3.6 precisamos encontrar um limite superior para os valores absolutos dos coeficientes m_{kijr}. Vamos aplicar o resultado encontrado em (9), porém no lugar de α colocaremos $\alpha_{ki}\beta_j$ e ao invés de g_j colocaremos m_{kijr}, e segue que

$$\begin{aligned} |m_{kijr}| < c_1 \parallel \alpha_{ki}\beta_j \parallel &\leq c_1 \parallel \alpha_{ki} \parallel \parallel \beta_j \parallel \\ &\leq c_1 A \parallel \beta_j \parallel \leq c_2 A, \end{aligned} \tag{14}$$

em que A é o limite superior procurado. Além disso, c_2 foi escolhida satisfazendo $c_2 \geq c_1 \parallel \beta_j \parallel$, para todo j e também sendo um inteiro racional. E mesmo que c_2 dependa de A, isso não afeta a ordem de magniturde de c_2: já que $A \geq 1$, o real c_2 pode ser escolhido no interalo

$$1 + c_1 \cdot max \parallel \beta_j \parallel > c_2 \geq c_1 \cdot max \parallel \beta_j \parallel$$

assim $c_2 A$ é um inteiro racional.

Agora aplicando o Lema 3.6 para as equações (13), com ph, qh e $c_2 A$ no lugar de m, n e A,

respectivamente; temos que existe uma solução não trivial de (13) nos inteiros x_{ij} satisfazendo

$$|x_{ij}| < 1 + (qhc_2A)^{\frac{ph}{qh-ph}} = 1 + (qhc_2A)^{\frac{p}{q-p}}. \tag{15}$$

Substituindo esta estimativa em (10) nós encontramos uma solução de (6) que satisfaz

$$\|\xi_i\| = \sum_{j=1}^{h} |x_{ij}|\|\beta_j\| < \sum_{j=1}^{h} (1 + hc_2qA)\|\beta_j\| < h \cdot (1 + hc_2qA) \cdot max\{\|B_j\|\}, \tag{16}$$

e tomando c maior do que hc_2 e maior do que $h \cdot max\{\|\beta_j\|\}$, temos que

$$\|\xi_i\| < c + c(cqA)^{\frac{p}{q-p}}. \tag{17}$$

Observe que c depende do corpo K, mas independe de p, q e α_{ij}; e além disso, temos que ao menos um x_{ij} é não nulo, o que juntamente com o fato de que os β_j são linearmente independentes sobre os racionais implica, por (10) que existe uma solução não trivial para (6). O que finaliza a demonstração.

◇

Além desses lemas, também necessitaremos, na demonstração do Teorema, de alguns conceitos da Análise Complexa, como por exemplo a definiçao de função inteira, que é uma função analítica em todo o plano; e também precisaremos da Fórmula Integral de Cauchy. Essas ideias podem ser encontradas, por exemplo, no livro de Geraldo Ávila, *Variáveis Complexas e aplicações*.

Demonstração: (**Gelfond-Schneider**)

A prova é realizada por contradição, ou seja, vamos supor que existam α e β satisfazendo as hipóteses do teorema e que não satisfazem a tese do mesmo. Assim, vamos supor que $\alpha^\beta \in \overline{\mathbb{Q}}$. Defina $\gamma = \alpha^\beta = e^{\beta log\alpha}$ e K como sendo uma extensão algébrica finita de grau h sobre os racionais que contém α, β e γ. Exibiremos agora uma coleção de expressões simples envolvendo inteiros que de primeiro instância parecerão desconexas, mas que durante a demonstração serão devidamente explicadas:

$$\begin{gathered} m = 2h + 3, \qquad q > 4m^2, \qquad n = \frac{q^2}{2m}, \\ t = q^2 = 2mn, \qquad n > q. \end{gathered} \tag{18}$$

Defina $\rho_1, \rho_2, \ldots, \rho_t$ como os números

$$(r + k\beta)log\alpha, \quad r = 1, 2, \ldots, q, \;\; k = 1, 2, \ldots, q \tag{19}$$

Agora defina a seguinte função inteira

$$F(z) = \sum_{j=1}^{t} \eta_j e^{z\rho_j} \tag{20}$$

onde os n_j são inteiros algébricos no corpo K. Vamos escolher um inteiro racional positivo c_1, convenientemente, de modo que $c_1\alpha$, $c_1\beta$ e $c_1\gamma$ sejam inteiros algébricos (a existência de tal inteiro positivo é garantida pelo Lema 3.3). Então considere as mn equações em $2mn$ incógnitas n_j,

$$c_1^{n+2mq}(log\alpha)^{-a}F^{(a)}(b) = 0, \tag{21}$$

onde $a = 0, 1, \ldots, n-1$ e $b = 1, 2, \ldots, m$.

Iremos aplicar o lema 3.7 para estas equações, mas para que façamos isso nós devemos, primeiramente, verificar se as hipóteses do lema estão satisfeitas. Os coeficientes de n_j em qualquer uma das equações (21) são, por (19),

$$\begin{aligned} c_1^{n+2mq}(log\alpha)^{-a}\rho^a e^{b\rho_j} &= c_1^{n+2mq}(r+k\beta)^a e^{b(r+k\beta)(log\alpha)} \\ &= c_1^{n+2mq}(r+k\beta)^a \alpha^{rb}\gamma kb \end{aligned} \tag{22}$$

Através dessa relação, temos que os coeficientes de η_j no corpo K são inteiros algébricos, pois a última expressão é um polinômio em α, β e γ de grau $a + rb + kb$. Mas os números a, b, r e k são no máximo igual a $n-1, m, q$ e q, respectivamente. Assim, $a + rb + kb \leq n - 1 + mq + mq < n + 2mq$. Então o fator c_1^{n+2mq} garante que (22) é um inteiro algébrico. Para que todas as hipóteses do Lema 3.7 sejam satisfeitas ainda temos que encontrar um limite superior para os valores absolutos dos coeficientes dos η_j em (22) e seus conjugados por K. Com efeito, temos que,

$$\|r + k\beta\| \leq \|r\| + \|k\| \cdot \|\beta\| \leq q + q\|\beta\| = q(1 + \|\beta\|) \tag{23}$$

Defina $c_2 = max\{\|\alpha\|, \|\gamma\|, 1 + \|\beta\|\}$. E podemos dizer que qualquer valor absoluto de qualquer

um dos coeficentes de (22) e seus conjugados é limitado por

$$c_1^{n+2mq}(qc_2)^n c_2^{2mq} = (c_1c_2)^n\{(c_1c_2)^{2m}\}^q(\sqrt{2m})^n n^{n/2},$$

usando o quadro de expressões (18). Defina $c_3 = (c_1c_2)^{2m+1}\sqrt{2m}$, e esse limite pode ser substituído por ${c_3}^n n^{n/2}$, desde que $q < n$. Observe que, como c_1 e c_2, c_3 também não depende de n.

Uma vez satisfeitas as hipóteses, podemos agora aplicar o Lema 3.7 no sistema de equações de (21) com ${c_3}^n n^{n/2}$ no lugar de A, e nós concluímos que esse sistema admite uma solução não-trivial η_j tal que, para todo j,

$$\begin{aligned}\|\eta_j\| &< c + c\{c(2mn)c_3^n n^{n/2}\}^{mn/(2mn-mn)} \\ &= c + 2c^2 mnc_3^n n^{n/2} < 3c^2 mnc_3^n n^{n/2}.\end{aligned}$$

A constante c depende do corpo K, porém independe de n. Como $2^n > n > q > m$, podemos trocar mn por 4^n na última inequação para escrevermos

$$\|\eta_j\| < 3c^2 mnc_3^n n^{n/2} < 3c^2 4^n c_3^n n^{n/2} < (3 \cdot c \cdot 4 \cdot c_3)^n n^{n/2} = c_4^n n^{n/2}, \tag{24}$$

onde c_4 independe de n. Essa solução não-trivial η_j nos inteiros do corpo K das equações (21) é usada em (20), e assim podemos dizer que $F(z)$ está completamente definida.

Lema 3.8 *Existem inteiros positivos $p \geq n$ e B no intervalo $1 \leq B \leq m$ tais que $F^{(a)}(b) = 0$, para $a = 1, 2, \ldots, p-1$, $b = 1, 2, \ldots, m$ e $F^{(p)}(B) \neq 0$.*

Demonstração: As equações (21) nos garantem que se tal inteiro p existe então $p \geq n$ necessariamente, pois como $F^{(a)}(b) = 0$, para todo $a = 0, 1, \ldots, n-1$ e $b = 1, 2, \ldots, m$, temos que se $p < n$ então $p \leq n-1$ e assim $F^{(p)}(B) = 0$, para todo $B = 1, 2, \ldots, m$.

É claro que se exibirmos $p, B \in \mathbb{Z}$ satisfazendo as hipóteses e tais que $F^{(p)}(B) \neq 0$ e $F^{(a)}(b) = 0$, para todo $a = 0, 1, \ldots, p-1$, então finalizamos a demonstração.Com efeito, vamos mostrar que $F^{(a)}(1) \neq 0$ para algum $a = 0, 1, \ldots, t-1$, onde, por (18), $t - 1 = 2mn - 1 \geq n$. Suponhamos, por contradição, que $F^{(a)}(1) = 0$ para todos esses valores, assim

$$F^a(1) = \sum_{j=1}^{t} \eta_j {\rho_j}^a e^{\rho_j} = 0, \quad 0 \leq a \leq t-1.$$

Já vimos que nem todos os η_j são nulos, então nós obtemos um determinante nulo,

$$0 = det\,|{\rho_j}^a e^{\rho_j}| = det\,|{\rho_j}^a| \cdot \prod_j e^{\rho_j} \quad \Rightarrow \quad 0 = det\,|{\rho_j}^a|\,,$$

já que o produtório que aparece acima é diferente de zero para todos os valores de ρ_j.

Pelo Lema 3.1, o fato do determinante de Vandermonde acima se anular implica que existe um par ρ_j, ρ_i, tais que $\rho_j = \rho_i$, para $j \neq i$. Logo, usando (19), temos que

$$(r_i + k_i\beta)log\alpha = (r_j + k_j\beta)log\alpha,$$

e como $\alpha \neq 1$ temos que $log\alpha \neq 0$ e assim

$$(r_i + k_i\beta) = (r_j + k_j\beta) \Longrightarrow \beta = \frac{r_i - r_j}{k_j - k_i} \Longrightarrow \beta \in \mathbb{Q},$$

o que é uma contradição com a hipótese do Teorema de Gelfon-Schneider. Observe que $k_j \neq k_i$, pois caso contrário, teríamos $r_i = r_j$, e assim, $j = i$.

O fato de $F^a(b) = 0$, para todo $a = 0, 1, p-1$ segue imediatamente de (21).

$\diamond$

Agora, vamos usar o Lema 3.8 para definir o valor não nulo

$$\begin{aligned} \zeta = (log\alpha)^{-p}F^{(p)}(B) &= \sum_{j=1}^{t} \eta_j (log\alpha)^{-p} \rho_j^p e^{(B\rho_j)} \\ &= \sum_{j=1}^{t} \eta_j (r + k\beta)^p \alpha^{Br} \gamma^{Br}, \end{aligned} \tag{25}$$

as últimas igualdades são decorrentes de (20) e de (19) e os valores de r e de k no último somatório dependem de j, como em (19), mas essa relação não será necessaria no que segue.

Lema 3.9 *Existe uma constante positiva C, independente de n e de p, tal que*

$$|N(\zeta)| \geq C^{-p}$$

Demonstração: Temos que os η_j são inteiros em K e c_1 é um racional inteiro escolhido tal que $c_1\alpha, c_1\beta, c_1\gamma$ sejam inteiros algébricos em K. Assim, ${c_1}^{p+2mq}\zeta$ é inteiro algébrico em K, usando a última igualdade de (25) e o fato de que q é o máximo valor que r e k podem assumir e m é o máximo valor que B pode assumir. Como $q < n \leq p$ temos que

$${c_1}^{p+2mq} < \{{c_1}^{1+2m}\}^p = {c_5}^p,$$

onde c_5 não depende nem de p e nem de n. Como ${c_5}^p\zeta$ é um inteiro algébrico, pelo Lema (25) temos

que sua norma $N(c_5{}^p\zeta)$ é um inteiro racional e como $c_5{}^p\zeta \neq 0$, então $N(c_5{}^p\zeta) \neq 0$, logo,

$$1 \leq |N(c_5{}^p\zeta)| = |N(c_5{}^p)N(\zeta)| = c_5{}^{ph}|N\zeta|,$$
$$N(\zeta)| = (c_5{}^h)^{-p}$$

O que finaliza a demonstração do Lema, uma vez que h independe de n. ◇

Lema 3.10 *Existe uma constante positiva c, independente de n ou de p, tal que* $\|\zeta\| < c^p p^p$.

Demonstração: Por (25) nós temos que

$$\|\zeta\| \leq t \cdot max\|\eta_j\| \cdot \|r + k\beta\|^p \cdot \|\alpha\|^{Br} \cdot \|\gamma\|^{Br}. \tag{26}$$

Temos que, $q < n \leq p$ e $t = 2mn < 2^n$ para n suficientemente grande. Portanto, nós podemos substituir r, k, B por seus máximos q, q, m, respectivamente, por (19) e (24) para escrever

$$\begin{aligned} \|\zeta\| &< 2^n c_4{}^n n^{n/2}\{q + q\|\beta\|\}^p\{\alpha\|^m \cdot \|\gamma\|^m\}^q \\ &\leq \{2c_4(1 + \|\beta\|)\|\alpha\|^m \cdot \|\gamma\|^m\}^p n^{n/2} q^p. \end{aligned}$$

Também, por (18) temos que

$$q^p = (\sqrt{2m})^p n^{p/2} \leq (\sqrt{2m})^p p^{p/2} \qquad e \qquad n^{n/2} \leq p^{p/2}$$

Usando isso na inequação anterior, temos

$$\|\zeta\| < \{2c_4(1 + \|\beta\|)\|\alpha\|^m \cdot \|\gamma\|^m\sqrt{2m}\}^p p^p = c^p p^p.$$

◇

Pelo Lema 3.8, a função inteira $F(z)$ definida em (20) tem zeros de ordem pelo menos p nos pontos $z = 1, 2, \ldots, m$. Assim $S(z)$ definida como segue é também uma função inteira,

$$S(z) = p!F(z)\prod_{b=1}^{m}(z-b)^{-p}\prod_{b=1,\ b\neq B}^{m}(B-b)^p. \tag{27}$$

Fazendo a expansão de $F(z)$ em uma série de Taylor de potência de $z - B$, temos

$$F(z) = \frac{(z-B)^p F^{(p)}(B)}{p!} + \frac{(z-B)^{p+1}F^{(p+1)}(B)}{(p+1)!} + \ldots, \tag{28}$$

substituindo esta expansão em (27) e fazendo $z = B$, obtemos

$$S(B) = F^{(p)}(B), \qquad \zeta = (log\alpha)^{-p} S(B), \tag{29}$$

sendo a última igualdade oriunda de (25).

Usando a Fórmula integral de Cauchy, temos que

$$S(B) = \frac{1}{2\pi i} \int_C \frac{S(z)}{z - B} dz, \tag{30}$$

para uma curva fechada simples C que envolve o ponto $z = B$. Devemos tomar C como o círculo $|z| = \frac{p}{q}$. Este envolve o ponto $z = B$, pois, por (18),

$$\frac{p}{q} > \frac{p}{2q} \geq \frac{n}{2q} = \frac{q}{4m} > m \geq B. \tag{31}$$

Agora, tomamos um limite superior em ζ usando (29) e (30). Se u é um número complexo qualquer, então $|e^u| \leq e^{|u|}$. Nós usamos (19) para escrever a seguinte inequação, para todo $|z| = \frac{p}{q}$,

$$\begin{aligned} |e^{(z\rho_j)}| &\leq e^{(|z\rho_j|)} \leq e^{\frac{p}{q}(q+q|\beta|)\cdot|log\alpha|} = c_6^p, \\ c_6 &= e^{(1+|\beta|)\cdot|log\alpha|}. \end{aligned}$$

A constante c_6, como todas as outras nessa análise, é independente de n e de p. Assim, por (20) e (24), nós temos, para $z = \frac{p}{q}$,

$$|F(z)| \leq t c_1^n n^{n/2} c_6^p < (2c_4 c_6)^p n^{n/2} \leq c_7^p p^{p/2}, \tag{32}$$

em que usamos que $t = 2mn < 2^n \leq 2^p$ para n suficientemente grande. Em seguinda, para qualquer $b = 1, 2, \ldots, m$, nós usamos (31) para obter

$$\begin{aligned} |z - b| \geq |z| - |b| \geq \frac{p}{q} - m \geq \frac{p}{2q}, \\ |z - b|^{-p} \leq (\frac{2q}{p})^p \end{aligned} \tag{33}$$

Agora, nós aplicamos (32) e (33) em (12) e concluímos que, no cículo $|z| = \frac{p}{q}$,

$$\begin{aligned} |S(z)| &< p!c_7^p p^{p/2}(\frac{2q}{p})^{mp} \prod_{b=1,\ b\neq B}^{m} |B-b|^p \\ &= c_7 2m^{m/2} \prod_{b=1,\ b\neq B}^{m} |B-b|^p p! p^{p/2}(\frac{\sqrt{n}}{p})^{mp} \\ &= c_8{}^p p! p^{p/2}(\frac{\sqrt{n}}{p})^{mp}. \end{aligned}$$

Temos que $p! < p^p$, e $\sqrt{n}/p \leq 1/\sqrt{p}$, desde que $n \leq p$; então nós temos

$$|S(z)| < c_8^p p^{p(3-m)/2}, \tag{34}$$

para todo z no círculo $|z| = p/q$. Finalmente, nós retornamos a (29) e (30), e concluímos que

$$|\zeta| \leq |log\alpha|^{-p} \cdot |S(B)| = \frac{1}{2\pi}|log\alpha|^{-p} \cdot |\int_C \frac{S(z)}{z-B}dz|. \tag{35}$$

O comprimento do caminho de integração é $2\pi p/q$, e então nós podemos aplicar (34) e (33) para escrever

$$\begin{aligned} |\zeta| &< |log\alpha|^{-p} \cdot \frac{p}{q} \cdot c_8^p p^{p(3-m)/2} \cdot \frac{2q}{p} \\ &< \{2c_8^p |log\alpha|^{-}1\}^p p^{p(3-m)/2} = c_9^p p^{p(3-m)/2} \end{aligned} \tag{36}$$

Com essa estimativa para $|\zeta|$, e esta do Lema 3.10 para seus conjugados, nós escrevemos, por (18),

$$|N(\zeta)| < c_9^p p^{p(3-m)2}(c^p p^p)^{h-1} = (c_9 c^{h-1})^p p^{-p} = c_0^p p^{-p}, \tag{37}$$

onde $c_0 = c_9 c^{h-1}$. Isto e o Lema 3.9 implicam que

$$c_0^p p^{-p} > C^{-p}, \qquad Cc_0 > p, \tag{38}$$

para alguma constante positiva independente de n e de p. Mas isso é uma contradição, pois $p \geq n$, e nós podemos escolher n arbitrariamente grande. E assim finalizamos a demonstração. ◇

3.3 Uma Aplicação do Teorema de Gelfond-Schneider

O teorema de Gelfond- Schneider nos permite escrever números algébricos na forma $\top^T$, para certos $\top$ e T transcendentes, ou seja, escrever números algébricos como potência de algum transcendente à alguma base transcendente. Por exemplo, o número 2 pode ser escrito como

$e^{\ln 2}$ onde e é o número de Euler, que é irracional, como mostramos anteriormente. Para provar que $\ln 2$ é também irracional basta supor que não seja e logo se chega a uma contradição com o fato de que e é irracional. Na verdade, todo números primo e todo número algébrico $A \geq e^{\frac{-1}{e}}$, satisfazendo $A^n \notin \mathbb{Q}$, para todo $n \geq 1$, pode ser escrito nessa forma; ver [8]. Na demonstração da proposição à seguir usamos o Teorema de Gelfond-Schneider e a teoria de Galois para mostrarmos um resultado mais geral, que é a densidade dos números algébricos da forma $P(T)^{Q(T)}$, para polinômios não-constantes, com $P(x), Q(x) \in \mathbb{Q}[x]$ e T transcendente, no corpo dos reais ou no corpo dos complexos, que traduz a infinidade dos números algébricos desta forma.

Proposição 3.1 *Sejam $P(x), Q(x) \in \mathbb{Q}[x]$, polinômios não-constantes. Então o conjunto dos números algébricos da forma $P(T)^{Q(T)}$, com T transcendente, é denso em algum subconjunto conexo de $\mathbb{R}$ ou de $\mathbb{C}$*

Para demonstrar a proposição acima necessitaremos do seguinte Lema:

Lema 3.11 *Seja $Q(x)$ um polinômio em $\mathbb{Q}[x]$ e seja $\aleph = \{Q(x) - d : d \in \mathbb{Q}\}$. Então existe $\alpha \in \mathbb{R} \cap \overline{\mathbb{Q}}$, tal que*

$$\alpha^n \notin \mathbb{Q}(\Re_\aleph), \tag{39}$$

para todo $n \geq 1$, onde $\Re_\aleph$ denota o conjunto $\{x \in \mathbb{C} : f(x) = 0, \text{ para algum } f \in \aleph\}$

Demonstração: Seja $\aleph = \{N_1, N_2, \ldots\}$, e para cada $n \geq 1$, $K_n = \mathbb{Q}(\Re_{N_1,N_2,\ldots,N_n})$ e $[K_n : \mathbb{Q}] = t_n$. Já que, para $n \geq 1$ temos $K_n \subseteq K_{n+1}$, então $t_n | t_{n+1}$. Assim, existem inteiros (podemos supor maiores do que zero, já que t_n e t_{n+1} são graus) $(m_n)_{n\geq 1}$, tais que $t_n = m_{n-1} \cdots m_1 t_1$. É claro que $K_{n+1} = K_n(\Re_{N_{n+1}})$ e que degN_{n+1} = deg$Q$ (pois $F_{n+1} = Q(x) - d$, onde $d \in \mathbb{Q}$). Assim, temos que $[K_{n+1} : K_n] \geq (\deg Q)!$. Já que $\mathbb{Q} \subseteq K_n \subseteq K_{n+1}$, temos que $t_{n+1} = [K_{n+1} : \mathbb{Q}] = [K_{n+1} : K_n] \cdot [K_n : \mathbb{Q}] = [K_{n+1} : K_n] \cdot t_n$; logo, $\frac{t_{n+1}}{t_n} \geq \deg(Q)$ implica que, $m_n \geq \deg(Q)$, para $n \geq 1$; então, a sequência $(m_n)_{n\geq 1}$ é limitada (supomos anteriormente que 0 é uma cota inferior). Assim, nós asseguramos a existência de um primo $p > max_{n\geq 1}\{m_n, t_1, 3\}$. É fácil ver que p não divide t_n, $n \geq 1$, pois p não divide nenhum dos elementos de $(m_n)_{n\geq 1}$ e nem t_1. Vamos tomar um real α que é raíz do polinômio irredutível sobre $\mathbb{Q}$, $G(x) = x^p - 4x + 2$ e afirmamos que $\alpha \notin \mathbb{Q}(\Re_\aleph)$. Caso contrário, existiria $s \geq q$, tal que $\alpha \in \mathbb{Q}(\Re_{F_1,F_2,\ldots,F_s}) = K_s$. Mas como $[\mathbb{Q}(\alpha) : \mathbb{Q}] = p$, teríamos $p | t_s$, que é uma contradição. Resta-nos provar que $\alpha^n \notin \mathbb{Q}(\Re_\aleph)$, $n > 1$. Mas, devido as inclusões $\mathbb{Q} \subseteq \mathbb{Q}(\alpha^n) \subseteq \mathbb{Q}(\alpha)$, temos que $[\mathbb{Q}(\alpha^n) : \mathbb{Q}] | [\mathbb{Q}(\alpha) : \mathbb{Q}] = p$ implica que, $[\mathbb{Q}(\alpha^n) : \mathbb{Q}] = 1$ ou p; entretanto, como $G(x)$ não é solúvel por radicais sobre $\mathbb{Q}$, teremos $[\mathbb{Q}(\alpha^n) : \mathbb{Q}] = p$, o que finaliza a demonstração do lema.

◇

Demonstração: (Proposição 3.1)

Primeiramente, vamos trabalhar com valores de P positivos e vamos excluir $P(x) = 1$ (pois nesse caso teríamos $P(x)^{Q(x)}$ constante, para todo $x \in \mathbb{R}$). É claro que existe algum intervalo $(a, b) \subseteq \mathbb{R}$ tal que $0 < P(x) \neq 1$ (a existência deste intervalo se deve a continuidade da função polinomial P). Assim, a função $f : (a, b) \longrightarrow \mathbb{R}$, dada por $f(x) = P(x)^{Q(x)}$ está bem definida e por ser não-constante e contínua, temos que a imagem desta é um intervalo não-degenerado da reta, digamos (c,d).

Agora, tomando α como no lema (3.11), se olharmos para o conjunto $\{\alpha Q : Q \in \mathbb{Q} \setminus \{0\}\}$, que é um conjunto de números algébricos (pois $\alpha, Q \in \overline{\mathbb{Q}}$, $\forall\, Q \in \mathbb{Q}$ e produto de algébricos é algébrico- ver [3]) dos múltiplos de α, teremos que este é um grupo com relação a operação de adição. Assim, olhando para o subconjunto dos valores positivos deste conjunto é fácil ver que o ínfimo deste é zero, e portanto, o conjunto $\{\alpha Q : Q \in \mathbb{Q} \setminus \{0\}\}$ é denso em $\mathbb{R}$, logo é denso em qualquer intervalo não-degenerado de $\mathbb{R}$, particularmente, em (c, d). Como cada elemento de (c, d) é imagem de algum elemento de (a, b) por f temos que cada $\alpha Q \in (c, d)$ é tal que

$$\alpha Q = P(T)^{Q(T)}, \tag{40}$$

para algum $T \in (a, b)$. Se provarmos que T é transcendente finalizamos essa parte da demonstração. Com efeito, suponhamos que $T \in \overline{\mathbb{Q}}$. Dessa forma, $P(T), Q(T) \in \overline{\mathbb{Q}}$. Já que $P(T) \notin \{0, 1\}$ temos que ter $Q(T) \in \mathbb{Q}$, pois caso contrário, pelo Teorema 3.2, teríamos $P(T)^{Q(T)}$ transcendente, o que é uma contradição. Assim, temos que $Q(T) = \frac{r}{s}$, com $r \in \mathbb{Z}$ e $s \in \mathbb{N}^*$; e com isso $Q(T) = \frac{r}{s}$ é raíz do polinômio $Q(x) - \frac{r}{s} \in \aleph = \{Q(x) - d, d \in \mathbb{Q}\}$ o que implica que $T \in \Re_{Q(x)-\frac{r}{s}} \subseteq \Re_{\aleph}$, então $P(T) \in \mathbb{Q}(\Re_{\aleph})$, logo, $P(T)^r \in \mathbb{Q}(\Re_{\aleph})$. E por (40), $\alpha Q = P(T)^{\frac{r}{s}}$ que implica $(\alpha Q)^s = P(T)^r$, então $(\alpha Q)^s \in \mathbb{Q}(\Re_{\aleph})$, que contradiz o lema (3.11).

Para o caso em que $P(x) \leq 0$, para todo $x \in \mathbb{R}$, vamos tomar um intervalo aberto $(a, b) \subseteq \mathbb{R}$ tal que $P(x) \leq 0, \forall x \in \mathbb{R}$ e $\Re_P \cap (a, b) = \emptyset$, o que garante, na verdade, que $P(x) \neq 0$, para todo $x \in \mathbb{R}$, e seguiremos analogamente ao primeiro caso. Assim, a função $f : (a, b) \longrightarrow \mathbb{C}$, dada por $f(x) = P(x)^{Q(x)}$, está bem definida, e por ser não-constante e contínua temos que seu conjunto imagem é um conjunto conexo de $\mathbb{C}$, já que a imagem de um conjunto conexo (no caso, a imagem de (a, b)) por uma função contínua é um conjunto conexo. Chamaremos esse conjunto conexo imagem de B. Tomaremos novamente α como no lema, mas desta vez o subconjunto denso em questão será $\{\alpha Q : Q \in \mathbb{Q}(i) \setminus \{0\}\}$, onde $\mathbb{Q}(i)$ é o conjunto dos números complexos racionais, ou seja, o conjunto dos números da forma $a + bi$, com $a, b \in \mathbb{Q}$. Assim, teremos que esse conjunto é denso em B. Porém, cada elemento de B é imagem de algum elemento de (a, b) por f, logo chegamos a equação (40) novamente e procedendo da

mesma forma que no primeiro caso concluímos que o conjunto dos algébricos da forma $P(T)^{Q(T)}$, com T transcendente e $P(x) \leq 0$ é denso em algum subconjunto conexo de $\mathbb{C}$. O que conclui a demonstração.

$\diamond$

4 Conclusão e Considerações finais

O amadurecimento que obtive com esta pesquisa, no âmbito da matemática, foi irrevogável. Não só porquê adquiri experiência na leitura de artigos em teoria dos números, mas porquê a cada problema investigado, a cada procura de provas de que um número é ou não transcendente ou irracional nós faz debruçar sobre livros de diversas áreas da matemática.

O Teorema de Cantor sobre números irracionais, apresentado no trabalho, por exemplo, nos mostra uma aplicação do Teorema dos intervalos encaixados de Cantor, ou seja, é a análise sendo fortemente utilizada na resolução de problemas em Teoria dos números. Além disso, o Teorema de Gelfond-Schneider, que nos encanta com a interligação da teoria dos números algébricos com a teoria dos números transcendentes, utiliza anáise complexa, álgebra linear e teoria dos corpos, dentre outras partes da matemática. Como se não bastasse, a aplicação do Teorema de Gelfond-Schneider, vista no trabalho, aplica não só análise mas também teoria de Galois. Mostrando assim, que a pesquisa científica na graduação em matemática não limita o aluno a uma só parte do conhecimento desta área. Ao contrário, mostra como as áreas da matemática estão unidas.

Referências

[1] GONÇALVES, A. *Introdução à Álgebra*, Rio de Janeiro: IMPA, 1979.

[2] HERSTEIN, I. N., *Topics in Algebra*, Polígono,1970 .

[3] FIGUEIREDO, D.G.,*Números irracionais e transcendentes*, 3.ed. Rio de Janeiro: SBM, 2011.

[4] NIVEN, I. *Numbers: Rational and Irrational*, Mathematical Assn of America, 1961.

[5] NIVEN, I. *Irrational Numbers*, Mathematical Assn of America, 1956.

[6] SONDOW, J.: *A Geometric Proof that e is irrational and a New Measure os its Irrationality*, Amer. Math. Monthly, 113 (2006) 637–641.

[7] . MARQUES, D.: *A geometric proof to Cantor's theorem and an irrationality measure for some Cantor's series*, Annales Mathematicae et Informaticae, 36 (2009) pp. 117–121. Submitted 18 November 2008; Accepted 22 May 2009.

[8] SONDOW, J.; MARQUES, D.: *Algebraic, irrational, and transcendental solutions of some exponential equations*. Preprint, 2009.

[9] MARQUES, D.: *Algebraic numbers os the form $P(T)^{Q(T)}$ with T transcendental* , 2010.

NITROGÊNIO NO SISTEMA SOLO-PLANTA APÓS APLICAÇÃO DE HERBICIDAS DESSECANTES EM *Urochloa ruziziensis*

Ferreira, Karla Rennyellen Santos[1]; **Damin**, Virginia[2]; **Pacheco**, Lara Cristina Pereira da Silva[3].

Escola de Agronomia – Universidade Federal de Goiás

[1]karlaferreira.agro@gmail.com; [2]virginiadamin@gmail.com; [3]laragronomia@gmail.com

Palavras chave: nitrogênio, glyphosate, plantio direto, resíduos vegetais

---

Revisado pela orientadora

Identificação dos autores:

[1]Orientanda: Estudante de graduação do curso de Agronomia, UFG. Bolsista PIBIC\CNPq.

[2]Orientadora: Professora do Departamento de Ciência do Solo, Escola de Agronomia, UFG. Engenheira Agrônoma, Professora, Drª.

[3]Aluna de Doutorado do PPGA, Área de concentração Solo e Água, Escola de Agronomia, UFG. Engenheira Agrônoma, Msc.

JUSTIFICATIVA

Grande quantidade de informações foi gerada no presente trabalho, as quais serão muito úteis para a compreensão e as tomadas de decisão relacionadas ao manejo de herbicidas nos agroecossistemas. Entretanto, parte importante destas informações relacionadas à emissão de NH_3 pela *Urochloa ruziziensis*, não serão apresentadas neste relatório. Justificamos tal fato devido à perda de amostras destinadas a leitura de NH_3, causada por problemas relacionados ao fornecimento de energia no Laboratório de Microbiologia do Solo da Escola de Agronomia\UFG, que ocasionou o descongelamento dos extratos, que deveriam ser mantidos em temperatura inferior a -5^{o}C. A confirmação do fato descrito pode ser obtida junto ao CEGEF, na pessoa do funcionário Marco Antônio de Oliveira.

O experimento foi novamente conduzido e foram obtidos novos extratos para determinação da NH_3 emitida pelas folhas, contudo, as amostras se encontram atualmente no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA – Piracicaba\SP), aonde serão realizadas as determinações de NH_3. Acreditamos que estes dados poderão ser apresentados na ocasião da apresentação oral do trabalho, que ocorrerá durante o X CONPEEX.

RESUMO

Com este trabalho objetivou-se avaliar o efeito de herbicidas dessecantes aplicados em *Urochloa ruziziensis* na emissão de NH_3 e nos teores de N-total, N-NH_4^+, N-NO_3^-, N-mineral e na atividade microbiana do solo. O experimento foi realizado em campo com delineamento experimental em blocos casualizados (DBC), em esquema de parcela subdividida no tempo, com seis repetições. Nas parcelas foram alocados os seguintes tratamentos: A – Testemunha, braquiária sem aplicação de herbicida; B – Glyphosate, braquiária dessecada com glyphosate; C – Glufosinato, braquiária dessecada com glufosinato de amônio e; D – Paraquat, braquiária dessecada com paraquat. Como subparcelas foram consideradas avaliações periódicas dos teores de NH_3 emitidos pela folha e de N-NH_4^+, N-NO_3^-, N-mineral ($NH_4^+ + NO_3^-$), N-total do solo e Respiração Basal do Solo (RBS). Os resultados de emissão de NH_3 ainda não estão prontos, como explicado na justificativa. No solo, os herbicidas não afetaram de forma constante o N-total e N-mineral do solo. Os herbicidas glyphosate e glufosinato de amônio não afetaram de forma constante a RBS, no entanto houve aumento da RBS com o herbicida paraquat.

Palavras chave: nitrogênio, glyphosate, plantio direto, resíduos vegetais

1 INTRODUÇÃO

O Nitrogênio (N) é um elemento que participa de grande número de compostos, devido a sua capacidade de assumir vários estados de oxidação (Hagopian e Riley, 1998). Essa característica implica em alta reatividade do N, que está sujeito a um grande número de reações químicas e biológicas (Cantarella & Duarte, 2004), sendo a maioria das transformações do N no solo mediada pela biota (Victória et. al, 1992). Cerca de 98% do N total do solo está na forma orgânica e apenas uma pequena porção, cerca de 2%, na forma inorgânica, que é a principal fonte de N para as plantas. (Malavolta, 2006; Cantarella, 2007).

O N pode ser absorvido do meio somente na forma mineral, nas formas: N_2, N-NH_4^+, N-NO_3^- e NH_3; sendo o nitrato (NO_3^-) a forma mais absorvida pelas plantas, tanto em condições naturais como após adubação mineral ou orgânica. Portanto, para estar disponível às plantas, o N deve ser transformado da forma orgânica para a mineral, pelo processo de mineralização. Uma vez na forma mineral, o NH_4^+ é rapidamente convertido a NO_3^- pela nitrificação, processo no qual as bactérias oxidam o amônio a nitrito, e este a nitrato (Malavolta, 2006).

Tanto a mineralização, como a nitrificação são processos mediados pela microbiota, fatores como a umidade, temperatura, a disponibilidade de N, O_2 e a presença de resíduos orgânicos, que afetam os micro-organismos, afetarão a disponibilidade de N-mineral no solo. O plantio direto aumenta o aporte de matéria orgânica (M.O) no solo, fonte de energia e nutrientes para os micro-organismos e reduz as taxas de mineralização devido ao cultivo em solo sem revolvimento (Calegari & Ralich, 2007).

Um fator que tem sido pouco contemplado nas pesquisas é como os herbicidas utilizados para dessecação da cultura de cobertura no sistema de plantio direto afetam a atividade microbiana e, como conseqüência, os teores de N-total e mineral do solo. Além de relevante para predição da disponibilidade de N para as culturas, a nitrificação tem sido considerada importante indicador da qualidade do solo e tem sido utilizada para avaliar o efeito tóxico de pesticidas aos micro-organismos, devido à elevada sensibilidade dos micro-organismos que realizam tal processo (Dhanaraj, 1988).

Os micro-organismos envolvidos na mineralização são quimiorganotróficos, enquanto aqueles que participam da nitrificação são quimiolitotróficos, sendo os quimiolitotróficos os principais responsáveis por este processo no solo (Moreira & Siqueira, 2006). O glyphosate, principal herbicida utilizado para dessecação de plantas de cobertura, e o glufosinato, utilizado como alternativa ao primeiro, não afetam os micro-organismos

quimiorganotróficos, pois estes micro-organismos não apresentam rotas de síntese, nas quais tais herbicidas atuam (Damin et al., 2010b). Entretanto, os quimiolitotróficos podem apresentar rotas metabólicas que são bloqueadas por estes herbicidas. Outro herbicida que pode ser utilizado para dessecação em área total é o paraquat, que é altamente tóxico para a biota em geral, sendo nocivo tanto para quimiolitotróficos como para quimiorganotróficos.

Diversos estudos demonstraram que o glyphosate não tem impacto negativo sobre a atividade microbiana do solo (Stratton & Stewart, 1992; Wardle et al.,1994; Acinelli et al., 2002; Kremer et al., 2005), embora possa afetar grupos específicos de micro-organismos. Estudos *in vitro* demonstraram redução da população de bactérias nitrificantes após aplicação de glyphosate (Ratcliffe et al., 2006). Com relação ao glufosinato de amônio, Fließbach & Mader (2004) indicaram que pulverização com glufosinato na cultura da batata reduziu a biomassa microbiana do solo. O paraquat, quando usado nas doses recomendadas, não afetou os micro-organismos do solo e suas atividades (Tu & Bollen, 1968; Roberts et al., 2002), o que pode ser atribuído a sua alta sorção as cargas positivas do solo, por ser uma base forte.

Neste contexto, objetivou-se quantificar os teores de NH_3, emitidos pela planta, e o N-total, o $N\text{-}NH_4^+$, o $N\text{-}NO_3^-$ e o N-mineral no solo após a aplicação de glyphosate, glufosinato de amônio e paraquat em *Urochloa ruzizensis* e, também, avaliar a atividade microbiana do solo por meio da RBS.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local e condições experimentais

O experimento foi realizado em condição de campo, em área experimental pertencente à Escola de Agronomia/UFG - Campus Samambaia, Goiânia, GO (16°41’ latitude sul, 49° 17’ longitude oeste, 730 m de altitude) no período de janeiro a dezembro de 2012. O solo utilizado foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico (Embrapa, 2006). A caracterização química do solo foi realizada de acordo com Raij et al. (2001). A caracterização do solo do experimento está descrita na Tabela 2.1 e a composição granulométrica está descrita na Tabela 2.2.

Tabela 2.1 Caracterização química do solo utilizado no experimento. Goiânia, GO, 2012

Amostra	pH	M.O.	N	P	S	K	Ca	Mg	Al	H +Al	T	V	m
m	$CaCl_2$	g dm^3	%	mg dm^3		$cmol_c$ dm^3						%	
0,0-0,2	5,3	22,0	0,11	7,4	4,2	0,19	2,3	0,8	0	1,4	4,69	70,15	0
0,2-0,4	5,5	17,0	0,08	0,8	12,6	0,12	1,2	0,4	0	1,3	3,02	56,95	0

M.O. = matéria orgânica; T= capacidade de troca de cátions (CTC) a pH 7,0; V= saturação por bases; m= saturação por alumínio

Tabela 2.2 Composição granulométrica do solo utilizado no experimento. Goiânia, GO, 2012

Amostra	Argila	Silte	Areia
m		g kg^{-1}	
0,0 - 0,2	535	122,5	342,5
0,2 - 0,4	465	110	425

As precipitações e as temperaturas médias diárias no período do desenvolvimento do experimento são apresentadas na Figura 2.1.

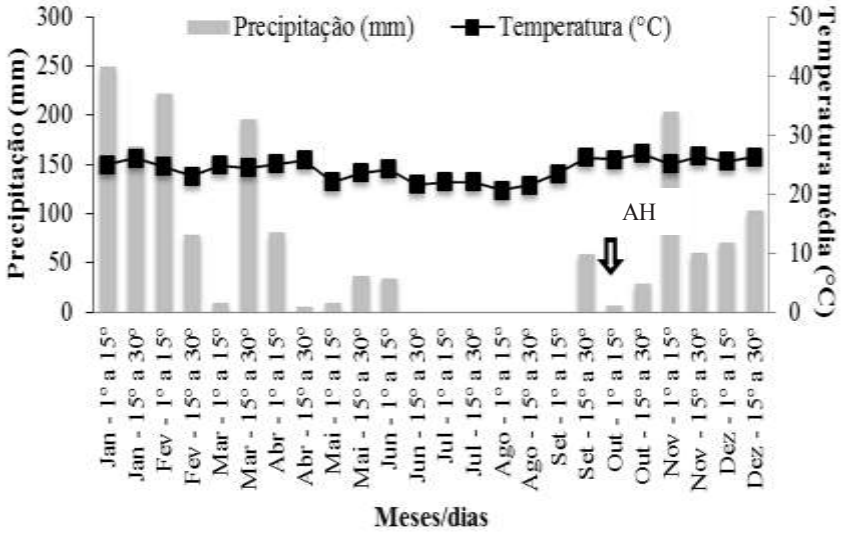


Figura 2.1 Precipitação e temperaturas médias diárias registradas durante o período de desenvolvimento do experimento com *Urochloa ruziziensis*. AH- Aplicação dos herbicidas. Goiânia, GO, 2012

2.2 Desenvolvimento do experimento

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em esquema de parcela subdividida no tempo com seis repetições. Nas parcelas foram alocados os seguintes tratamentos: A – Testemunha, braquiária sem aplicação de herbicida; B – Glyphosate, braquiária dessecada com glyphosate; C – Glufosinato, braquiária dessecada com glufosinato de amônio e; D – Paraquat, braquiária dessecada com paraquat, resultando em 24 parcelas, com 32 m² (8m x 4m) cada uma. Como sub-parcelas foram consideradas as avaliações periódicas nos tempos 00, 02,04, 06, 08, 10, 12, 14 e 16 dias após a aplicação (DAA), para a emissão de NH_3 e 00, 07, 15, 30 e 45 DAA para os teores de $N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_3^-$, N-mineral ($N\text{-}NH_4^+$ + de $N\text{-}NO_3^-$), N-total e Respiração Basal do Solo (RBS).

Antes do início do experimento, foram aplicadas 1,5 t ha^{-1} de calcário dolomítico (PRNT= 100%), sendo a quantidade aplicada determinada pelo método de saturação por bases. A semeadura foi realizada manualmente a lanço, com a espécie *Urochloa ruziziensis* e densidade de 22 kg de sementes ha^{-1} (95% de valor cultural). Na mesma data, foram aplicados 200 kg ha^{-1} de P_20_5, utilizando-se o fertilizante superfosfato simples. Realizou-se um corte para uniformização das parcelas e todos os resíduos vegetais provenientes do corte foram retirados da área para que não houvesse interferência da decomposição dos mesmos no ciclo do nitrogênio. Após 15 dias do corte foi realizada a adubação de cobertura com 40 kg ha^{-1} de N (sulfato de amônio) e adubação com micronutrientes, sendo aplicados 2 kg ha^{-1} de Zn (sulfato de zinco) e 2 kg ha^{-1} de B (bórax).

Quando detectou-se o estádio fenológico de pré-antese (emissão de 1 a 5% de panículas), realizou-se a aplicação dos herbicidas. As doses utilizadas foram: 4 L ha^{-1} de glyphosate, 3 L ha^{-1} de glufosinato de amônio e 3 L ha^{-1} de paraquat, com volume de calda de 400 L ha^{-1}. As formulações comerciais utilizadas foram: Roundup Original® para o glyphosate, contendo 180 g L^{-1} de equivalente ácido (e.a.); Finale® para o glufosinato de amônio, contendo 400 g L^{-1} de ingrediente ativo (i.a.) e Gramoxone® para o paraquat, contendo 200 g L^{-1} de i.a. Quando se constatou a morte das plantas dessecadas, as plantas das parcelas da Testemunha foram cortadas com rolo-faca e a palhada foi depositada sobre o solo.

2.3 Avaliação da Emissão de NH_3

Para avaliação da emissão de NH foram utilizados coletores semelhantes aos descritos em Oliveira et al. (2008), confeccionados com espumas circulares, de 100 mm de diâmetro, 20 mm de espessura e densidade de 20 kg m^{-3}. As espumas foram embebidas em 07 mL de solução de ácido fosfórico (H_3PO_4) 1,5 N e armazenadas em sacos plásticos,

hermeticamente fechados, até o momento do uso. Cada parcela recebeu 02 absorvedores de planta que foram colocados sobre tampas de PVC com área de 0,00785 m², afixados em haste metálica de 1,5 m de altura e posicionados 10 mm acima do dossel das plantas. Um coletor de solo foi colocado em cada parcela, fabricado com garrafa pet, semelhante ao descrito por Araújo et al. (2009) e colocado a 10 mm da superfície deste. Em área de pousio, adjacentes à área experimental, foram colocados um coletor de planta, a 1,5 m da superfície do solo, para quantificação da concentração de NH_3 do ar, e um coletor de solo. Os coletores foram instalados dois dias antes da aplicação dos herbicidas, sendo efetuada a troca a cada dois dias, até a morte das plantas. Os coletores retirados foram desmontados e as espumas lavadas com, aproximadamente, 300 mL de água deionizada. Posteriormente, os extratos foram acidificados e colocados em estufa a 50 °C para concentração até o volume de 50 mL. As amostras concentradas foram congeladas até o momento da leitura. A determinação do NH_4^+ provenientes dos coletores de amônia serão realizada por análise de injeção em fluxo (FIA), segundo Reis et al. (1997).

2.4 Avaliação dos teores de N-NH_4^+, N-NO_3^-, N-mineral, N-total no solo e RBS

Para determinação dos teores de N-NH_4^+, N-NO_3^-, N-mineral e N-total no solo, duas amostras simples foram coletadas, na profundidade de 0-10 cm, formando uma amostra composta por parcela. As amostras foram coletadas nas datas pré-estabelecidas e armazenadas em freezer a -5ºC até o momento das análises. Os teores de N-NH_4^+ e N-NO_3^- foram determinados conforme metodologia descrita por Cantarella & Trivelin (2001). Para tanto, subamostras foram retiradas para determinação da umidade do solo, em estufa a 105 ºC, por 48 horas e 5 g de solo foram pesados e acondicionados em frascos de extração, adicionando-se 50 mL de solução extratora de KCl 1 mol L^{-1}. O N-mineral foi determinado pela soma dos teores de NH_4^+ e NO_3^-.

Para determinação do N-total, as amostras de solo foram secas ao ar, moídas e passadas em peneira 60 mesh (250 µm). Foi utilizado o método Kjeldahl, conforme metodologia descrita por Cantarella e Trivelin (2001).

Para determinação da RBS, duas amostras simples foram coletadas, na profundidade de 0-10 cm, formando uma amostra composta por parcela. As amostras foram coletadas nas datas pré-estabelecidas e, quando as determinações não foram realizadas no dia de coleta, as amostras foram armazenadas em geladeira a 5 ºC até o momento da análise. Utilizou-se o método proposto por Silva et. al (2007).

2.5 Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise da variância e, quando o teste F foi significativo, procedeu-se a comparação de médias de tratamentos qualitativos pelo teste de Tukey (α=0,05) e dos tratamentos quantitativos por análise de regressão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 N-total, NH_4^+, NO_3^- e N-mineral

3.1.1 Glyphosate

No N-total, não houve diferença entre os fatores avaliados (Figura 3.1).

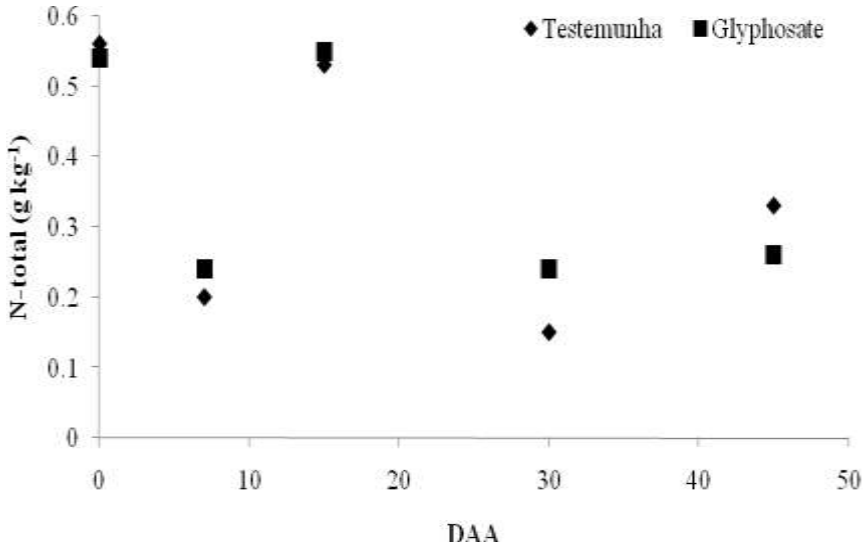
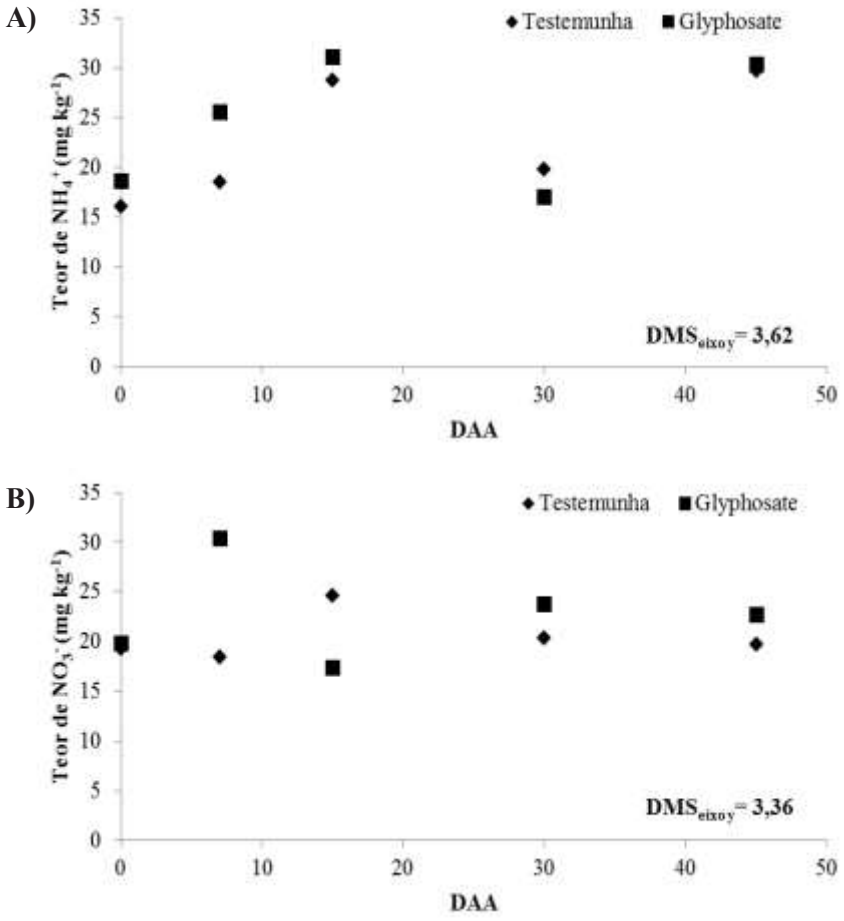


Figura 3.1 N-total do solo após aplicação do herbicida glyphosate em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

Para o teor de N-NH_4^+, houve interação ($F_{interação}$= 3,52**) dos fatores avaliados, sendo que o tratamento Glyphosate diferiu da Testemunha apenas aos 07 DAA, com maior teor de NH_4^+ (Figura 3.2 A). No teor de NO_3^- houve interação ($F_{interação}$= 10,24**) dos tratamentos com as datas de avaliação. Aos 00 e 45 DAA, os tratamentos não diferiram entre si, entretanto, aos 07 e 30 DAA o Glyphosate apresentou maior teor de NO_3^- em relação à Testemunha, enquanto aos 15 DAA ocorreu o contrário, com maior teor de NO_3^- na Testemunha (Figura 3.2 B). No N-mineral do solo, houve interação ($F_{interação}$= 6,96**) dos fatores avaliados. O tratamento Glyphosate apresentou maior teor de N-mineral aos 07 DAA e não diferiu da Testemunha nas demais datas (Figura 3.3 C).

Os valores médios de N-mineral (F_{herb}= 12,21*), de N-NH_4^+ (F_{herb}= 9,89*) e de N-NO_3^- (F_{herb}= 12,44*) foram aumentados pela aplicação do herbicida glyphosate, evidenciando maior mineralização do N do solo. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Haney et al, (2000) e Grossbard (1985). Estes autores observaram aumento linear da mineralização de N com o aumento da dose de glyphosate aplicado ao solo.

A aplicação de glyphosate resultou em maiores teores de NH_4^+ e NO_3^- e maior N-minera **A)** que a Testemunha aos 07 DAA. Estes resultados podem estar relacionados à exsudação de compostos nitrogenados pelas raízes, visto que, nesta data, as plantas ainda não haviam morrido. Kremer et al. (2005) observaram aumento da exsudação de açúcares e aminoácidos após aplicação de glyphosate em soja convencional e geneticamente modificada para tolerância ao herbicida. O NH_4^+ é um dos principais compostos de N exsudados pelas raízes, juntamente com os aminoácidos serina e glicina (Brophy & Heichel, 1989; Ofuso-Budu et al., 1990; Paynel et al., 2001).



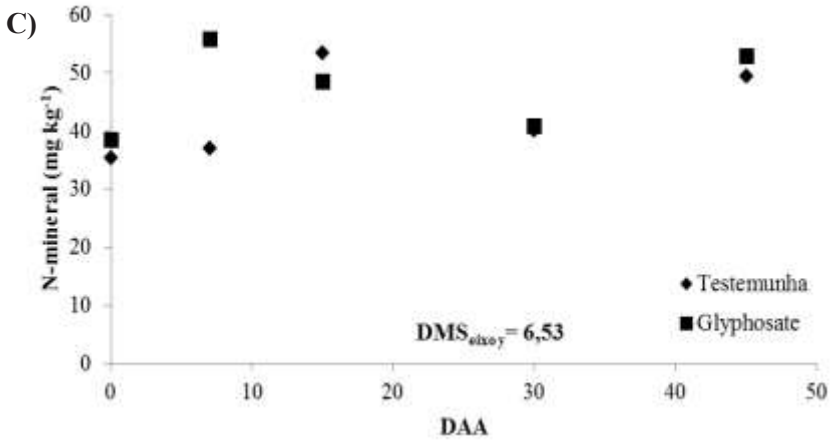


Figura 3.2 Teor de A) NH_4^+, B) NO_3^- e C) N-mineral no solo após aplicação do herbicida glyphosate em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

Além de contribuir para a elevação dos teores de NH_4^+ do solo, a exsudação de compostos nitrogenados fornece fontes de carbono altamente solúveis e prontamente disponíveis aos micro-organismos, podendo modificar a atividade microbiana no solo, oferecendo vantagem competitiva aos micro-organismos quimiorganotróficos. De fato, foi observado aumento da respiração basal (Figura 3.8), aos 07 DAA, mostrando que a atividade microbiana pode ter sido favorecida pela exsudação provocada pelo herbicida.

3.1.2 Glufosinato de amônio

Para o N-total, houve interação ($F_{interação}$= 8,26**) dos fatores estudados. O N-total do solo foi maior com a aplicação do herbicida aos 07 DAA e menor aos 45 DAA (Figura 3.3), nas demais datas os tratamentos não diferiram entre si.

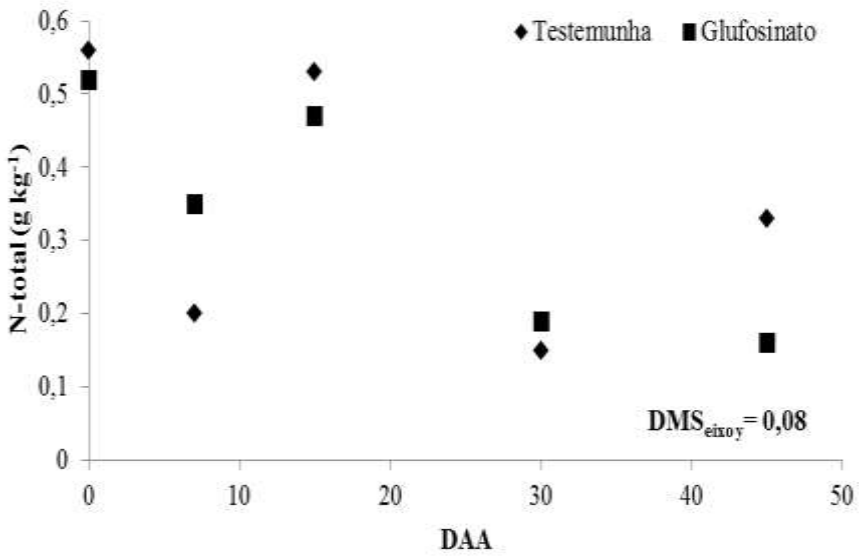
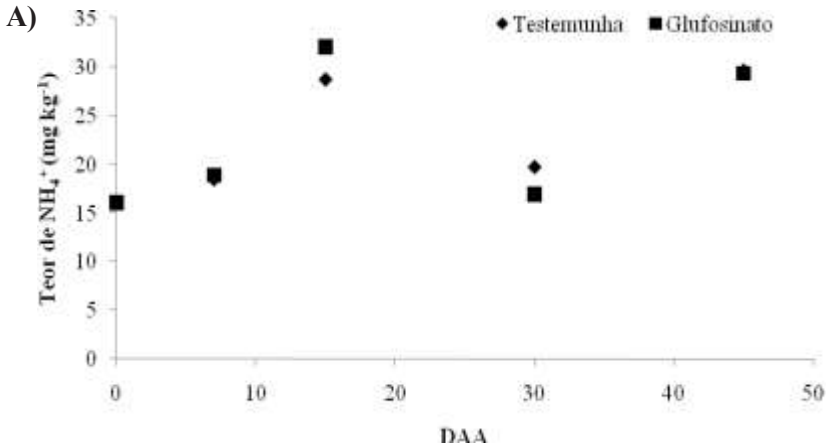


Figura 3.3 N-total do solo após aplicação do herbicida glufosinato de amônio em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

Os teores de N-NH_4^+ e de N-mineral não diferiram entre os tratamentos (Figuras 3.4 A e 3.4 C). Para o N-NO_3^- houve interação dos fatores (F_{int}= 9,40**) estudados, sendo que o Glufosinato apresentou maior teor aos 07 e a Testemunha maior teor aos 15 DAA, nas demais datas não houve diferença (Figura 3.4 B).

A aplicação do herbicida glufosinato não afetou os teores médios de N-total, N-mineral, N-NH_4^+ e N-NO_3^+ do solo.



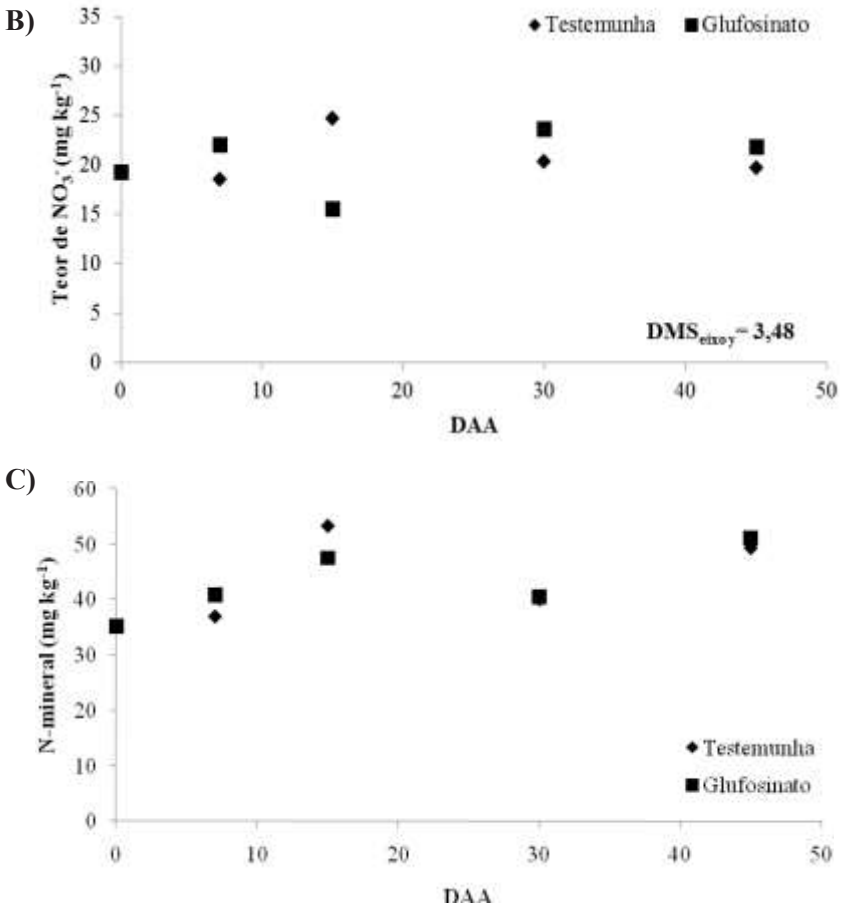


Figura 3.4 Teor de A) NH_4^+, B) NO_3^- e C) N-mineral no solo após aplicação do herbicida glufosinato de amônio em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

3.1.3 Paraquat

Com relação ao N-total, houve interação (F_{int}= 7,08**) dos fatores estudados. O Paraquat apresentou comportamento semelhante ao Glufosinato, diferindo da testemunha aos 07 DAA, com maior N-total e aos 45 DAA, com menor N-total no solo (Figura 3.5). Nas demais datas, os tratamentos não diferiram entre si.

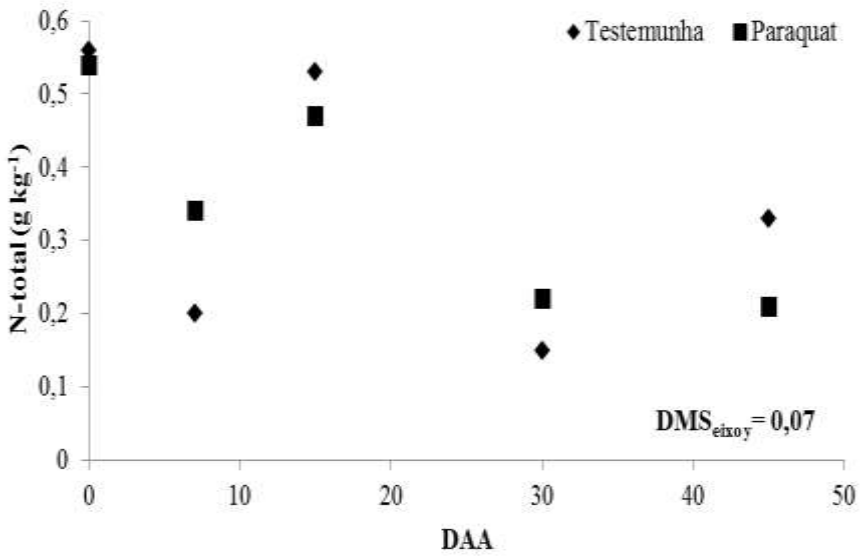
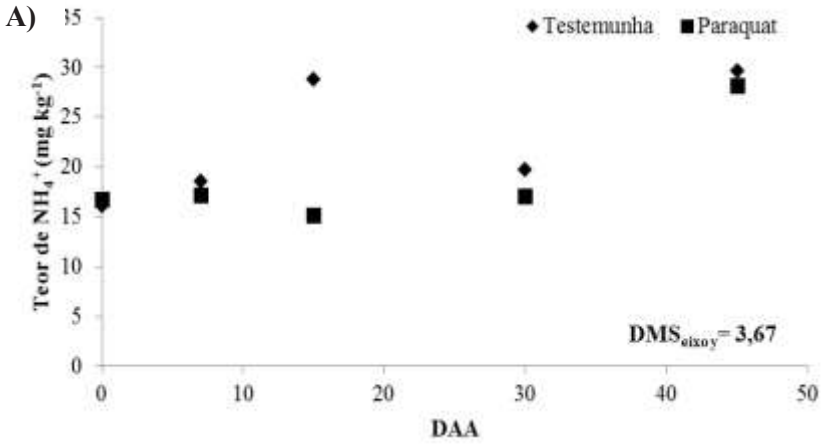


Figura 3.5 N-total do solo após aplicação do herbicida paraquat em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

Para os teores de N-NH_4^+ (F_{int}= 9,78**), N-NO_3^- (F_{int}= 6,91**), N-mineral (F_{int}= 8,91**) houve interação dos fatores avaliados. Menores teores dos elementos foram observados aos 30 DAA no tratamento Paraquat em relação à Testemunha. Nas demais datas, os tratamentos não diferiram entre si. (Figura 3.6 A, 3.6 B e 3.6 C).



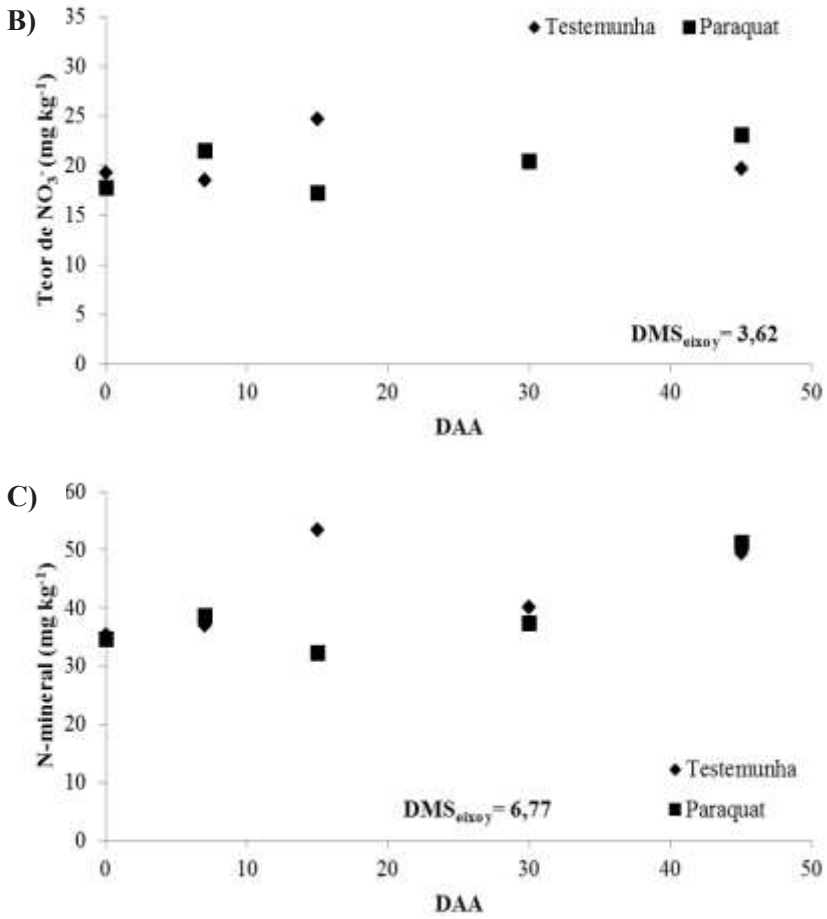


Figura 3.6 Teor de A) NH_4^+, B) NO_3^- e C) N-mineral no solo após aplicação do herbicida paraquat em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

Os teores médios (ao longo do tempo) de N-total, N- NO_3^- e N-mineral não foram afetados pela aplicação do herbicida. No entanto, houve redução nos teores médios de NH_4^+ (F_{herb}= 21,17**) após aplicação de paraquat, o que pode estar relacionado à menor mineralização do N-orgânico.

3.2 Respiração Basal do Solo (RBS)

3.2.1 Glyphosate

Na respiração basal houve interação dos fatores estudados (F_{int}= 30,14**). O Glyphosate diferiu da Testemunha aos 07 DAA, apresentando maior RBS, já a Testemunha apresentou maior RBS aos 30 DAA (Figura 3.8). Nas demais datas o Glyphosate e a Testemunha não diferiram entre si.

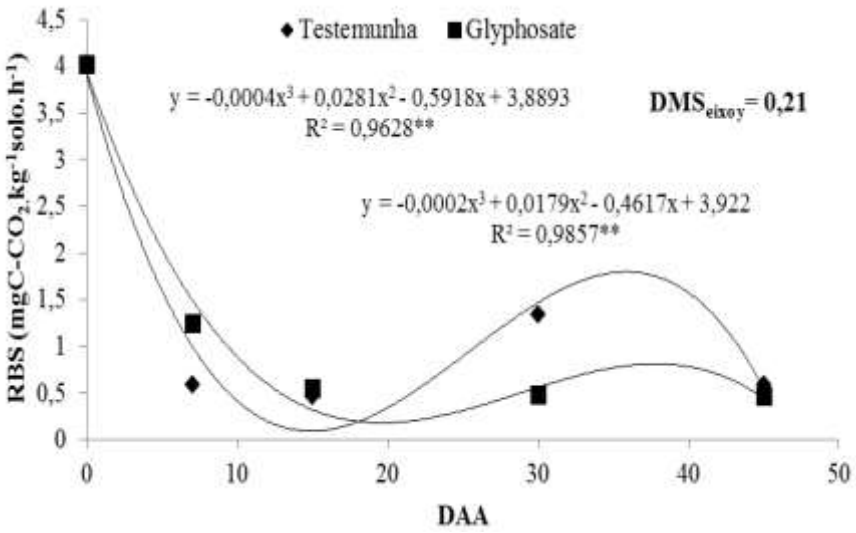


Figura 3.8 Respiração Basal do Solo (RBS) do solo após aplicação do herbicida glyphosate em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

3.2.2 Glufosinato

Na RBS, houve interação dos fatores avaliados (F_{int}= 44,46**). A Testemunha diferiu do Glufosinato somente aos 30 DAA, quando apresentou maior RBS (Figura 3.9).

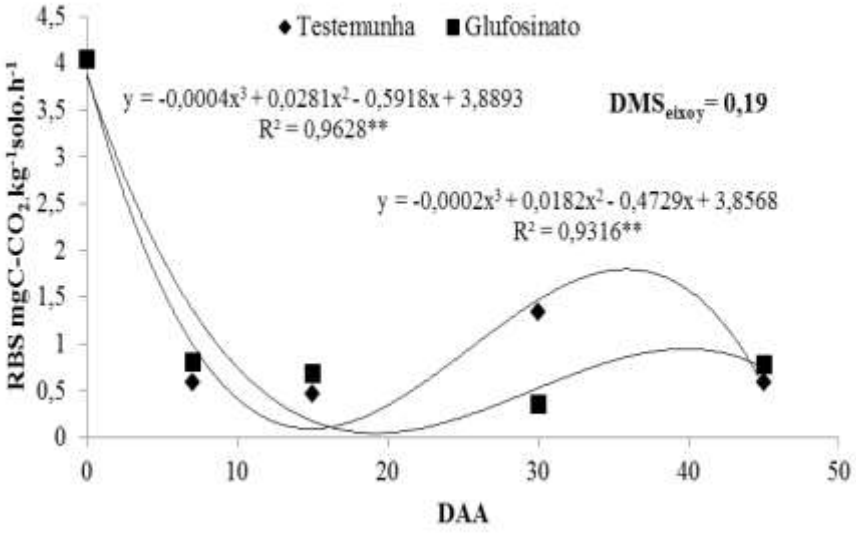


Figura 3.9 Respiração Basal do Solo (RBS) do solo após aplicação do herbicida glufosinato de amônio em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

3.2.3 Paraquat

Para a RBS, houve interação dos fatores avaliados (F_{int}= 65,37**). O Paraquat apresentou maior RBS do que a Testemunha aos 07, 15 e 45 DAA, aos 30 DAA a RBS foi

maior na Testemunha (Figura 3.10). O aumento da RBS, quando não é acompanhado do aumento da mineralização, indica estresse a microbiota.

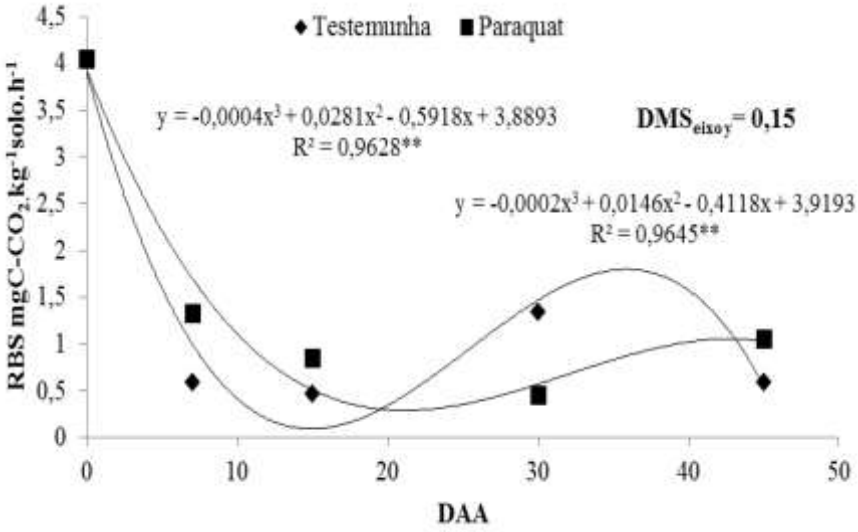


Figura 3.10 Respiração Basal do Solo (RBS) após aplicação do herbicida paraquat em *Urochloa ruziziensis*. DAA = dias após aplicação do herbicida. Goiânia, GO, 2012

Algumas pesquisas demonstram efeitos da aplicação de herbicidas nas populações e atividade de micro-organismos de solo (Santos et al., 2005; Vivian et al., 2006). Para Bunemann et al. (2006), os herbicidas pouco afetam os organismos do solo. Wardle & Parkinson (1990) e Hart & Brookes (1996) não observaram efeitos do glyphosate sobre a atividade microbiana do solo. Yentumi & Johnson (1986) não detectaram efeito de aplicação única dos herbicidas simazina e paraquat sobre a microbiota do solo.

O glyphosate pode inibir o crescimento de alguns fungos, mas pode incrementar a biomassa (Stratton & Stewart, 1992; Wardle et al.,1994) ou a atividade microbiana do solo (Haney et al., 2000; Busse et al., 2001), já que bactérias que mineralizam o C e o N utilizam o herbicida como fonte de carbono e energia. Segundo Araújo et al. (2003) o glyphosate aumentou o número de bactérias e a atividade microbiana do solo. Childs (2007) verificou que o glyphosate apresentou acúmulo de CO_2 superior a Testemunha a partir dos 10 dias de avaliação e liberou 18% a mais de CO_2 do que a Testemunha. Cabe ressaltar que a maior emissão de CO_2 pode estar associada tanto ao maior estresse dos micro-organismos como ao favorecimento do seu desenvolvimento.

A redução de um ou poucos grupos de espécies de micro-organismos, ocasionada pela ação dos herbicidas, pode ser compensada pelo crescimento de outros, resultando em pequena alteração no total de processos no solo (Nannipieri et al., 2003). A maioria dos

trabalhos realizados avalia o efeito de herbicidas na atividade microbiana quando aplicados diretamente ao solo, diferentemente deste trabalho, que avaliou os efeitos provocados pelas moléculas dos herbicidas provenientes da palha da cultura dessecada.

O impacto dos herbicidas na atividade microbiana depende da diversidade dos micro-organismos, do tipo de solo e das doses aplicadas. Wardle & Parkinson (1992), ao avaliarem diferentes concentrações de glyphosate na comunidade fúngica do solo, perceberam que tal herbicida nas concentrações mais elevadas afetou a interação dos fungos. Santos et al. (2004), em avaliação do impacto de diferentes formulações de glyphosate, observaram que os efeitos tóxicos aos micro-organismos são causados por compostos presentes na formulação e não pelo princípio ativo do herbicida. De acordo com Accinelli et al. (2002) a aplicação de doses recomendadas dos herbicidas glyphosate e glufosinato de amônio não interfere na atividade microbiana dos solos.

O glyphosate é capaz de se adsorver as partículas do solo e permanecer inativo até a sua completa degradação. O glufosinato no solo é altamente móvel e rapidamente degradado pelos micro-organismos (Rodrigues & Almeida, 2011), no entanto, em solos argilosos pode ser fortemente adsorvido (Behrendt et al., 1990; Jewell & Buffin, 2001). O paraquat, devido a sua alta capacidade de adsorção e degradação não afeta a fauna e a atividade microbiana do solo e não é lixiviado para o lençol freático, quando usado nas doses recomendadas (Tu & Bollen, 1968; Roberts et al., 2002; Syngenta, 2013).

Os efeitos dos herbicidas sobre a nitrificação e microbiota, em condições reais, apresentam grande variabilidade em função da complexidade das interações dos múltiplos fatores envolvidos e, por isso, podem ser de difícil detecção (Childs, 2007). Alguns fatores como pH, tipo do solo, umidade, temperatura e disponibilidade de $N\text{-}NH_4^+$ e de O_2, exercem influência na taxa de nitrificação (Cantarella, 2007).

4 CONCLUSÕES

- De modo geral, os herbicidas não afetaram, de forma constante, o N-mineral; sendo observados efeitos transitórios.
- Sete dias após aplicação de glyphosate, glufosinato de amônio ou paraquat em braquiária, houve estimulo a atividade microbiana no solo, com aumento da respiração basal e de pelo menos uma das formas de N avaliadas.
- Somente o herbicida paraquat afetou de forma constante a microbiota, sendo observado aumento da respiração basal, indicando maior estresse sobre a microbiota.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCINELLI, C.; SCREPANTI, C.; DINELLI, G.; VICARI, A. Short-time effects of pure and formulated herbicides on soil microbial activity and biomass. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Barcelona, v. 82, n. 8, p. 519-527, 2002.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient of CO_2 (qCO_2) a specific activity paramenter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, n. 5, p. 799-804, 2003.

ARAÚJO, E. S.; MARSOLA, T.; MIYAZAWA, M.; SOARES, L. H. B.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M; ALVES, B. J. R. Calibração de câmara semi-aberta estática para quantificação de amônia volatilizada do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília,v. 44, n. 7, p, 769-776, 2009.

BEHRENDT, H.; MATTHIES, M.; GILDEMEISTER, H.; GORLITZ, G. Leaching and transformation of glufosinate-ammonium and its main metabolite in a layered soil column. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 9, n. 5, p.541–549, 1990.

BROPHY, L. S.; HEICHEL, G. H. Nitrogen release from roots of alfafa and soybean grown in sand culture. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 116, n. 1, p.77-84, 1989.

BUNEMANN, E. K.; SCHWENKE, G. D.; VAN ZWIETEN, L. Impact of agricultural inputs on soil organisms - a review. **Australian Journal of Soil Research**, Australian, v. 44, n. 4, p. 379-406, 2006.

BUSSE, M. D.; RATCLIFF, G. A.; SHESTAK, C. J.; POWERS, R. F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 12, p. 1777-1789, 2001.

CALEGARI, A.; RALICH, R. Uso adequado de plantas de cobertura, rotação de culturas e seus benefícios no sistema plantio direto. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 1, n. 97, p. 13-16, 2007.

CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologia de produção de milho.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. p. 139-182.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. Determinação de nitrogênio inorgânico em solo pelo método da destilação a vapor. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Ed.). **Análises químicas para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** Campinas: IAC/FUNDAG, 2001. p. 270-627.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, G. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed). **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. cap. VII, p. 375-470.

CHILDS, G. M. F. **Efeitos de herbicidas na microbiota do solo em sistema fechado.** 2007. 61 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal)–Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2007.

DAMIN, V.; TRIVELIN, P. C. O.; CARVALHO, S. J. P.; MORAES, M. F.; BARBOSA, T. G. Herbicides application increases nitrogen (^{15}N) exudation and root detachment of *Brachiaria decumbens* Stapf. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 334, n. 1, p. 511-519, 2010b.

DHANARAJ, E. S. Effects of pesticides on nitrification and denitrification. In: LAL, R.; LAL, S. (Ed.). **Pesticides and Nitrogen Cycle**. Boca Raton: CRC, 1988. v. 2, p. 43-118.

EMBRAPA, E. B. D. P. A. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2006. 306 p.

FLIEßBACH, A.; MÄDER, P. Short and long-term effects on soil microorganisms of two potato pesticide spraying sequences with either glufosinate or dinoseb as defoliants. **Biology and Fertility of Soils,** v. 40, n. 4, p. 267–276, 2004.

GROSSBARD, E. Effects of glyphosate on the microflora: with reference to the decomposition of treated vegetation and interaction with some plant pathogens. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. Londres: Butterworths, 1985. p. 159-185.

HAGOPIAN, D. S.; RILEY, J. G. A closer look at the bacteriology of nitrification. **Aquacultural Engineering**, v. 18, n. 4, p. 223-224, 1998.

HART, M. R., BROOKES, P. C. Soil microbial biomass and mineralization of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1641–1649, 1996.

HANEY R. L.; SENSEMAN, S. A.; HONS, R. M.; ZUBERER, D. A. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. **Weed Science**, Lawrence, v. 48, n. 1, p. 89-93, 2000.

JEWELL, T.; BUFFIN, D. Health and environmental impacts of glufosinate ammonium. **Pesticides Action Network**, London, p. 1-22, 2001.

KREMER, R. J.; MEANS, N. E.; KIM, S. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry,** Oxfordshire, v. 85, n .15, p. 1165-1174, 2005.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006. 729 p.

NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M. T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, n. 4, p. 655-670, 2003.

OLIVEIRA, P. P. A.; TRIVELIN, P. C. O.; ALVES, A. C.; LUZ, P. H. C.; HERLING, V. R. **Métodos para avaliar as perdas de nitrogênio por volatilização da superfície do solo e por emissão de amônia pela folhagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.** Embrapa Pecuária Sudeste: São Carlos, 2008. 41p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 16).

OFUSO-BUDU, K. G.; FUJITA, K.; OGATA, S. Excretion ureide and other nitrogenous compounds by the root system of soybean at different growth stages. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 128, n. 2, p. 135-142, 1990.

PAYNEL, F.; MURRAY, P. J.; CLIQUET, J. B. Root exudates, a pathway for short-term transfer from clover and ryegrass. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 229, n. 2, p.235-243, 2001.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RATCLIFFE, A. W.; BUSSE, M. D.; SHESTAK, C. J. Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 34, n. 2, p. 114–124, 2006.

REIS, B.F.; VIEIRA, J.A.; KRUG, F.J.; GINÉ, M.F. Development of a flow injections system two analytical paths for ammonium determination in soil extracts by conductometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v.8, n.5, p.523-528, 1997.

ROBERTS, T. R.; DYSON, J. S.; LANE, M. C. G. Deactivation of the biological activity of paraquat in the soil environment: a review of long-term environmental fate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 13, p. 3623-3631, 2002.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas.** 6. ed. Londrina: RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. (Eds), 2011. 84 p.

SANTOS, J. B.; JACQUES, R. J. S.; PROCÓPIO, S. O.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A.; SANTOS, E. A. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 293-299, 2004.

SANTOS, J. B.; COSTA, M. D.; JAKELAITIS, A.; VIVIAN, R.; SILVA, A. A. Atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 683-691, 2005.

SILVA, E. E. da; AZEVEDO, P. H. S. de; DE-POLLI, H. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico (qCO_2).** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 4 p. (Comunicado Técnico 99).

STRATTON, G. W.; STEWART, K. E. Glyphosate effects on microbial biomass in a coniferous forest soil. **Environmental Toxicology Water Quality**, New York, v. 17, n. 3, p. 223-236, 1992.

SYNGENTA CROP PROTECTION AG. **Dados e fatos sobre o Paraquat**. Centro de Informações sobre o Paraquat. Disponível em: http://paraquat.com/portugues/banco-de-conhecimentos/dados-e-fatos-sobre-paraquat. Acesso em: 31 jan. 2013.

TU, C. M.; BOLLEN, W. B. Effect of Paraquat on Microbial Activities in Soils. **Weed Research,** Oxford, v. 8, n. 1, p. 28-37, 1968.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.6, p.703-707, 1987.

VICTORIA, R. L.; PICCOLO, M. C.; VARGAS, A. A. T. O ciclo do nitrogênio. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Coord.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 105-120.

VIVIAN, R.; REIS, M. R.; JAKELAITIS, A.; SILVA, A. F.; GUIMARÃES, A. A.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A. Persistência de sulfentrazone em Argissolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 741-750, 2006.

WARDLE, D. A.; NICHOLSON, K. S.; RAHMAN, A. Influence of herbicide applications on the decomposition, microbial biomass, and microbial activity of pasture shoot and root litter. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 37, p. 29-39, 1994.

WARDLE, D. A.; PARKINSON, D. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity**. Plant and Soil**, Dordrecht, v. 122, n. 1, p. 21-28, 1990.

YENTUMI, S. D.; JOHNSON, D. B. Changes in soil microflora in response to repeated application of some pesticides. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 18, n. 6, p. 629-635, 1986.

AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA ALÉLICA E GENOTÍPICA DE ALELOS DA CYP2D6 ENVOLVIDOS COM O METABOLISMO DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS

SILVEIRA, Karla Stephanny Alves, GHEDINI, Paulo César
Instituto de Ciências Biológicas - ICB/UFG (e-mail: pcghedini@gmail.com)

Resumo: O gene *CYP2D6* apresenta polimorfismos que podem afetar a farmacocinética de diversos fármacos de importância clínica, incluindo os antidepressivos. Estes polimorfismos promovem importantes variações individuais em relação ao metabolismo destes agentes, podendo causar diferentes respostas clínicas. O objetivo deste estudo foi avaliar a variabilidade de cinco alelos do gene *CYP2D6* relacionados com a resposta terapêutica aos fármacos antidepressivos: CYP2D6*1, CYP2D6*2, CYP2D6*4, CYP2D6*6 e CYP2D6*29. Estes alelos foram avaliados em grupo de 58 voluntários naturais do estado de Goiás. DNA foi extraído de amostras sanguíneas e, após a amplificação da região do gene de interesse, os polimorfismos do CYP2D6 foram avaliados através de sequenciamento automatizado. Dez genótipos foram encontrados, incluindo 12 sujeitos (20,7%) com nenhum alelo mutado (1*/1*); 17 (29,3%) com um alelo mutado (*1/*2 (14); *1/*4 (2); *1/*6 (1)); 29 (50%) com dois alelos mutados (*2/*2 (16); *2/*4 (9); *2/*6 (1); *2/*29 (1); *4/*4 (1); *4/*6 (1). A frequência do perfil metabolizador deste grupo, considerando a característica polimórfica foi: 42 metabolizadores extensivos (72,4%); 14 metabolizadores intermediários (24,2%) e 2 metabolizadores lentos (3,4%). Este estudo aliado ao perfil fenotípico das concentrações teciduais dos fármacos são importantes ferramentas para subsidiar a previsão individual de doses dos medicamentos, evitando a ineficácia terapêutica ou a incidência de efeitos colaterais.

Palavras-chave: Citocromo P450, CYP2D6, farmacogenética, polimorfismos, resposta terapêutica.

"revisado pelo orientador"
Karla Stephanny Alves Silveira – orientanda
Paulo César Ghedini - orientador

INTRODUÇÃO

As isoenzimas do citocromo P450 (CYP) CYP2D6, CYP2C9 e CYP2C19 estão envolvidas com o metabolismo da maioria dos fármacos utilizados clinicamente. Mutações presentes em genes codificadores de enzimas metabolizadoras de fármacos podem causar variantes protéicas com atividade aumentada, diminuída ou ausente. Como consequência, estes polimorfismos genéticos podem levar ao surgimento de diferentes fenótipos: metabolizadores lentos (ML), metabolizadores extensivos (ME), metabolizadores ultra-rápidos (MUR) e metabolizadores intermediários (MI) (Metzger *et al*., 2006) .

Indivíduos ML podem apresentar efeito terapêutico prolongado ou, então, toxicidade após a administração de uma dose convencional de fármaco, conferindo predisposição genética para o surgimento de efeitos colaterais induzidos pelo medicamento. Ao contrário, MURs podem não atingir níveis terapêuticos adequados após a administração de doses habitualmente utilizadas, conferindo a falha da terapêutica empregada para o tratamento da doença. Sendo assim, fatores genéticos são importantes determinantes da eficácia ou da toxicidade medicamentosa e a identificação dos mesmos é o objetivo da farmacogenética (Meyer *et al*., 2000; Evans & Relling, 1999).

A CYP2D6, apesar de ser expressa em baixas proporções quando comparada com outras isoformas do citocromo P450 humano, apresenta importante função no metabolismo de várias classes de fármacos, sendo responsável pela maioria das biotransformações oxidativas de fármacos psicoativos e cardiovasculares (Efferth & Volm, 2005; Scordo & Caputi, 2004).

Considerando a importância da personalização terapêutica, como uma forma de otimizar o tratamento conforme as diferenças nas características genéticas dos indivíduos, e sabendo da relevância que CYP2D6 tem em relação ao metabolismo de fármacos, o objetivo deste estudo foi avaliar a variabilidade dos alelos da CYP2D6 que estão relacionados com o metabolismo de fármacos antidepressivos (CYP2D6*1, CYP2D6*2, CYP2D6*4, CYP2D6*6, CYP2D6*29), medicamentos que são utilizados no tratamento de doenças com importante relevância na atualidade, tais como a depressão e a migranea (Efferth & Volm, 2005).

METODOLOGIA

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Farmacologia Bioquímica e Molecular do Departamento de Ciências Fisiológicas - Instituto de Ciências Biológicas da UFG e os procedimentos constantes neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição (CEP/UFG 204/2009).

População em estudo: Participaram do estudo 58 indivíduos voluntários saudáveis de ambos os sexos (34 homens e 24 mulheres), nascidos e residentes no estado de Goiás com idade entre 19 a 50 anos, escolhidos aleatoriamente e convidados a participarem do estudo, após o esclarecimento e aprovação pelos mesmos de todo o procedimento e finalidade da pesquisa, de acordo com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Isolamento do DNA **:** Foram coletadas amostras sanguíneas (2 mL), através de punção á vácuo da veia braquial ou outra escolhida pelo coletor, sendo estas depois transferidas para tubos estéreis contendo EDTA. O isolamento do DNA foi realizado utilizando o kit *Purelink Genomic DNA*® (Invitrogen, San Diego, CA, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Transferiu-se 200 µL de sangue total para microtubos estéreis de 1,5 mL, em seguida foram acrescentados 40 µL de proteinase K e 40 µL de Rnase A. Em seguida as amostras foram incubadas a 55°C em banho seco por 10 minutos para promover a digestão das proteínas. Então, adicionou-se 200 µL de etanol para o lisado e em seguida o lisado foi submetido à coluna de separação, centrifugada a 10.000 Xg por 1 minuto. A coluna, contendo o DNA, foi reservada e submetida à lavagem com tampão fornecido pelo kit. Após centrifugação, uma segunda lavagem foi efetuada e, a seguir, o DNA purificado foi obtido através da adição de tampão de eluição à coluna. Após centrifugação, o tampão remanescente contendo o DNA, foi recolhido e armazenado a -20 ºC até o momento do uso.

Amplificação do DNA**:** Foi adicionados 2 µL de DNA ao tampão (10X PCR Buffer) contendo $MgCl_2$ 1,5 mM, dNTPs 0,2 mM, 0,4 µM de cada oligonucleotídeo iniciador e 2U Taq polimerase em volume final de 20 µL. Os oligonucleotídeos foram construídos para amplificar as regiões específicas do gene que apresentam os polimorfismos de interesse do estudo. As reações foram realizadas em termociclador de acordo com as condições de ciclos e temperaturas determinados previamente.

As amostras foram aplicadas em gel de agarose (1%) preparado em tampão 1x TBE, contendo brometo de etídio, correram a 90 V em tampão de corrida 1x TBE. Os produtos amplificados foram então visualizados em fotodocumentador UV.

Sequenciamento: Para confirmação da identidade dos produtos de DNA formados e identificação dos polimorfismos, amostras contendo os produtos de amplificação foram preparadas para o sequenciamento, utilizando o kit *Big Dye* (Life Technologies Corporation®), seguindo as instruções do fabricante. Os produtos amplificados foram identificados em sequenciador ABI PRISM 377 (Applied Biosystems) permitindo assim localizar e analisar os nucleotídeos, confirmando ou não a presença dos sítios polimórficos de interesse. Os polimorfismos analisados envolvem substituições de nucleotídeos únicos (SNPs)

e/ou exclusão de bases, assim determinados: CYP2D6*1 (selvagem), CYP2D6*2 (2850C>T, atividade enzimática semelhante ao selvagem), CYP2D6*4 (1846G>A), CYP2D6*6 (1707delT) e CYP2D6*29 (1659G>A).

RESULTADOS

As frequências alélicas e genotípicas na população estudada estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Em relação à característica metabolizadora, seguindo a análise genética, 42 indivíduos apresentaram os alelos *1 e *2 em homozigoze (*1/*1 ou *2/*2) ou em heterozigoze (*1/*2), sendo classificados como metabolizadores extensivos. 14 indivíduos, carregando um alelo selvagem (*1 ou *2) e um mutado (*4, *6 ou *29) foram classificados como metabolizadores intermediários. 2 indivíduos apresentaram alelos mutados em homozigoze (1 com *4/*4 e outro com *6/*6*), sendo assim considerados metabolizadores lentos (Tabela 3).

Tabela 1. Frequência alélica da CYP2D6 na população estudada.

Alelos	N	Frequência (%)
CYP2D6*1	41	35,3
CYP2D6*2	57	49,1
CYP2D6*4	14	12,1
CYP2D6*6	3	2,6
CYP2D6*29	1	0,9

Tabela 2. Frequência genotípica da CYP2D6 na população estudada.

Genótipo	N	Frequência (%)	Classificação
CYP2D6*1/*1	12	20,69	ME
CYP2D6*1/*2	14	24,14	ME
CYP2D6*1/*4	2	3,45	MI
CYP2D6*1/*6	1	1,72	MI
CYP2D6*2/*2	16	27,59	ME
CYP2D6*2/*4	9	15,52	MI
CYP2D6*2/*6	1	1,72	MI
CYP2D6*4/*4	1	1,72	ML
CYP2D6*4/*6	1	1,72	ML
CYP2D6*2/*29	1	1,72	MI

Tabela 3. Frequência do perfil de metabolizador na população estudada.

Classificação	N	Frequência
Metabolizadores extensivos	42	72,41 %
Metabolizadores intermediários	14	24,14 %
Metabolizadores lentos	2	3,45 %

DISCUSSÃO

Diferenças na resposta ao tratamento farmacológico podem estar relacionadas a fatores genéticos. Conhecer o perfil genético de cada paciente é importante para o atendimento médico no provimento de subsídios para prever a possível resposta ao tratamento. A variabilidade interindividual na resposta a terapias específicas pode ser causada por polimorfismos em genes codificadores de proteínas relacionadas ao metabolismo de fármacos, tais como a família dos genes CYP450 (Falzoi *et al*., 2012).

CYP2D6 foi um dos primeiros genes polimórficos estudados de interesse farmacológico e seu significado clínico tem sido extensivamente investigado (Efferth & Volm, 2005).

Já foram realizados diversos estudos sobre o impacto de polimorfismos genéticos de CYP2D6 em relação à farmacocinética de fármacos antidepressivos (Spina *et al.* 1984), entre os quais desipramina (Carrillo *et al.;* 1996), fluoxetina (Eap *et al.,* 1992) e trimipramina (Falzoi *et al*., 2012).

Baseado na importância que a CYP2D6 tem para a biotransformação de antidepressivos, este estudo traz informações preliminares a respeito do perfil genotípico da população goiana, promovendo subsídios para estudos posteriores que visem associar a característica de metabolizador enzimático de indivíduos portadores de depressão ou migranea, procedentes desta região, com a faixa de doses terapêuticas de antidepressivos que melhor se enquadrarão individualmente no tratamento destes pacientes. No entanto, é necessário que este estudo seja ampliado para definir a representação significativa e real da população goiana.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos constituem-se em informações preliminares sob a frequência alélica e genotípica de alelos da CYP2D6 relacionados com o metabolismo de fármacos antidepressivos presentes na população goiana. Dados genotípicos da CYP2D6, quando aliados ao perfil fenotípico das concentrações teciduais dos fármacos em pacientes sob tratamento com antidepressivos, constituem-se em importantes ferramentas para subsidiar a previsão individual de doses dos medicamentos, evitando a ineficácia terapêutica ou a incidência de efeitos colaterais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carrillo JA, Dahl ML, Svensson JO, et al. Disposition of fluvoxamine in humans is determined by the polymorphic CYP2D6 and also by the CYP1A2 activity. *Clin Pharmacol Ther*, 60:183-190, 1996.

Eap CB, Laurian S, Souche A, Koeb L, Reymond P, Buclin T, Baumann P. Influence of quinidine on the pharmacokinetics of trimipramine and on its effect on the waking EEG of healthy volunteers. A pilot study on two subjects. *Neuropsychobiology*, 25:214-220, 1992.

Efferth T , Volm M. Pharmacogenetics for individualized cancer chemotherapic. German Cancer Research Center, M070, In Neuenheimer Feld 282, 69120 Heidelberg. *Pharmacol Ther*., 107(2):155-76, 2005.

Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. Department of Pharmaceutical Sciences, St. Jude Children's Research Hospital. *Science*, 15;286(5439):487-491, 1999.

Falzoi M, Pira L, Lazzari P, Pani L. Analysis of CYP2D6 allele frequencies and identification of novel SNPs and sequence variations in Sardians. ISRN Genetics, Article ID 204560, 10 pg., 2012.

Metzger I.F, Souza-Costa DC, Tanus-Santos JE. Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. *Medicina* (Ribeirão Preto), 39 (4): 515-521, 2006.

Meyer U.A. Drugs in special patient groups: clinical importance of genomics on drug effects. In: Carruthers GS, Hoffmann BB, Melmon KL, Nieremberg DW, editors. New York: McGraw HiLL., 1179-1205, 2000.

Qumsieh RY, Ali BR, Abdulrazzaq YM, Osman O, Akawi NA. Identification of New Alleles and the Determination of Alleles and Genotypes Frequencies at the CYP2D6 Gene in Emiratis. *PLoS ONE*, 6 (12): e28943, 2011.

Scordo MG, Caputi AP. Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in Italian population. Department of Experimental and Clinical Medicine and Pharmacology, Section of Pharmacology, University of Messina, Torre Biologica, Policlinico Universitario, Via Consolare, Valeria-Gazzi, 98125 Messina, Italy. *Pharmacol Res*., 50(2):195-200, 2004.

Spina E, Birgersson C, von Bahr C et al. Phenotypic consistency in hydroxylation of desmethylimipramine and debrisoquine in healthy subjects and in human liver microsomes. *Clin Pharmacol Ther*., 36:677-682, 1984.

ESTUDO DA APLICAÇÃO DO PENTÓXIDO DE NIÓBIO COMO PROMOTOR DE REAÇÕES ORGÂNICAS

Karolina de Oliveira Gonçalves (IC), Guilherme Roberto de Oliveira (PQ)

Universidade Federal de Goiás - UFG, Instituto de Química,

Caixa Postal 131, CEP 74001-970 – Goiânia/GO – Brasil.

Resumo

Catalisadores sólidos podem ter as suas propriedades químicas melhoradas através do tratamento químico adequado. Como exemplo, o ácido nióbico ($Nb_2O_5.nH_2O$) se comportar como ácido de Lewis após a submissão ao tratamento com solução aquosa de ácido fosfórico. Nesse trabalho realizou-se um estudo inicial sobre a possibilidade da aplicação desse sólido como ácido de Lewis em reações orgânicas. Foi estudada a potencialidade de sua aplicação em reações de Biginelli, síntese de flavonas, compostos benzodiazepínicos e benzoimidazóis. Nos casos estudados, o pentóxido de nióbio ativado demonstrou capacidade para promover reações de Biginelli levando a obtenção de dihidropirimidinas em rendimentos razoáveis. No estudo de sua aplicação na síntese de azo-flavonas a partir de 2'-aminochalconas, dependendo das condições experimentais, este leva a formação de dois polimorfos do reagente no mesmo sistema reacional ou promove uma reação de dimerização do reagente.

Palavras-Chave: pentóxido de nióbio, ácido de Lewis, síntese orgânica.

*email: karolquimi@gmail.com

Introdução

O estudo da aplicação de novos catalisadores para a síntese de compostos orgânicos que possuem atividade biológica vem crescendo nos últimos anos. Como exemplo pode-se citar a aplicação na síntese de benzoadiazepínicos, benzoimidazóis, dihidropirimidinas e azo-flavanonas.[1] A síntese dos benzodiazepínicos e os benzoimidazóis pode ocorrer pela reação de condensação da *o*-fenilenodiamina com cetonas[2] e aldeídos respectivamente.[3]As dihidropirimidinas e seus derivados podem ser obtidos a partir de uma reação multi-componente conhecida como reação de Biginelli. Essas reações apresentam um melhor resultado quando o catalisador utilizado é um ácido de Lewis, mas normalmente esta etapa é lenta e gera mais do que o produto esperado, com isso a aplicação de novos catalisadores que venham aumentar a velocidade da reação e diminuir os subprodutos vem sendo estudados.

Corrigido pelo orientador

Pentóxido de nióbio em catálise heterogenia

A aplicação de catalisadores sólidos na síntese de compostos orgânicos chamam á atenção uma vez que são de fácil aplicação e manipulação, geram grandes rendimentos e possibilidade da reciclagem do catalisador que poderá ser usado em outras reações com o mesmo desempenho anterior.[4] O ácido nióbico é um dos tipos de catalisadores sólidos e podem ter usas propriedades catalíticas melhoradas a partir de certos tratamentos. Um exemplo é o seu tratamento com ácido fosfórico para que esse apresente características de ácido de Lewis.

Objetivo

Este trabalho objetivou o estudo das aplicações catalíticas do ácido nióbico ativado com ácido fosfórico nas reações de Biginelli, síntese azo-flavonas, benzodiazepínicos e benzoimidazóis.

Metodologia

- **Preparação do catalisador**:

Inicialmente se adicionou a 100,0 mL da solução de ácido fosfórico (1,0 $mol.L^{-1}$), 10,00 gramas de pentóxido de nióbio comercial fornecido pela Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM). Essa mistura foi submetida à agitação a temperatura ambiente por 3 horas. Posteriormente, o sólido foi filtrado e seco em estufa à 120ºC por 6 horas.

- **Síntese dos benzodiazepínicos e dos benzoimidazóis** :

Um balão de fundo redondo contendo uma mistura de cetona/aldeído (2,0 mmol), *o*-fenilenodiamina (1,0 mmol) e pentóxido de nióbio ativado (2,0 mmol) foi submetido à agitação na ausência e presença de solvente por um período mínimo de 3 horas. As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada utilizando-se como fase móvel uma mistura de acetato de etila-hexano. Os produtos obtidos foram purificados por recristalização ou cromatografia em coluna.

- **Síntese dos derivados da dihidropirimidinas (Reação de Biginelli)**:

Em um balão de fundo redondo contendo uma mistura de ácido acético glacial (5,0 mL), pentóxido de nióbio ativado (0,5g), aldeído (2,0 mmol), acetoacetato de metila (2,0 mmol) e tioureia (3,0 mmol) foi submetido a agitação por 1 h a uma temperatura de 110 ^{0}C. As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada utilizando-se como fase móvel uma mistura de acetato de etila-hexano. Posteriormente, retirou-se o catalisador por uma filtração a vácuo e o filtrado adicionado em 20 mL de água destilada gelada. O precipitado obtido foi recristalizado em etanol.

Resultados e Discussão

A análise da aplicação catalítica do pentóxido de nióbio tratado com ácido fosfórico foi investigada em diversas reações orgânicas. Inicialmente se buscou investigara a sua aplicação na síntese de benzodiazepínicos. Como modelo procurou-se investigar o seu poder catalítico na reação entre a acetofenona e *o*-fenilenodiamina levando ao composto **1** (Figura 1).

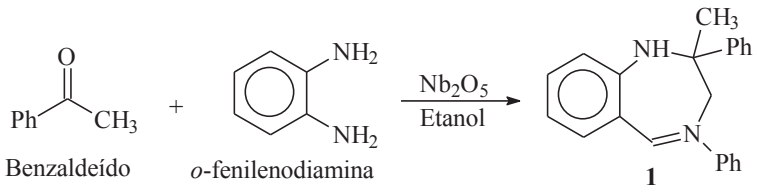


Figura 1–Esquema da reação da acetofenona com a *o*-fenilenodiamina levando ao composto **1**.

Após longos períodos de reação, aproximadamente 20 horas, não se obteve o produto esperado. A partir da inércia desse sistema reacional, buscou-se investigar a aplicação do sólido na síntese de benzoimidazóis a partir da reação de aldeídos e *o*-fenilenodiamina. Sendo os aldeídos compostos carbonílicos mais reativos do que as cetonas esse tipo de reação poderia ocorrer com êxito. Como modelo, procurou-se reagir o benzaldeído com a diamina na presença do pentóxido de nióbio ativado e sob aquecimento para se obter o composto **2** (Figura 2).

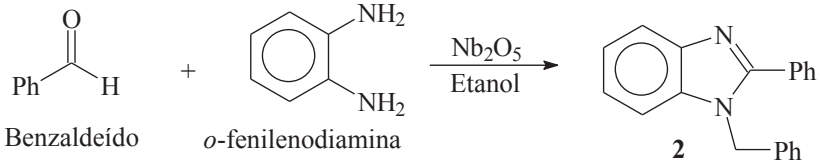
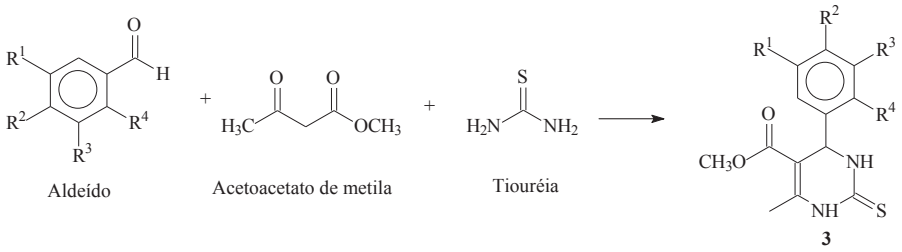


Figura 2–Esquema da reação entre o benzaldeído e a *o*-fenilenodiamina levando ao benzoimidazol **2**.

A reação foi investigada na ausência e presença de solvente e o tempo reacional variou de 1 a 6 horas. Na ausência de solvente não se observou a formação do produto e quando se empregou etanol o rendimento ficou abaixo de 10%. A formação do produto foi confirmada por RMN ^{1}H através das absorções de hidrogênios benzílicos presentes no produto [δ 5,42 (s, 2H)].

Paralelamente, investigou-se a aplicação do catalisador em reações de Biginelli levando a formação das dihidropiridinas 3 (Figura 3).



3a: $R^1=R^2=R^3=CH_3O$, $R^4=H$ (76%); **3b**: $R^1=R^3=R^4=H$, $R^2=p\text{-}O_2N$ (<10%); **3c**: $R^1=R^2=R^3=R^4=$ (24%); **3d**: $R^1=R^2$ = -OCH_2O- $R^3=R^4=H$ (<10%); **3e**: $R^1=R^4=H$, $R^2=OH$, R^3 = OCH3 (<10%); **3f**: $R^1=R^3=R^4=H$, $R^2= p\text{-}(CH_3)_2N$ (<10%); **3g**: $R^1\text{-}R^3=R^4=H$, $R_2=CH_3O$ (<10%)

Figura 3 - Esquema da reação de Biginelli levando a dihidropiridinas.

Ao contrário das reações anteriores, o sólido mostrou-se promissor para atuar como promotor desse tipo de reação. Nesse caso, vários aldeídos foram utilizados e os melhores rendimentos variaram de 24 a 76 %. Quando o aldeído utilizado foi o benzaldeído, a formação do produto foi corroborada por RMN ^1H devido a presença dos singletos característicos de absorções de hidrogênios ligados ao grupo –NH [δ 9,51 (s, 1H)] e [δ 8,82 (s, 1H)] e presença das absorções [δ 3,65 (s, 3H)] e [δ 2,32 (s, 3H)] característicos do grupo metoxila e metila respectivamente.

Também se investigou a aplicação desse catalisador como promotor de reações tipo aza-Michael intramolecular para a síntese de azo-flavonas. A figura abaixo descreve os resultados observados (Figura 4).

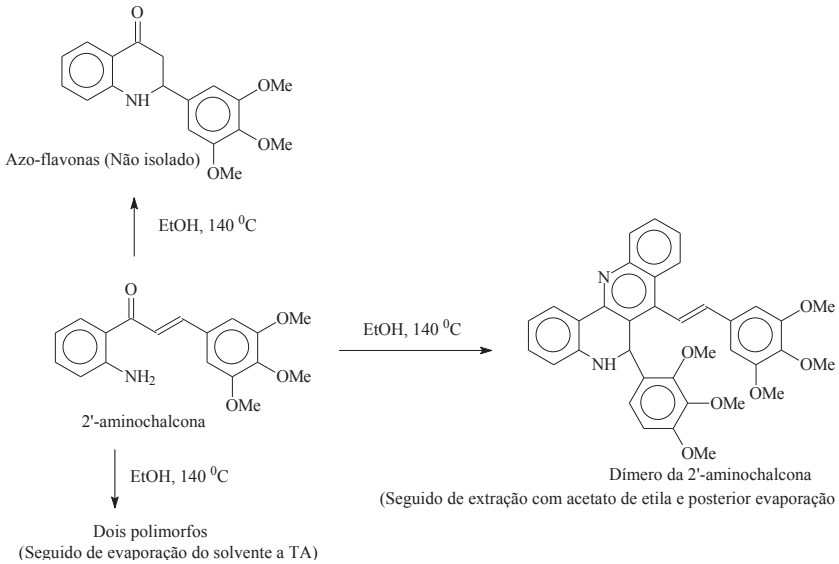
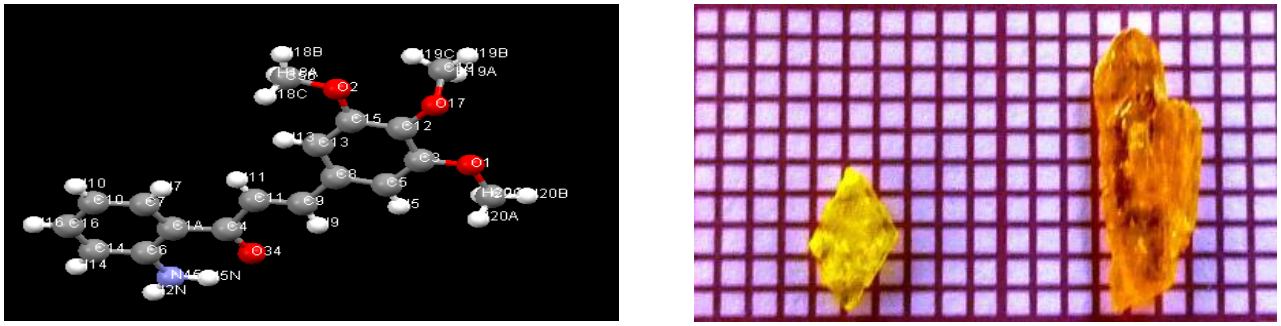


Figura 4 – Esquema da reação tipo aza-aldol intramolecular de 2'-aminochalcona na presença de pentóxido de nióbio como catalisador.

Nesse caso, quando a chalcona foi submetida por 4 horas a refluxo a 135 ^{0}C em etanol e posteriormente deixou-se esfriar e o solvente evaporar lentamente a temperatura ambiente, percebeu-se a formação de dois polimorfos da 2'-aminochalcona, um sob a forma de um cristal amarelo e outro na cor laranja, sendo que o primeiro refere-se ao mesmo polimorfo associado ao reagente de partida. A estrutura foi confirmada por difração de raio-x e os dois polimorfos pertencem o grupo espacial $P2_1/c$ (Figura 5).



(a) **(b)**

Figura 5 – (a) ORTEP obtido para um dos polimorfos da 2'-aminochalcona. (b) Foto dos dois polimorfos obtidos simultaneamente no mesmo sistema de cristalização na presença do Nb_2O_5.

Interessante ressaltar de que seguindo procedimento análogo, porém ao término do período de reação o tratamento do sistema reacional com a extração com acetato de etila e imediata evaporação do solvente observou-se a formação de um sólido cristalino que foi caracterizado por difração de raio-x como um dímero da 2'-aminochalcona que ainda não foi descrito na literatura. (Dados cristalográficos não apresentados).

CONCLUSÃO

Resultados preliminares mostraram que o pentoxido de nióbio é ineficiente na síntese de benzodiazepínicos e benzoimidazóis. Porém esse mostrou-se promissor na síntese de dihidropiridinas por reações de Biginelli e surge como um método interessante para a dimerização de 2'-aminochalconas.

REFERÊNCIAS

1.Tabakhsh,, M.; Ranbjar, Y.; Masuodi, A.;Khaksar, S. Acid. *Chin. J. Catal*., **2012**,*33*,1542.

2.(a) Pan, X.-Q.; Zou, J.-P.; Huang, Z.-H.; Zhang, W. *Tetrahedron Lett.*2008, *49*, 5302; (b) Varala, R.; Enugala, R.; Adapa, S. R. *J. Braz. Chem. Soc*. **2007**, *18*, 291; (c) Sivamurugan, V.; Deepa, K.; Palanichamy, M.; Murugesan, V. *Synth. Commun*. **2004**, *34*, 3833; (d) Chen, W. Y.; Lu, J. *Synlett***2005**, 1337; (e) Pozarentzi, M.; Stephanidou-Stephanatou, J.; Tsoleridis, C. A. *Tetrahedron Lett*. **2002**, *43*, 1755; (f) Kuo, C.-W.; More, S. V.; Yao, C.-F. *Tetrahedron Lett*. **2006**, *47*, 8523; (g) Chari, M. A.; Shobha, D.; Syamasundar, K. J. *Heterocycl. Chem*. **2007**, *44*, 929; (h) Balakrishna, M. S.; Kaboudin, B. *TetrahedronLett*. **2001**, *42*, 1127; (i) Curini, M.; Epifano, F.; Marcotullio, M. C.; Rosati, O. *TetrahedronLett*.**2001**, *42*, 3193.

3.(a) Trivedi, R.; De, S. K.; Gibbs, R. A. *J. Mol. Catal. A: Chem*. **2006**, 245, 8; (b) Oskooie, H. A.; Heravi, M. M.; Sadnia, A.; Behbahani, F. K.; Jannati, F. *Chin. Chem. Lett*. **2007**, *18*, 1357; (c) Landge, S. M.; Török, B. *Catal. Lett*. **2008**, *122*, 338; (d) Varala, R.; Nasreen, A.; Enugala, R.; Adapa, S. R. *TetrahedronLett*. **2007**, *48*, 69; (e) Jacob, R. G.; Dutra, L. G.; Radatz, C. S.; Mendes, S. R.; Perin, G.; Lenardão, E. J. *TetrahedronLett*. **2009**, *50*, 1495.

4. (a) Neelakandeswaria, N.; Sangamia, G.; Emayavarambana, P.; Babub, S. G.; Karvembub, R.; Dharmaraja, N. *J. Mol. Catal. A: Chem*. **2012**, *356*, 90. (b) Varghese, S.; Nagarajan, S.; Benzigar, M. R.; Mano, A.; Alothman, Z. A.; Raj, G. A. G. Raj.; Vinu, A.

5. Morais, M.; Torres, E. F.; Carmo,L. M. P. M.; Pastura, N. M. R.; Gonzalez, W. A.; A.C.B. Santos, A. C. B.; Lachter, E. R. *Catal. Today*. **1996**, *28*, 17.

Introdução a um Sistema de Leis de Conservação*

Laena Furtado Borges
E-mail: lae.na@hotmail.com - Orientanda do PIBIC.

Jesus Carlos da Mota
E-mail: jesusdamota@gmail.com - Orientador do PIBIC.

Instituto de Matemática e Estatística, Universidade Federal de Goiás,- Caixa Postal 131, CEP: 74001-970, Campus Samambaia, Goiânia, Brasil.

Resumo

Neste trabalho estudamos a solução do problema de Riemann (condições iniciais constantes por partes) para um sistema de duas equações diferenciais parciais não lineares. O sistema modela o escoamento unidimensional de um gás isentrópico, isto é, com entropia constante. Para cada dado inicial no espaço de estados, dividimos esse espaço em quatro regiões, e a solução é dada através de uma sequência de ondas de choques e de rarefações.

Palavras-Chaves: EDP, Choque-k, Rarefação-k, Leis de Conservação.

*REVISADO PELO ORIENTADOR

1 Introdução

Problemas de escoamento em meios porosos e muitos outros problemas em dinâmica dos fluídos são modelados por uma equação ou um sistema linear de equações diferenciais parciais. O projeto de pesquisa onde este trabalho está vinculado trata de um sistema não linear de equações diferenciais parciais que modela um escoamento multifásico num meio poroso, levando-se em conta uma frente de combustão propagando-se através do meio.

O currículo regular do Curso de Matemática (Bacharelado) do IME-UFG, inclui o estudo, apenas superficial, de alguns tipos de equações lineares, como a Equação do Calor, Equação da Onda e Equação de Laplace, mas não inclui o estudo de equações diferenciais parciais não lineares e muito menos de sistemas de equações não lineares.

No primeiro ano da iniciação científica estudamos o problema de Riemann (condições iniciais constantes por partes) para uma única equação diferencial parcial não linear, modelando o escoamento de uma fase em um meio poroso.

Neste trabalho o objetivo é estudar o problema de Riemann para um sistema de duas equações diferenciais parciais não lineares que modela o escoamento de um gás isentrópico (entropia constante). O sistema em coordenadas Lagrangianas é dado por,

$$v_t - u_x = 0, \quad u_t + \left(\frac{k}{v^\gamma}\right)_x = 0, \quad t > 0, \quad x \in \mathbb{R}, \tag{1}$$

onde $k > 0$ e $\gamma \geq 1$ são constantes. A primeira equação representa a conservação da massa do gás e a segunda a conservação do momento. Nessa equaçõe v denota o volume específico, ou seja, $v = \rho^{-1}$, onde ρ é a densidade, e u denota a velocidade. A constante γ é denominada constante adiabática dos gases, e $1 < \gamma < 3$ para muitos gases.

Na Seção 2 descrevemos os principais conceitos envolvidos no trabalho, como, por exemplo condições de entropia e de Hankine-Hugoniot. Na Seção 3 descrevemos a solução do problema de Riemann para um sistema de duas equações (1) com dados iniciais de Riemann quaisquer. E logo depois na Seçã 4 descrevemos as curvas de choques e rarefações para um exemplo com pressão específica.

Para a teoria de equações diferenciais parciais, com ênfase em sistema de leis de conservação, ver por exemplo [1] e [2].

2 Conceitos básicos

O sistema (1), pode ser escrito na forma,

$$U_t + F(U)_x = 0, \tag{2}$$

onde, $U = (v, u), \quad F(U) = (-u, p(v))$, e $p(v) = \dfrac{k}{v^\gamma}$. O problema de Riemann para (2) tem os valores iniciais da forma,

$$U(x,0) = U_0(x) \equiv \begin{cases} U_l = (v_l, u_l), & x < 0 \\ U_r = (v_r, u_r), & x > 0. \end{cases} \tag{3}$$

Para resolvermos o problema de Riemann precisamos encontrar os valores característicos, onde esses são os autovalores da seguinte matriz Jacobiana,

$$dF = \begin{pmatrix} 0 & -1 \\ p'(v) & 0 \end{pmatrix},$$

que possui dois autovalores reais e distintos

$$\lambda_1 \equiv -\sqrt{-p'(v)} < 0 < \sqrt{-p'(v)} \equiv \lambda_2. \tag{4}$$

Vamos resolver esse problema em uma classe de funções consistindo de estados constantes, separado por uma onda de choque ou uma onda de rarefação. Temos duas classes de ondas para (2); chamadas choque-1 e choque-2, referentes aos autovalores λ_1 e λ_2 respectivamente. Vimos em [4] como era a condição de entropia para o caso de uma equação diferencial parcial não linear, agora buscamos estender esse conceito para um sistema de duas equações diferenciais parciais não lineares, através de várias análises (ver [1]) encontramos as seguintes inequações,

$$s < \lambda_1(U_l), \quad \lambda_1(U_r) < s < \lambda_2(U_r), \tag{5}$$

para o choque-1, e

$$\lambda_1(U_l) < s < \lambda_2(U_l), \quad \lambda_2(U_r) < s. \tag{6}$$

para o choque-2. Onde s denota a velocidade característica. Essas inequações são chamadas condição de entropia ou condição de choque. Sendo $\lambda_1 < 0 < \lambda_2$, das inequações temos que $s < 0$ para choque-1 e $s > 0$ para choque-2.

Substituindo (4) nas equações (5) e (6) temos que,

$$-\sqrt{-p'(v_r)} < s < -\sqrt{-p'(v_l)} \tag{7}$$

e

$$\sqrt{-p'(v_r)} < s < \sqrt{-p'(v_l)}. \tag{8}$$

Da mesma forma que estendemos o conceito de condição de entropia, vamos estender o conceito de condição de Hankine-Hugoniot ou condição de salto (ver [1]). Para o sistema (1), temos que

a condição de salto é da forma,

$$s[v] = -[u], \quad s[u] = [p(v)], \tag{9}$$

onde, $[v] = v_l - v_r, [u] = u_l - u_r$ e $[p(v)] = p(v_l) - p(v_r)$. A equação (9) é conhecida como condição de Rankine-Hugoniot para um sistema de duas equações diferenciais parciais.

3 Problema de Riemann para o sistema P

Agora consideremos a seguinte questão: dado o estado $U_l = (v_l, u_l)$, qual é o possível estado $U = (v, u)$ que podemos conectar com U_l pela direita por um choque-1? Mais precisamente, vamos procurar o estado U que resolve o problema de Riemann (2) com valor inicial (U_l, U). O possível estado U deve satisfazer a condição de salto (9). Em cada caso essa condição é dado por,

$$s(v - v_l) = -(u - u_l) \quad ; \quad s(u - u_l) = p(v) - p(v_l). \tag{10}$$

Eliminando o s das equações obtemos

$$u - 1 = \pm\sqrt{(v - v_l)(p(v_l) - p(v))}. \tag{11}$$

Agora vamos escolher o sinal correto de (11). Para isso, note por (7) que

$$-\sqrt{-p'(v)} < -\sqrt{-p'(v_l)}.$$

Assim, $p'(v_l) > p'(v)$, e $p'' > 0$, temos que $v_l > v$. Como vimos que $s < 0$ para o choque-1, então por (10) vemos que $u - u_l < 0 \Rightarrow u < U - l$. Portanto o sinal de (11) é negativo assim,

$$S_1 : u - u_l = -\sqrt{(v - v_l)(p(v_l) - p(v))} \equiv s_1(v; U_l), \quad v_l > v \tag{12}$$

Chamamos essa curva de *choque-1*, conforme esboço na figura 1(a).

Se U_r é um ponto dessa curva, o problema de Riemann para (2) com valores iniciais (U_l, U_r) podem ser resolvidos por um choque-1, como na figura 1(b). A velocidade s do choque pode ser obtido pela equação (10), onde (5) é válida para essa solução. De maneira análoga, podemos construir a curva S_2, consistindo por todos os estados que podem ser conectados ao estado U_l por um choque-2 pela direita. Onde o sinal de (11) é negativo. Assim,

$$S_2 : u - u_l = -\sqrt{(v - v_l)(p(v_l) - p(v))} \equiv s_2(v; U_l), \quad v_l < v. \tag{13}$$

Chamamos essa curva de *choque-2*, conforme esboço na figura 2(a).

Se U_r é um ponto dessa curva, o problema de Riemann para (2) com valores iniciais (U_l, U_r)

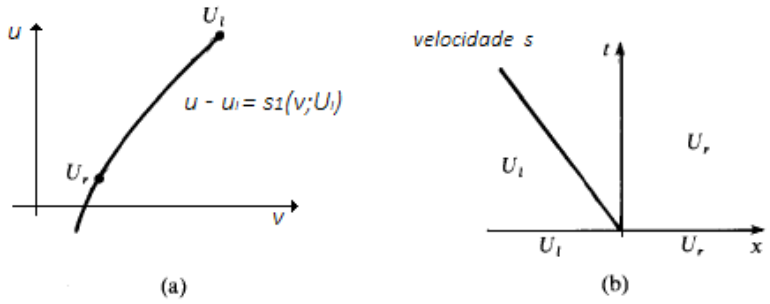


Figure 1:

pode ser resolvido por um choque-2, como na figura 2(b). A velocidade s do choque pode ser obtido pela equação (10), onde (6) 'e válida para essa solução. Agora vamos estudar as ondas

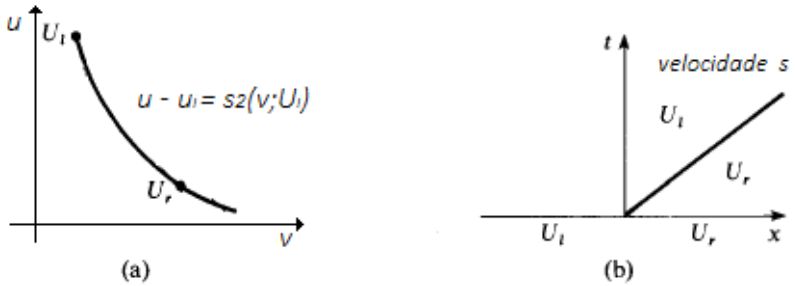


Figure 2:

de rarefações para o problema (2)-(3). Lembramos que uma onda de rarefação é uma solução contínua da forma $U = U(x/t)$.Temos duas famílias de ondas de rarefações, correspondente aos autovalores λ_1 e λ_2. A solução do problema de Riemann exige que $\lambda_k(U(x/t))$ seja uma função crescente de x/t, $k = 1, 2$, pois, caso contrário teríamos superposição de soluções.

Seja $\xi = x/t$, temos que $U = U(x/t)$ satisfaz a equeção diferencial ordinária,

$$-\xi U_\xi + F(U)_\xi = 0,$$

ou

$$(dF - \xi I)U_\xi = 0.$$

Se $U_\xi \neq 0$, temos que U_ξ é um autovetor de dF para o autovalor ξ. Se dF tem dois autovalores reais e distintos $\lambda_1 < \lambda_2$, vamos ter duas famílias de ondas de rarefações, rarefação-2 e rarefação-1 que correspondem a λ_1 e λ_2 respectivamente.

Denominamos de onda-1 as soluções do Problema de Riemann compostas por choque-1 ou rarefação-1. A onda-2 é definida de forma análoga.

Primeiro vamos considerar o caso de onda-1. O autovetor $U_\xi = (v_\xi, u_\xi)$ satisfaz

$$\begin{pmatrix} -\lambda_1 & -1 \\ p'(v) & -\lambda_1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} v_\xi \\ u_\xi \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix},$$

Daí, $\lambda_1 v_\xi + u_\xi = 0$. Desde que $v_\xi \neq 0$, temos que $u_\xi / v_\xi = -\lambda_1$, assim

$$\frac{du}{dv} = -\lambda_1(v,u) = \sqrt{-p'(v)}$$

Integrando a equação acima obtemos

$$R_1 : u - u_l = \int_{v_l}^{v} \sqrt{-p'(y)}dy \equiv r_1(v; U-l), \quad v > v_l. \tag{14}$$

O requisito de que $\lambda_1(v) > \lambda_1(v_l)$ dá $p'(v) > p'(v_l)$, assim $v > v_l$, desde que $p'' > 0$. A curva é descrita pela figura 3.

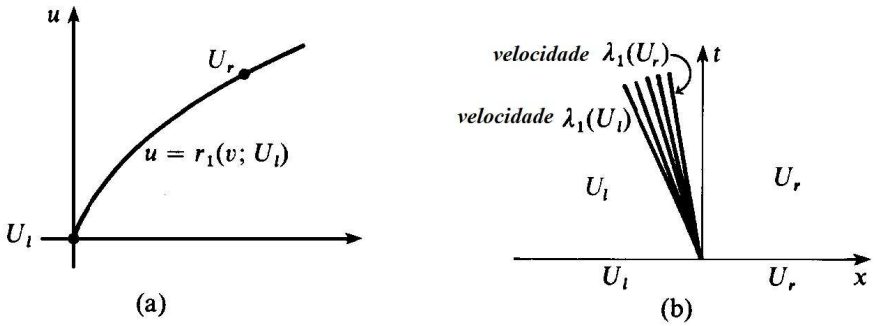


Figure 3:

Finalmente, de forma análoga a onda de rarefação-2 é a curva definida por,

$$R_2 : u - u_l = -\int_{v_l}^{v} \sqrt{-p'(y)}dy \equiv r_2(v; U-l), \quad v_l > v, \tag{15}$$

A curva é descrita pela figura 4.

Nós podemos colocar essas curvas juntas no plano $v-u$ para obter a figura 5. Isso mostra que o plano $v-u$ é dividido em quatro regiões abertas disjuntas I, II, III e IV.

Recordamos que a curva $u - u_l = r_1(v; U_l)$ e $u - u_l = s_1(v; U_l)$ tem contato de segunda ordem em U_l; isto é, as duas derivadas são iguais neste ponto. O mesmo é verdadeiro para as duas curvas correspondentes a família do segundo valor característico.

Agora vamos considerar o problema geral de Riemann (2),(3). Consideremos U_l fixo e U_r variando. Se U_r se encontra sobre uma das quatro curvas acima, isto é, se $u_r - u_l = r_i(v_r; U_l)$,

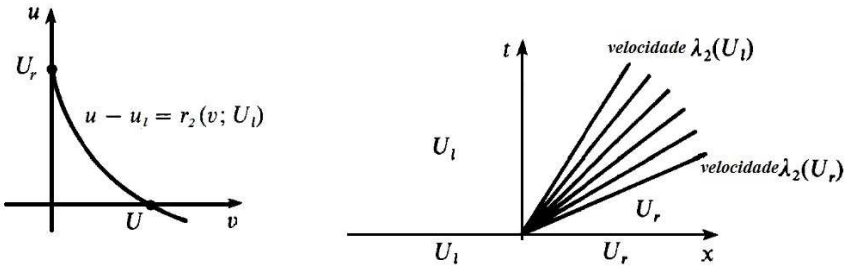


Figure 4:

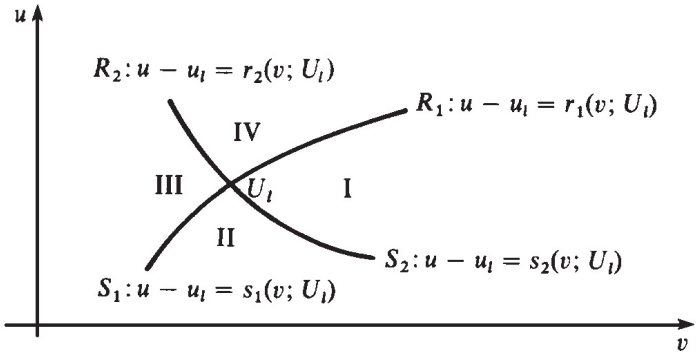


Figure 5:

ou $u_r - u_l = s_i(v_r; U_l), i = 1, 2$, já vimos a solução. Assim assumiremos que U_r está em uma das quatro regiões abertas I, II, III, ou IV, visto na figura 5.

Definimos, $\overline{U} \in \mathbb{R}^2$,

$$S_i(\overline{U}) = \{(v, u) : u = s_i(v; \overline{U})\}, \quad i = 1, 2,$$

$$R_i(\overline{U}) = \{(v, u) : u = r_i(v; \overline{U})\}, \quad i = 1, 2,$$

e

$$W_i(\overline{U}) = S_i(\overline{U}) \cup (R_i\overline{U}), \quad i = 1, 2.$$

Para um $U_l \in \mathbb{R}^2$ fixado. Vamos considerar a família de curvas

$$\mathscr{F} = \{W_2(\overline{U}) : \overline{U} \in W_1(U_l)\};$$

ver a figura 6. Vamos assumir por um momento, que o plano $v - u$ é coberto unicamente pela família de curvas $\mathscr{F}$, isto é, através de cada ponto U_r, temos exatamente uma curva de $W_2(\overline{U})$ de $\mathscr{F}$. A solução do problema de Riemann (2), (3) é o seguinte: Conectamos $\overline{U}$ com U_l por

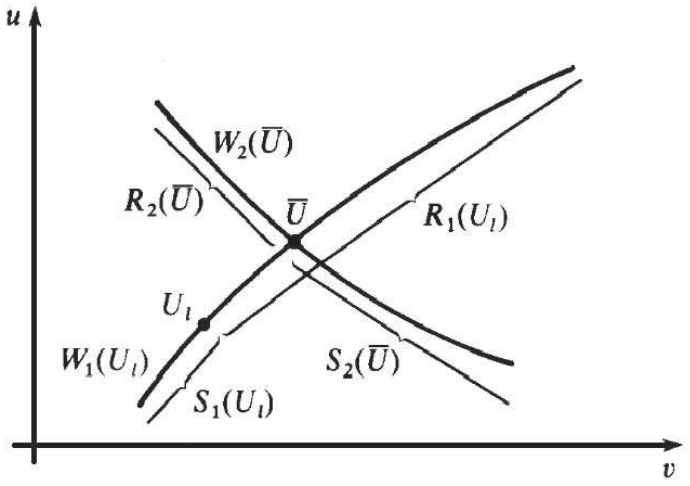


Figure 6:

uma onda de choque ou rarefação, e depois conectamos U_r com $\overline{U}$ por uma onda de choque ou rarefação. O tipo particular de onda depende naturalmente, da posição de U_r.

Na figura 7-8, mostramos as várias possibilidades que podem ocorrer.

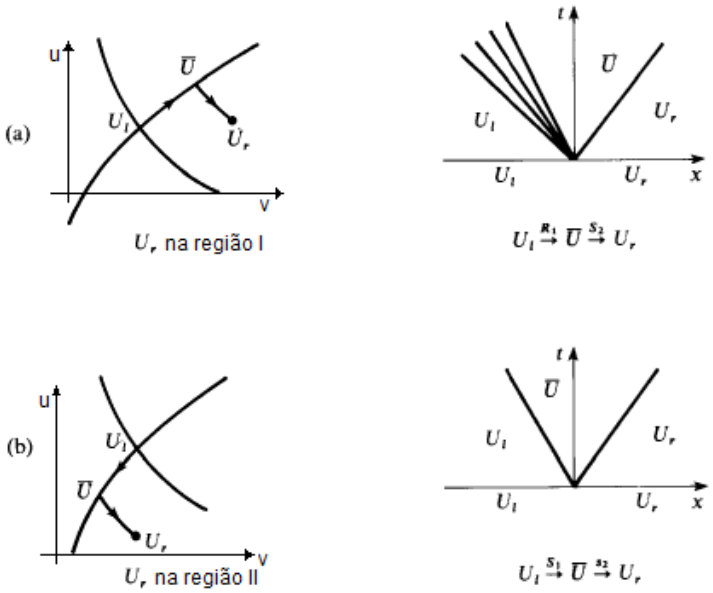


Figure 7:

Resta provar que as curvas em $\mathscr{F}$ cobre o plano $v-u$ unicamente. Podemos dividir a prova em dois casos; no primeiro caso, assume-se que U_r está nas regiões I, II ou III; e no segundo caso assume-se que U_r está na região IV.

Suponha primeiro que U_r esteja na região I. Seja a linha vertical $v = v_r$, chamemos de A

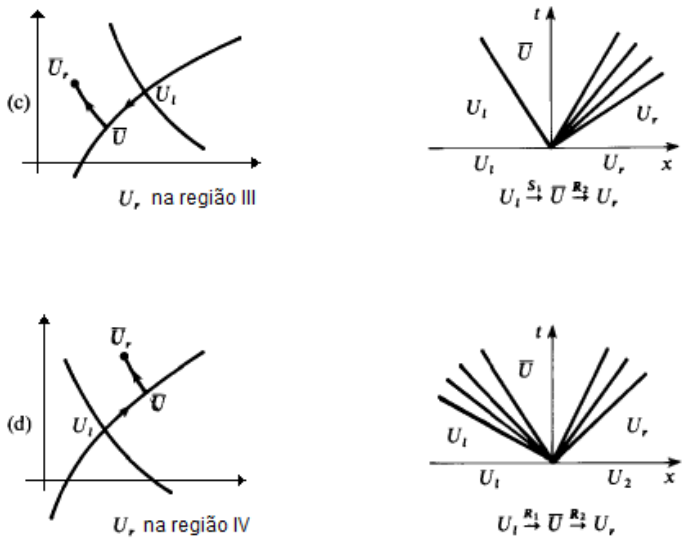


Figure 8:

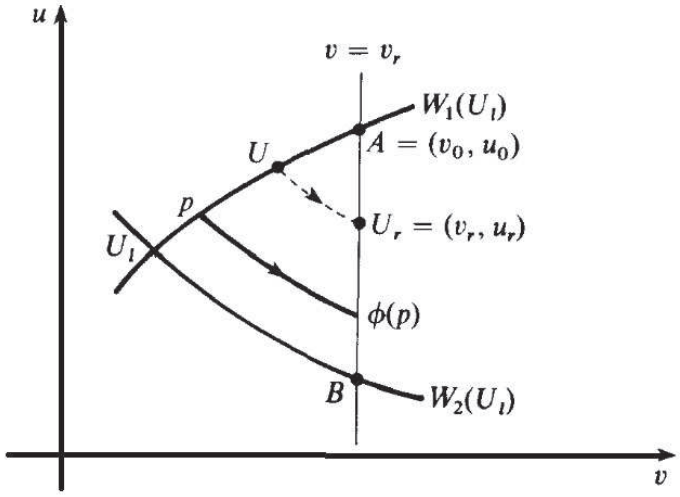


Figure 9:

a intercessão dessa linha com $W_1(U_l)$ e B a intercessão dessa linha com $W_2(U_l)$. Veja a figura 9, para observar a subfamília de curvas em $\mathscr{F}$, consistindo do conjunto $W_2(U) \equiv W_2(\overline{v}, \overline{u}) : v_l \leq \overline{v} \leq v_0$, $p \to \phi(p)$ induz um mapeamento contínuo a partir do arco de $U_l A$ para o segmento da linha AB. Disto segue a transversalidade, uma vez que cada S_2 possui inclinação negativa. Agora na região $U_l AB$, as bordas dessas curvas são limitadas, portanto, vemos que o ponto P suficientemente próximo de A deve ser mapeado em pontos acima de U_r. Desde que U_l seja mapeado em B, o que é abaixo de U_r, vemos por continuidade que deve haver um ponto U no arco $U_l A$ que mapeia U_r. Isto mostra que a região I está coberta pelas curvas da família $\mathscr{F}$. Usa-se um

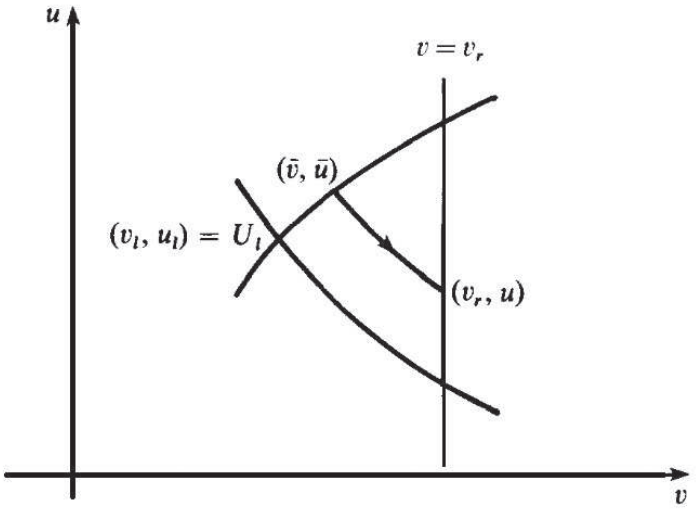


Figure 10:

argumento similar se U_r estiver nas regiões II ou III, assim vemos que as regiões I, II ou III são cobertas por membros da família $\mathscr{F}$. Isto prova a existência de soluções do Problema de Riemann para (2), (3), se U_r está nas regiões I, II ou III, com respeito a U_l.

Agora precisamos mostrar que as regiões I, II ou III são cobertas unicamente pelos membros da família $\mathscr{F}$, isto é, para cada ponto U_r pertencente a qualquer uma das regiões I, II ou III, passa exatamente um elemento de $\mathscr{F}$.

Novamente suponhamos que U_r está na região I. Olhando para a figura 10, vemos que é suficiente mostrar que $\partial u/\partial \overline{v} > 0$. Agora usando estas duas equações

$$\overline{u} = u_l + \int_{v_l}^{\overline{v}} \sqrt{-p'(y)}dy \quad e \quad u = \overline{u} - \sqrt{(v_r - \overline{v})(p(\overline{v}) - p(v_r))},$$

calculamos,

$$\begin{aligned}\frac{\partial u}{\partial \overline{v}} &= \frac{\partial \overline{u}}{\partial \overline{v}} - \frac{1}{2\sqrt{(v_r - \overline{v})(p'(\overline{v}) - p(v_r))}}\{(v_r - \overline{v})p'(\overline{v}) - (p'(\overline{v}) - p(v_r))\} \\ &= \sqrt{-p'(\overline{v})} - \frac{v_r - \overline{v}}{2\sqrt{(v_r - \overline{v})(p'(\overline{v}) - p(v_r))}}\{p'(\overline{v}) + \frac{p(\overline{v}) - p(v_r)}{\overline{v} - v_r}\} > 0. \qquad (16)\end{aligned}$$

Isto implica em um único resultado na região I, a prova para as regiões II ou III são similares.

Agora vamos para o caso em que U_r está na região IV. É talvez surpreendente que nem todos os pontos nesta região podem ser cobertos por um elemento de $\mathscr{F}$. Por exemplo, se

$$u_0 \equiv \int_{v_l}^{\infty} \sqrt{-p'(y)}dy < \infty, \qquad (17)$$

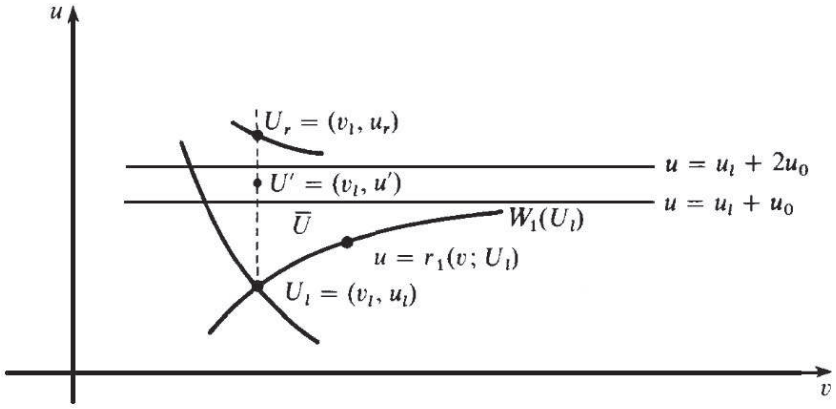


Figure 11:

em seguida, vemos que a curva

$$u = r_1(v; v_l, u_l) = u_l + \int_{v_l}^{v} \sqrt{-p'(y)}dy$$

tem uma assíntota horizontal, chamada a linha $u = U_l + u_0$. Olhando para a figura 11, nós tomarmos $U_r = (v_l, u_l)$ na região IV, onde u_r é escolhido de modo que seja tão grande que $u_r > u_l + 2u_0$. Seja $\overline{U} = (\overline{v}, \overline{u})$ um ponto de $W_1(U_l)$, em seguida

$$\overline{u} = u_l + \int_{v_l}^{\overline{v}} \sqrt{-p'(y)}dy \leq u_l + u_0.$$

O ponto U' em $W_2(\overline{U})$ com abscissa v_l, tem ordenada

$$u' = \overline{u} - \int_{\overline{v}}^{v_l} \sqrt{-p'(y)}dy = \overline{u} + \int_{v_l}^{\overline{v}} \sqrt{-p'(y)}dy$$

$$\leq \overline{u} + \int_{v_l}^{\infty} \sqrt{-p'(y)}dy \leq u_l + 2u_0 \leq u_r.$$

Assim U_r não pode se conectar em nenhuma curva de $\mathfrak{F}$.

Mostramos que se (17) acontece, então a região IV não é coberta pelas curvas in $\mathscr{F}$. Seja o caso em que,

$$p(v) = \frac{k}{v^\gamma}, \quad \gamma \geq 1 \quad (k = const. > 0),$$

vemos que (17) acontece se, e somente se, $\gamma > 1$. A convergência da integral (17) pode ser vista por uma interpretação física que corresponde ao aparecimento do vácuo. Por exemplo, no

problema do tubo de choque, se a velocidade relativa em ambos os lados da membrana do tubo de choque é suficientemente grande, então há vácuo ou uma região vazia onde o gás é formado. Podemos ver isso matematicamente, veja que a curva R_2 através de U_r é da forma

$$u - u_r = -\int_{v_l}^{v} \sqrt{-p'(y)}dy = r_2(v; U_r),$$

e acima, u tem uma assíntota horizontal na região $u < u_l$, ver figura 11. Assim ao longo da curva $-\sqrt{-p'(v)} = \lambda_1$, tende a zero quando $v \to \infty$ desde que $p'' > 0$. Da mesma forma, $\lambda_2 = \sqrt{-p'(v)} \to 0$ quando $v \to \infty$, se v está na curva R_1 através de U_l, ver figura 11. A solução do problema (2)-(3) neste caso é a figura 12, onde conectamos U_l por uma rarefação-1, e conectamos U_r por uma rarefação-2. A solução é indefinida em $x = 0$, desde que $v = +\infty$ (isto é $\rho = 0$), e é claro, u é indefinido.

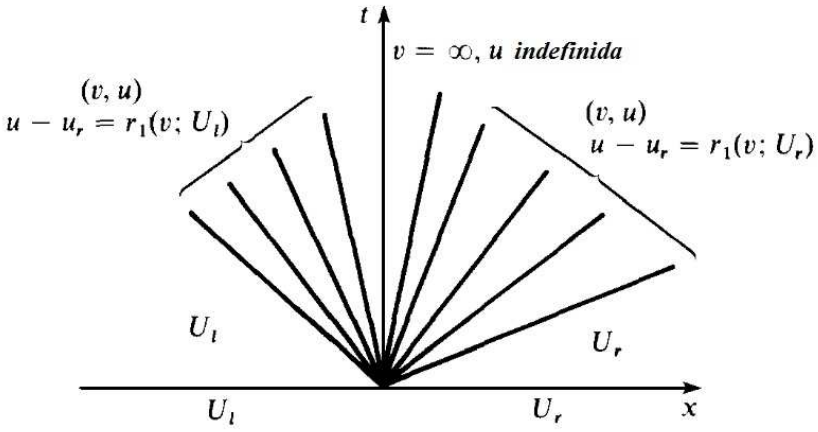


Figure 12:

Por outro lado, mesmo se (17) acontece, o vácuo não necessariamente acontece, e é possível resolver o problema de Riemann se U_r está na região IV, desde que $|U_l - U_r|$ é pequeno. Isto é descrito na figura 13.

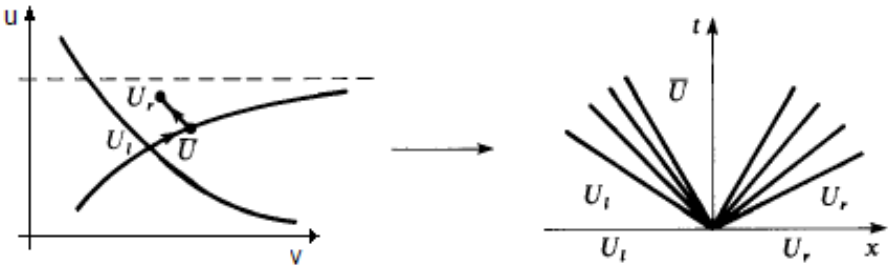


Figure 13:

É interessante notar que no caso onde $p(v) = k/v^\gamma$, $\gamma = 1$, temos que a integral seguinte diverge.

$$\int_{v_l}^{\infty} \sqrt{-p'(y)}dy$$

Se a solução do problema de Riemann não assume o estado de vácuo, em seguida, um exame de todos os casos possíveis mostra que o estado intermediário na solução situa-se entre as curvas de onda-rarefação determinados pelos estados iniciais. Isto é, a solução satisfaz a inequação

$$r \geq min(r_l, r_r) \equiv min(r(v_l, u_l), r(v_r, u_r),$$

$$s \leq max(s_l, s_r) \equiv max(s(v_l, u_l), s(v_r, u_r),$$

onde

$$r(v, u) = u - \int_{\overline{v}}^{v} \sqrt{-p'(s)}ds,$$

$$s(v, u) = u + \int_{\overline{v}}^{v} \sqrt{-p'(s)}ds.$$

Saber como resolver o problema de Riemann nos permite realmente resolver certos tipos de interações. Por exemplo, suponhamos que se considera a equação (1), com os seguintes dados iniciais:

$$(v, u)(x, 0) = \begin{cases} (v_l, u_l), & x < x_1, \\ (v_m, u_m), & x_1 \leq x \leq x_2, \\ (v_r, u_r), & x > x_2, \end{cases}$$

e suponha que a descontinuidade $(v_l, u_l), (v_m, u_m)$ é resolvida por um choque-1 de velocidade

s_1, e a descontinuidade $(v_m, u_m), (v_r, u_r)$ é resolvida por um choque-2 de velocidade s_2, ver a figura 14. Por (6) temos que, $0 < s_2 < \lambda_2(v_m, u_m) < s_1$, daí segue que S_1 ultrapassa S_2 em alguma tempo $T > 0$. Note que em $t = T$, temos novamente o problema de Riemann com valor inicial $(v_l, u_l), (v_r, u_r)$. A fim de resolver este problema, é preciso determinar em que quadrante está (v_r, u_r) com respeito à (v_l, u_l), veja figura 15.

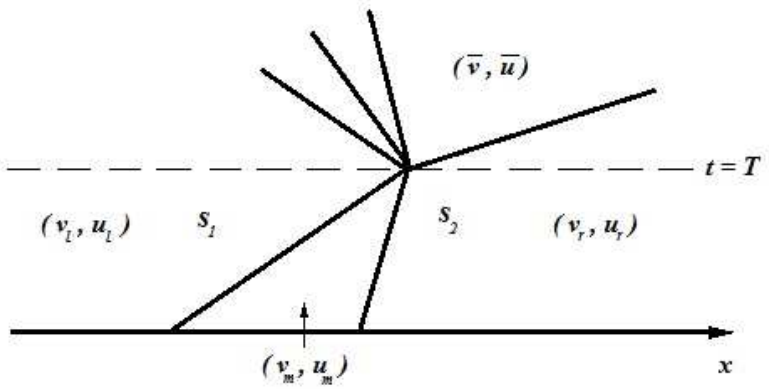


Figure 14:

Se (v_r, u_r) encontra-se no primeiro quadrante(não no segundo), mostra que o problema de Riemann é resolvido por uma rarefação-1 e um choque-2, como na figura 14. Vemos que (v_m, u_m) encontra-se em um choque-2 começando em (v_l, u_l), e (v_R, u_r) encontra-se em um choque-2 $\tilde{S}_2$ começando em (v_m, u_m). Se pudermos mostrar que $\tilde{S}_2$ está sempre acima S_2(veja a figura 15), nós provamos o que queremos. Para isso mostremos que: (i) a inclinação de $\tilde{S}_2$ para (v_m, u_m) é maior que a inclinação de s_2 para (v_m, u_m), de modo que $\tilde{S}_2$ passe para a região descrita, e (ii) $\tilde{S}_2$ nunca encontra s_2 para $v > v_m$.

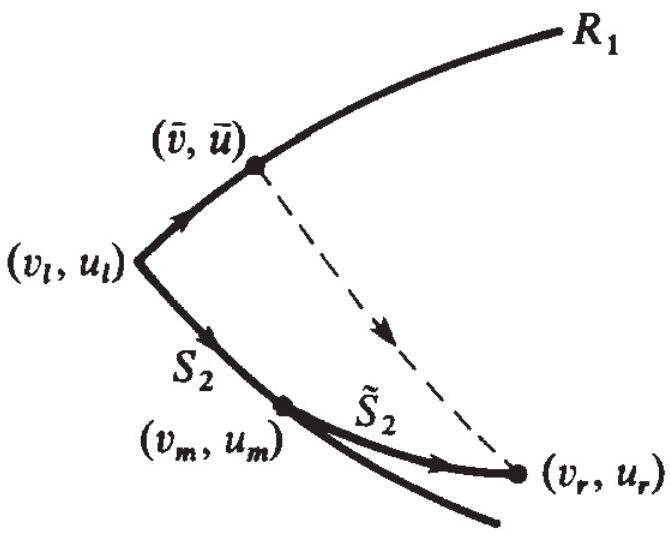


Figure 15:

Para provar (i), note que S_2 é descrito pela equação

$$u - u_l = -\sqrt{(v - v_l)(p(v_l) - p(v))},$$

e a inclinação de S_2 com (v_m, u_m) é

$$\frac{p'(v_m) + \dfrac{p(v_l) - p(v_m)}{v_l - v_m}}{2\sqrt{-\dfrac{p(v_l) - p(v_m)}{v_l - v_m}}} = \frac{p'(v_m) + p'(\xi)}{2\sqrt{-p'(\xi)}}, \quad v_l < \xi < v_m.$$

A inclinação de $\tilde{S}_2$ com (v_m, u_m) é $-\sqrt{-p'(v_m)}$ desde que o autovetor normalizado de (v_m, u_m) é $(1, \sqrt{-p'(v_m)})^t$. Assim, desde que

$$-\sqrt{-p'(v_m)} > \frac{p'(v_m) + p'(\xi)}{2\sqrt{-p'(\xi)}},$$

segue (i). Para provar (ii), definimos a função $\phi(x, y) = \sqrt{(x - y)(p(y) - p(x))}$. Temos que se $x > y > z$, segue que $\phi(x, z) > \phi(x, y) + \phi(y, z)$. Em seguida, se houvesse um ponto $(v, u) \in S_2 \cap \tilde{S}_2$, com $v > v_m$ então $v > v_m.v_l$, e

$$u - u_m = -\phi(v, v_m), \quad u - u_l = -\phi(v, v_l).$$

Isso resulta,

$$\phi(v_l, v_m) = u_l - u_m = \phi(v, v_l) > \phi(v_m, v_l),$$

que uma contradição, o que prova o que queremos.

4 Exemplo

Determinamos a seguir as equações das curvas de choque e rarefação para o caso particular onde $p(v) = 1/v^2$.

Nesse caso, o problema de Riemann é dado por,

$$v_t - u_x = 0 \quad u_t + \frac{1}{v^2} = 0, \tag{18}$$

onde $p(v) = \frac{1}{v^2} \Rightarrow p'(v) = -\frac{2}{v^3} < 0, p''(v) = \frac{6}{v^4} > 0$, e

$$U(x,0) = \begin{cases} (1,1), & x < 0, \\ (v_r, u_r), & x > 0, \end{cases} \tag{19}$$

Seja $U = (v,u), F(U) = (-u, 1/v^2)$, assim podemos escrever (18) como $U_t + F(U)_x = 0$. A matriz Jacobiana de (18) é

$$dF = \begin{pmatrix} 0 & -1 \\ -2/v^3 & 0 \end{pmatrix},$$

e possui autovalores reais e distintos, $\lambda_1 = -\sqrt{2/v^3} < 0 < \sqrt{2/v^3} = \lambda_2$.

Temos dois tipos distintos de ondas de choques para (18), chamadas choque-1 e choque-2. Usando (7)-(8)(condição de entropia) temos que o choque-1 satisfaz

$$s < -\sqrt{2}, \quad -\sqrt{2/v_r^3} < s < \sqrt{2/v_r^3}$$

e choque-2 satisfaz

$$-\sqrt{2} < s < \sqrt{2}, \quad \sqrt{2/u_r^3} < s.$$

Utilizando (9)(condição de Rankine-Hugoniot) temos,

$$s(v-1) = -(u-1); \quad s(u-1) = 1/v^2 - 1$$

Assim obtemos,

$$S_1 : u - 1 = -\sqrt{(v-1)(1-1/v^2)}$$

$$S_2 : u - 1 = -\sqrt{(v-1)(1-1/v^2)}$$

$$R_1 : u - 1 = \int_1^v \sqrt{2/y^3}dy$$

$$R_2 : u - 1 = -\int_1^v \sqrt{2/y^3}dy$$

Nesse caso os esboços das curvas de choques são semelhantes às figuras 1 e 2. E os esboços das curvas de rarefações são semelhantes às figuras 3 e 4. Portanto, a solução do problema de Riemann é obtido de modo análogo ao da seção 3.

A conclusão é que problemas de valores iniciais para um sistema de leis de conservações não lineares, como o sistema (1), pode não ter solução global, isto é, para quaisquer dados iniciais $U_l = (v_l, u_l)$ e $U_r = (v_r, u_r)$, no espaço de estados. No caso particular (1)-(3) a falta de solução é interpretada fisicamente como o aparecimento de vácuo atrás do choque, quando a velocidade desse choque é suficientemente grande. A solução do problema de Riemann, para dados iniciais onde a solução existe, é dada pela composição de choques e rarefações, como no caso de uma equação escalar.

References

[1] SMOLLER, J., Shock waves and reaction diffusion equations, Wiley- Interscience, New York, 1973.

[2] DA MOTA, J. C., The Riemann problem for a simple thermal model for two phase flow in porous media, Mat. Aplic. Comp., v.11, n^o 2, pp.117-145, 1992.

[3] EVANS, L. C., Partial Differential Equations, Graduate Studies Mathematics, Vol. 19.

[4] BORGES, L. F., DA MOTA, J. C., *Introdução às Leis de Conservação*, 2012.

[5] COURANT, R. and FRIEDRICHS, K. O., Supersonic flow and shock waves, Wiley- Interscience, New York, 1948.

[6] FIGUEIREDO, G. F., Análise de Fourier e Equações Diferenciais Parciais, Projeto Euclides, 2a. Ed., 1977.

[7] BEAR, J., Dynamics of Fluids in Porous Media, Dover Publications, 1972.

Secretoma de duas espécies filogenéticas do complexo *Paracoccidioides brasilienses*: identificação de padrões de virulência

Silva, Lana O'Hara[1] Souza; **Oliveira**, Amanda Rodrigues; **Soares**, Célia Maria; **Borges**, Clayton Luiz[2]

1-Orientanda 2-Orientador

Instituto de Ciências Biológicas, ICB II, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

Email: lanaohara@hotmail.com, clbluiz2@gmail.com

Resumo

Paracoccidioides brasiliensis é um fungo termodimórfico causador da PCM, micose endêmica na América Latina. Quando cultivado à 35-37ºC o fungo cresce em forma leveduriforme, e em temperaturas abaixo de 28ºC ele cresce como micélio. Para o estudo foram selecionadas duas espécies filogenéticas de *Paracoccidioides*, *Pb*83 pertencente à espécie filogenética PS3, e Pb81, o qual recentemente foi classificado como pertencente à uma nova espécie (*Paracoccidioides lutzii*). O secretoma inclui proteínas que possuem importantes funções como obtenção de nutrientes, comunicação célula-célula, colonização do substrato, detoxificação do meio, etc. A maioria das proteínas foram classificadas como de resgate celular, defesa e virulência e como de energia, dentre elas proteínas de defesa como chaperona e foldase. Cerca de 70% das proteínas das proteínas secretadas identificadas foram preditas como secretórias. Entre as proteínas preferencialmente expressas pelo Pb83 destacam-se: glicoproteína de 43kDa, enolase, tirosinase, adenosina quinase, glutamato carboxipeptidase, proteína de ligação ao RNA Vip1. Quanto às preferencialmente secretadas pelo Pb01, prevaleciam as proteínas de choque térmico, glutationa redutase, proteína Y20, 2-metil citrato sintase, Hsp-90 ligante de co-chaperona, glutationa-S-transferase, tioredoxina redutase, metionina sintase cobalamin-independente, cofilina, entre outras. A disponibilidade de dados de secretoma, associada às ferramentas de bioinformática, possibilita a geração de informações úteis para o entendimento de interações patógeno-hospedeiro.

Palavras-chave: *Paracoccidioides;* secretoma; virulência; espectrometria de massas.

Revisado pelo orientador

1-Introdução

Paracoccidioides brasiliensis é um fungo termodimórfico patogênico humano que causa a paracoccidioidomicose (PCM), doença com maior prevalência na América Latina (RESTREPO e TOBON, 2005). O fungo cresce como micélio, forma infecciosa e saprobiótica, no ambiente em temperaturas inferiores a 28 ºC e como levedura, a 36 ºC no hospedeiro humano ou quando cultivado *in vitro* (BAGAGLI *et al.,* 2006). Apresentam-se macroscopicamente como colônias pequenas, irregulares esbranquiçados ou acastanhados, e quando examinado ao microscópio de luz, apresenta hifas finas hialinas e septadas (1-3 µm), quando com raros clamidósporos terminais ou intercalares e com vários núcleos (FRANCO *et al*., 1989; QUEIROZ-TELLES, 1994).

A PCM é uma micose humana sistêmica granulomatosa. *P. brasiliensis* que infecta hospedeiros humanos usualmente pela inalação de propágulos da fase miceliana, podendo disseminar pelas vias hematogênicas ou linfática, causando diferentes manifestações clínicas da doença (SAN-BLAS *et al.,* 2002; CAMARGO e FRANCO 2000;VALERA *et al*., 2008). As formas aguda e subaguda da doença predominam em pessoas jovens de ambos os sexos. A forma crônica predomina em adultos e é caracterizada por uma disseminação rápida do fungo a diversos órgãos ou tecidos (FRANCO 1987).

O gênero *Paracoccidioides* compreende três espécies filogenéticas S1, PS2 e PS3 (MATUTE *et al,* 2006). Análises morfológicas entre o gênero *Paracoccidioides* demostraram que o isolado *Pb*01 é divergente dos grupos PS3, PS2 e S1, no qual segundo TEIXEIRA *et al* (2009), baseado em análises filogenéticas moleculares, demonstrou a existência de um novo clado, que foi denominado Pb01-*like* ou *Paracoccidioides lutzii*.

A secreção de proteínas por fungos tem a função de cumprir papéis biológicos, tais como a digestão de potenciais substratos presentes no meio e quebra de matéria orgânica para obtenção de nutrientes. Poucos estudos de proteínas secretadas de *P. brasiliensis* foram realizados. Além disso, estudos comparativos de proteínas secretadas também são inéditos no modelo. Grande parte destes estudos concentram-se no maior antígeno descrito para *P. brasiliensis* que é a glicoproteína secretada de 43 kDa (GP43). A função desta proteína na patogênese da PCM está relacionada ao mecanismo de evasão do fungo e estimula a formação de granulomas in vitro (VIGNA *et al*., 2006).

Análises in silico, em bancos de dados de genomas estruturais, em busca de proteínas secretadas leva em consideração a via clássica retículo endoplasmático/Golgi e a presença de peptídeo sinal nas sequencias (TSANG *et al*., 2009). Entretanto, em *S. cerevisiae*, moléculas que não apresentam peptídeo sinal N-terminal têm sido descritas na parede celular do fungo (NOMBELA *et al*., 2006), assim como em *P. brasiliensis*, foi descrita para a gliceraldeído-3-

fosfato-desidrogenase – GAPDH (BARBOSA *et al.,* 2006) e para a triose fosfato isomerase – TPI (PEREIRA *et al*., 2007).

2-Metodologia

2.1 Manutenção dos *Paracoccidioides*

Os isolados *Pb*01 e *Pb*83 de *Paracoccidioides* foram utilizados em todos os experimentos deste estudo. As células foram cultivadas em meio Fava-Netto sólido [0,3% proteose peptona, 1% peptona, 0,5% extrato de carne, 0,5% extrato de levedura, 4% glicose, 0,5% NaCl, pH7.2] por um período de 7 dias à 37°C (FAVA-NETTO, 1955).

2.2 Preparação dos extratos de proteínas secretadas de *Paracoccidioides*

Células dos isolados *Pb*01 e *Pb*83, crescidas em meio Fava-Netto sólido (FAVA-NETTO, 1955) por 7 dias, foram inoculadas em meio Fava-Netto líquido e mantidas sob agitação por 24 horas à 36 °C. Após incubação, as células foram removidas por centrifugação à 3.000 rpm por 30 min. O sobrenadante da cultura obtido foi submetido à filtração à vácuo em membranas de 0,45 µm e 0,22 µm. Ao sobrenadante foi adicionado inibidor de protease (GE Healthcare®) na proporção 1µL:mL de filtrado. Os filtrados foram concentrados usando sistema de ultrafiltração (Amicon, Millipore) e em seguida, lavados 3 vezes com água ultrapura. A concentração dos extratos foi obtida pelo método Bradford, usando uma curva padrão de albumina de soro bovino (BSA) (BRADFORD, 1976).

2.3 Eletroforese Bidimensional (2D – PAGE)

Para a primeira dimensão, foram usadas quantidades referentes à 800 µg de proteína por réplica experimental. Antes, o extrato foi tratado com o kit 2D-Clean-UP (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) seguindo instruções do fabricante. As amostras protéicas foram reidratadas em solução de reidratação contendo 7M de uréia, 2M de tiouréia, 4% CHAPS, 3% DTT, 0,5% de anfólitos 3-11 e traços de azul de bromofenol (SHAW e RIEDERER, 2003). As amostras foram aplicadas em fitas immobiline de 13 cm de comprimento (Immobiline™ DryStrip ,GE Healthcare Biosciences), pH 3-11. A focalização isoelétrica foi realizada em sistema de eletroforese (*IPGphor*, GE Healthcare) conforme protocolo padrão. Após a focalização os strips foram equilibrados em solução de equilíbrio por 40 min [50 MM Tris-HCl pH 8.8, 6 M uréia, 30% glicerol, 2% SDS e 0,002% de azul de bromofenol] contendo 18 mM DTT e 135 mM de iodacetamida (HEBERT et al., 2001). A segunda dimensão (SDS-PAGE) foi realizada em géis de poliacrilamida (12%) usando um sistema vertical (GE Healthcare). A primeira

corrida foi aplicada à uma voltagem de 150 V por cerca de 30 min e em seguida 250 V até o fim da corrida. Os géis de poliacrilamida foram corados por azul de Coomassie (Plus One Comassie Tablets Fase Gel Blue R-350, GE Healthcare) de acordo com as instruções do fabricante.

2.4 Análise de Imagem dos géis

As imagens dos géis 2D, em triplicata, foram capturadas e processadas em sistema de fotodocumentação, Imagescaner II (GE Healthcare). Através da utilização do software Image Master 2D Platinum v 6.0 (GE Healthcare) foram realizadas a detecção, a quantificação volumétrica, a edição de massas moleculares e pontos isoelétricos das proteínas identificadas nos géis. Análises estatísticas foram realizadas com o software STATISTICA version 7.0 (Statsoft Inc. 2005). Para a identificação de diferenças significativas entre os spots de ambos os isolados foram realizados, ainda, os testes de análise de variância (ANOVA) e Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0.05$. Para comparar as proteínas com múltiplas isoformas, a soma das percentagens dos volumes (em relação às proteínas totais) de cada isoforma foi obtida em triplicata. Em seguida, a soma das percentagens de volumes para as proteínas foi utilizado para a análise estatística, que foi realizada para determinar as diferenças significativas nos perfis de expressão entre *Paracoccidioides*, *Pb*83 e *Pb*01

2.5 Análise por Espectrometria de Massas (MS)

Após análise das imagens, as proteínas de interesse foram removidas manualmente dos géis bidimensionais e tratadas para digestão como descrito previamente (PARENTE et al., 2011; REZENDE et al., 2011; WEBER et al., 2012). As proteínas coradas em azul de Coomassie foram tratadas com acetonitrila 100% e secas à vácuo, posteriormente foram lavadas duas vezes com acetonitrila 50% e 25 mM de NH_4HCO_3. O processo de redução das amostras foi realizado pelo uso de DDT (10 mM) em NH4HCO3 (25 mM) por 30 min e alquilação com iodoacetaminada (55 mM) em NH4HCO3 (25 mM), sob ambiente escuro. O sobrenadante foi removido e os spots foram reidratados em 100µL de uma solução contendo 25 mM de bicarbonato de amônio em 50% de acetronitrila, agitados vigorosamente por 5 min e centrifugados. Este passo se repetiu duas vezes.

Os spots foram, então, secos novamente à vácuo e tratados com solução de tripsina (12.5 ng/mL) (Roche, Molecular Biochemicals) por 10 min em gelo. Após 10 min o sobrenadante foi removido, 25µL de bicarbonato de amônio foram adicionados e incubados à 37°C por 16 horas. Os peptídeos digeridos foram extraídos por tratamento em 50% de

acetonitrila e 5% de ácido trifluoracético (TFA). As amostras foram agitadas vigorosamente por 30 min, submetidas à ultrassom (SONOPLUS *Ultrassonic Homogenizers* HD 2070, HD2200, Bandelin) em banho de gelo por 5 min e a solução foi misturada à extração líquida anterior. Posteriormente as amostras foram secas mais uma vez à vácuo e ressuspendidas em 10 µL de água ultrapura. Assim as amostras puderam ser purificadas no sistema ZipTip® Pipette Tips (Millipore). Foram aplicados 2 µL de cada amostra em placa sob as quais foram acrescidos de 2 µL de solução de matriz (matriz de ácido α-ciano-4-hidroxicinâmico 10 mg/mL) em 50% ACN, 5% ácido trifluoracético) e deixados secar à temperatura ambiente.

As análises por espectrometria de massas foram realizadas no aparelho SYNAPT Q-TOF (Waters, MA, USA). A identificação das proteínas foi obtida usando os dados obtidos por espectrometria de massas em busca realizada pelo programa Mascot (http://www.matrixsciense.com) e base de dados do NCBI. Os parâmetros usados foram: peptídeos trípticos com carga 1+; taxonomia: fungos; modificações fixas: carbamidometil de resíduos Cys; modificações variáveis: oxidação da metionina; e tolerância MS/MS de 0,6 Da.

As proteínas identificadas foram classificadas em categorias funcionais usando o MIPS Functional Catalogue Database (http://mips.helmholtz-muenchen.de/proj/funcatDB/). As proteínas também foram submetidas à análise pelo programa para predição de peptídeo sinal denominado SignalP 3.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP). Proteínas que possuem sequência sinal foram consideradas proteínas secretadas por via clássica. Proteínas secretadas por vias não-clássicas ou alternativas foram preditas usando o programa denominado SecretomeP 2.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/SecretomeP). As sequências oligonucleotídicas das proteínas foram ainda analisadas pelo software *Antigenics Pasteur* (http://mobyle.pasteur.fr/cgi-bin/portal.py?#forms::antigenic) a fim de identificar potenciais sítios antigênicos nas proteínas.

2.6 Ensaios enzimáticos

Foram realizados testes enzimáticos confirmatórios para duas enzimas previamente identificadas em *Paracoccidioides,* formamidase (FMD) e superóxido dismutase (SOD). Para os testes foram utilizados fração citoplasmática de levedura (FCL) e fração secretada de levedura (FSL) de ambos isolados.

A atividade da FMD foi avaliada pela formação de amônia conforme descrito previamente por Borges et al. (2005/2010). Para realização do ensaio usa-se uma quantidade referente à 1µg do extrato proteico total. O volume é ajustado para 250µL com tampão PEB + formamida (formamida 100 mM em 100 mM de fosfato de sódio e 10 mM EDTA, *pH* 7,4).

As amostras foram incubadas à 37°C por 30 min e adicionou-se 400µL de fenol-nitroprussiato de sódio e 400µL de solução alcalina. As amostras foram incubadas à 56°C por 6 min e lidas em espectrofotômetro à 625 nm. A quantidade de amônia formada foi determinada por comparação com uma curva padrão. Uma unidade (U) de FMD corresponde a quantidade de enzima requerida para formação de 1µmol de amônia por minuto por mg das proteínas totais.

A superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do anião superóxido (O_{2}-) em peróxido de hidrogénio e oxigénio molecular, é uma das mais importantes enzimas antioxidantes. A fim de determinar a atividade da SOD, vários métodos diretos e indiretos tem sido desenvolvidos. A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi mensurada de acordo com as informações do fabricante (SOD Assay Kit, Sigma-Aldrich). Este kit contém todos os reagentes e soluções necessárias para a determinação da atividade da superóxido-dismutase em um método de ensaio indireto com base na xantina oxidase e um reagente de cor. O teste é baseado na produção de anion superóxido e na produção de formazan solúvel. A taxa de redução com O_2 estão relacionadas linearmente com a atividade da xantina oxidase (XO) e é inibida pela SOD. Portanto, o IC_{50} (50% de inibição da atividade da SOD) pode ser determinada por um método colorimétrico. Os valores lidos após a reação são colocados na fórmula a seguir:

Atividade da SOD (% inibição) = {[(S1 - S3) - (SS - S2)] / (S1 – S3)} x 100,

Onde: **S1**= branco1 **S2**= branco 2 **S3**= branco 3 e **SS**= amostra

Todos os testes foram realizados em triplicata: FSL83, FSL01, FCL83 E FCL01. Ao final foi aplicado o teste t de Student e amostras com valor de $p \leq 0,05$ foram consideradas estatisticamente significantes.

3-Resultados

Após o cultivo do fungo em meio Fava-Netto por 7 dias, foi realizada a obtenção do extrato de proteínas secretadas do isolado *Pb*Em83. O extrato proteico foi submetido à eletroforese bidimensional em triplicata biológica e corado em azul de Cromassie **(Figura 1)**. As imagens dos géis foram obtidas e processadas no sistema de fotodocumentação Imagescanner II (GE Healthcare).

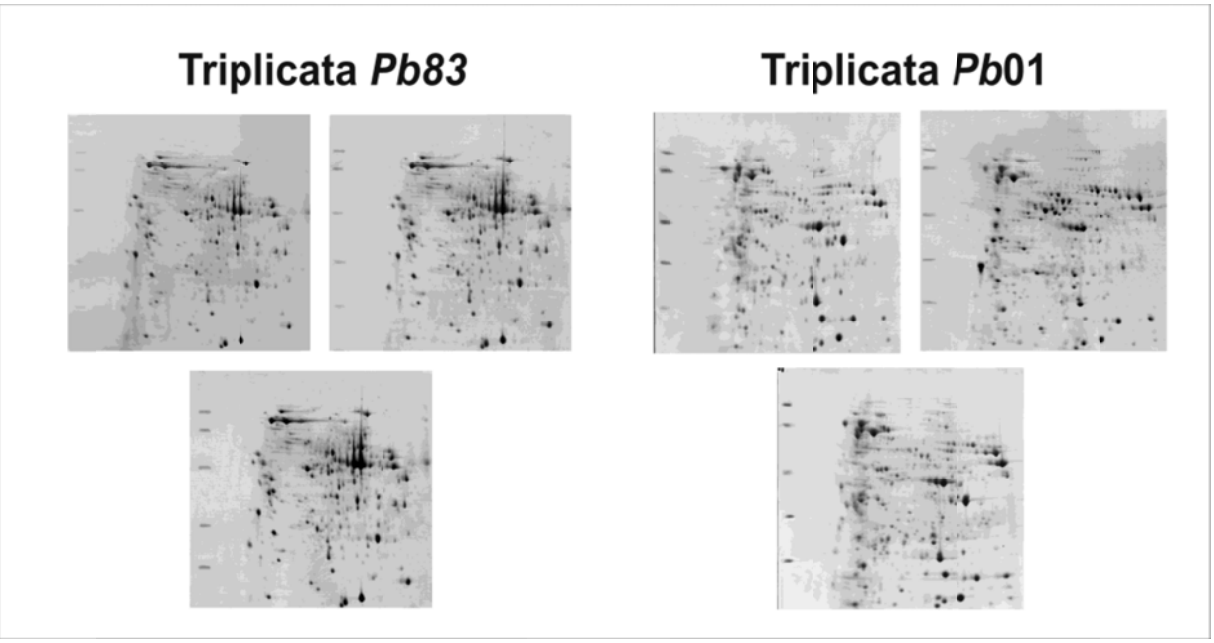


Figura 1 - Imagens das triplicatas biológicas dos géis do secretoma de *Paracoccidioides*. A- Triplicata dos géis do secretoma da fase leveduriforme de *Pb*83. **B**- Triplicata dos géis do secretoma da fase leveduriforme de *Pb*01.

As imagens das triplicadas dos géis também foram analisadas através do Software Image Master, 2D Platinumv 6.0 (GE Healthcare®) a fim de avaliar o perfil de expressão das proteínas doo isolado Pb01 e Pb83. O software realiza a detecção, a quantificação volumétrica, a edição de massas moleculares e pontos isoelétricos das proteínas identificadas nos géis. Primeiro foi feito o pareamento das triplicatas de cada isolado e em seguida, os géis mais representativos de cada isolados foram pareados entre si. Após essa etapa foram realizadas as análises estatísticas (ANOVA e Tukey) a fim de se definir spots diferencialmente expressos em ambos os isolados **(Figura 2 e 3).**

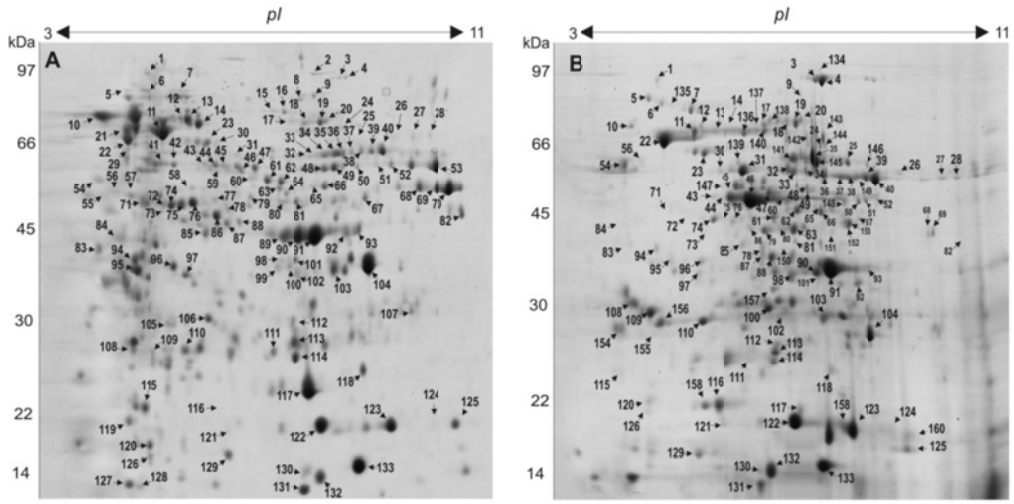


Figura 2 - Proteínas detectadas no secretoma de *Paracoccidioides*, isolados *Pb*83 e *Pb*01, por análise em gel 2D-PAGE. Perfil proteico obtido após separação da fração secretada por *Pb*83 (A) e *Pb*01 (B), utilizando 2D-PAGE (primeira dimensão: IEF faixa de *pH* 3-11, segunda dimensão: 12% (p/v) de SDS-PAGE) e visualizados por coloração com azul de Coomassie. O gradiente de *pH* é mostrado acima do gel e os padrões de massa molecular de proteínas (kDa) estão indicadas à esquerda dos géis.

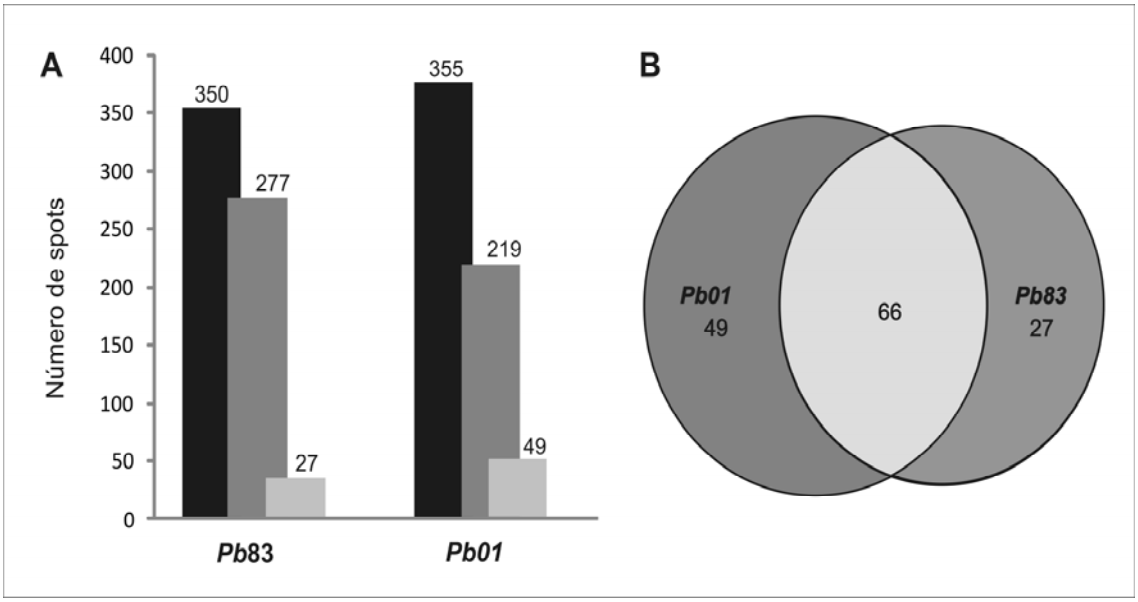


Figura 3 - Sumarização das análises proteômicas. **A-** Dados obtidos pela análise de imagem usando o programa Image Master 2D Platinum, mostrando o número total de spots detectados em cada isolado, spots diferencialmente expressos e número de proteínas/isoformas identificadas por espectrometria de massas. **B-** Diagrama de Venn mostrando o número de proteínas/isoformas extracelulares identificados por MS/MS em cada isolado, bem como as proteínas/isoformas expressas constitutivamente. As proteínas preferencialmente secretadas incluem proteínas/isoformas com alterações estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$), enquanto as proteínas constitutivas referem-se às proteínas com expressão similar (exclusivas ou $p \geq 0,05$).

Os spots proteicos relevantes foram excisados manualmente, digeridos por tripsina e os peptídeos foram submetidos à espectrometria de massas usando o sistema MALDI-Q-TOF-MS/MS através do aparelho SYNAPT. Os spots identificados MS/MS estão numerados e listados em tabelas de acordo com seu padrão de expressão nos itens subsequentes, bem como seus respectivos dados (*pI* e massa molecular teóricos e experimentais, número de peptídeos encontrados, análises de predição de mecanismos de secreção e hits antigênicos). Após as análises estatísticas as proteínas foram classificadas em três categorias (secretadas exclusivamente pelo isolado Pb83, secretadas exclusivamente pelo isolado Pb01 e expressadas por ambos), conforme mostram as **tabelas 1, 2 e 3**, respectivamente.

Tabela 1- Proteínas preferencialmente secretadas no isolado *Pb*83

Número de Acesso (NCBI) [1]	Nome da proteína	Nº de isoformas no secretoma de *Paracoccidioides* [2]	Soma da abundância da isoforma [3]	*fold change* [4]	ANOVA (*p*-value) [5]	SignalP Score 0.5 [6]	SecretomeP Score 0.5 [7]	Nº de sequências antigênicas [8]
1. RESGATE CELULAR, DEFESA E VIRULÊNCIA								
gi|8576322	precursor da glicoproteína de 43kDa	2	36,1005	-	**	0.973	0.7090	18
gi|225684092	proteína de choque térmico 10	1	0	-	**	NO	NO	5
2. METABOLISMO								
gi|295662360	mannitol-1-fosfato 5-deidrogenase	1	0,429	41.7	0.00003*	NO	NO	18
gi|295674697	adenosina quinase	1	0,695	16	0.0087*	NO	NO	16
gi|225679111	fumarilacetoacetato hidrolase	1	0,211	-	**	NO	0.7401	24
3. ENERGIA								
gi|295666197	2-metilcitrate deidratase	3	29,6649	1,0294	0,0073	0.913	0.7642	27
gi|226289575	enoil-CoA hidratase	2	0,945	13,102	0,005000	NO	NO	14
gi|226292555	enolase	1	122	8,1	0.0152*	NO	0.5606	21
gi|30351156	proteína do ponto de verificação de erros do DNA rad24	1	0,795	7,5	0.01592*	NO	NO	13
4. CICLO CELULAR E PROCESSAMENTO DE DNA								
gi|225681483	Proteína de ligação ao RNA	1	0,653	24,5	0.0027*	NO	0.8894	10

	Vip1							
5. DESTINO DE PROTEÍNA (dobradura, modificação, destino)								
gi|295657201	glutamato carboxipeptidase	1	0,1582	5,5491	0,0251	NO	0.7370	24
gi|226294989	peptidil-prolil cis-trans isomerase D	1	159	18,8	0.0016*	NO	0.8657	16
6. SÍNTESE PROTEICA								
gi|225679636	Cadeia beta do fator de elongação da tradução eEF-1	1	0,678	11,6	0.0001*	NO	0.9254	12
7. TRANSPORTE CELULAR								
gi|225684787	citochromo c	1	0,377	32,2	0.0096*	NO	0.9434	4
8.DIVERSAS								
gi|225679401	proteína da família RRM	1	0,664	32,9	0.0129*	NO	0.9164	11
gi|295659664	NADP-específico glutamato deidrogenase	1	0,3103	4,9	0.0471*	NO	NO	21
gi|226295016	proteína da superfamília MAM33	1	0,174	-	**	NO	NO	12
gi|226294299	proteína da família RPA-2b-aaRSs-OBF-like	1	0,676	-	**	NO	0.8954	5
gi|225680996	tirosinase	1	77	6,1	0.0155*	0.999	0.8689	17
gi|226293137	proteína da família dienolactona hidrolase	1	0,267	-	**	NO	0.9059	10
gi|226294088	Ribonucleoproteína B nuclear pequena - subunidade U2	1	0,084	-	**	NO	NO	13
9. PROTEÍNAS NÃO-CLASSIFICADAS								
gi|225681776	proteína conservada	1	75	207,9	0.0008*	NO	0.8938	10

Tabela 2- Proteínas preferencialmente secretadas no isolado *Pb*01

Número de Acesso (NCBI) [1]	Nome da proteína	Nº de isoformas no secretoma de *Paracoccidioides*[2]	Soma da abundância da isoforma [3]	fold change[4]	ANOVA (*p*-value) [5]	SignalP Score 0.5 [6]	Secretome P Score 0.5 [7]	Nº de sequências antigênicas[8]
1. RESGATE CELULAR, DEFESA E VIRULÊNCIA								
gi|295658865	proteína de choque térmico 60	4	0,5532	1,299	0,01	NO	NO	26
gi|295671569	proteína de choque térmico SSC1	7	1,64	5,115	0,01	NO	0.6791	28
gi|295664022	glutationa redutase	4	0,5139	148	0,05	NO	NO	19
gi|295665077	hsp90 ligante de co-chaperone	2	0,4577	5,9	0,0407	NO	NO	6
gi|295667577	glutationa S-transferase Gst3	2	0,1408	-	**	NO	0.5119	17
gi|225681227	proteína de choque térmico 70	1	0,801	13.2	0.0001*	0.970	NO	26
gi|295661107	tioredoxina redutase	1	0,066	-	**	NO	0.9660	14
gi|17980998	Y20	1	236	5.7	0.0197*	NO	0.9013	8
2. METABOLISMO								
gi|295659538	metionina sintase cobalamin-independente	2	0,0991	-	**	NO	NO	34
gi|295665123	aldeído desidrogenase	1	0,032	-	**	NO	NO	23
gi|295665168	TOS1	1	0,079	-	**	0.999	0.9249	23
gi|295658947	O-acetil homoserina (tiol)-liase	1	0,089	-	**	NO	0.7930	23
3. ENERGIA								
gi|295672732	enolase	2	0,0859	-	**	NO	0.5491	19
gi|295671120	frutose-bisfosfato aldolase	3	321,73	1,001	0,026500	NO	0.6628	11
gi|295666179	2-metilcitrato sintase	3	215,0874	1,0012	0,0296	NO	0.5337	17
gi|295661300	proteína do ponto de verificação de erros do DNA rad24	2	0,3797	1,7917	0,04	NO	NO	11
gi|295673184	proteína de interação com a actina	1	0,044	-	**	NO	0.9262	32
gi|226289849	Isocitrato liase	1	0,72	5,6	0.0089*	NO	NO	24
4. CICLO CELULAR E PROCESSAMENTO DE DNA								

gi|225684527	proteína de divisão do ciclo celular	1	0,261	-	**	NO	NO	32
gi|295664474	proteína de divisão do ciclo celular	1	0,046	-	**	NO	NO	32
gi|295658863	cofilina	1	0	-	**	NO	NO	7
5. DESTINO DE PROTEÍNA (dobradura, modificação, destino)								
gi|295660102	dipeptidil-peptidase	2	0,4499	2,5456	0,010500	NO	NO	34
gi|295672668	peptidil-prolil cis-trans isomerase B	2	180,1385	-	**	0.928	NO	8
gi|295668481	peptidil-prolil cis-trans isomerase D	1	0,274	-	**	NO	0.8640	16
6. SÍNTESE PROTÉICA								
gi|295674311	fator 5A da iniciação da tradução em eucariotos	3	0,5781	-	**	NO	NO	7
7. TRANSPORTE CELULAR								
gi|295660305	citocromo-c oxidase cadeia VI	1	0,235	-	**	0.9240	NO	7

Tabela 3- Proteínas constitutivamente expressas em ambos isolados

Número de Acesso (NCBI) [1]	Nome da proteína	Nº de isoformas no secretoma de *Paracoccidioides* [2]	Soma da abundância das isoformas [3]	ANOVA (*p*-value) [4]	SignalP Score 0.5 [5]	Secretome P Score 0.5 [6]	Nº de sequências antigênicas [7]
1.RESGATE CELULAR, DEFESA E VIRULÊNCIA							
gi|14538021	proteína de choque térmico 70	2	508,83	**	NO	NO	26
gi|295659116	proteína de choque térmico 70	5	57,36	0,2300	NO	0.5000	26
gi|295656848	proteína da famíliaTCTP	3	306,57	0,1811	NO	NO	7
gi|1588394	glicoproteiía gp43	1	174,1	0,1444	0.821	0.6106	20
gi|226293533	hsp90 ligante de co-chaperone	1	135,16	0,9516	NO	0.6480	7
gi|295659831	tioredoxina	1	19,04	0,0851	NO	0.8876	8
gi|225678115	proteína da matriz peroxissomal	1	0,3243	0,1232	NO	0.9212	7
gi|225683454	superóxido dismutase	1	0,7776	0,158	NO	0.9153	6
2. METABOLISMO							
gi|295668479	formamidase	2	0,3543	**	NO	NO	17
gi|295666938	nucleosídeo difosfate quinase	2	296,8181	**	NO	NO	9
gi|225680243	metionina sintase cobalamin-independente	1	19,04	0.1590	NO	NO	31

gi|225683737	espermidina sinthase	1	0,03807	0.4225	NO	NO	14
gi|295658698	fumarilacetoacetase	1	0,0388	0.8783	NO	0.7491	22
gi|295667790	beta-glicosidase	1	0,097	0.2230	0.999	0.8279	13
3. ENERGIA							
gi|146762537	enolase	2	0,38	**	NO	0.5491	21
gi|295668473	diidrolipoil deidrogenase	3	1,3185	0,0199	0.571	NO	26
gi|38569374	proteína do ponto de verificação de erros do DNA rad24	3	1,2343	**	NO	NO	11
gi|295672736	proteína do ponto de verificação de erros do DNA rad24	1	0,146	0.6026	NO	NO	13
gi|295673937	malato deidrogenase	3	183,31	0,1809	0.764	0.8163	17
gi|225684901	malate deidrogenase	1	0,261	0.5841	NO	NO	15
gi|295665468	proteína ligante de ácido nucléico	2	142,15	0,1905	0.982	0.5915	10
gi|295670663	triosefosfato isomerase	2	0,2859	0,0742	NO	NO	13
gi|225684009	aconitase	1	0,072	0.1184	NO	0.5587	37
gi|295669690	fosfoglicerato quinase	1	0,223	0.1431	NO	0.6626	18
gi|295666688	transaldolase	1	481,42	0.5186	NO	NO	14
gi|295658119	gliceraldeído-3-fosfato deidrogenase	1	0,186	0.0781	NO	0.9120	18
gi|225678203	proteína da família NmrA-like	1	0,3869	0.1073	NO	0.5898	15
gi|40805818	triosefosfato isomerase	1	0,522	0.3242	NO	NO	13
gi|225680389	proteína de ligação lateral à actina	1	88	0.066	NO	NO	6
4. CICLO CELULAR E PROCESSAMENTO DE DNA							
gi|226291029	proteína contendo domínio de ligação ao RNA	1	1,194	0.4578	0.983	0.5507	9
5.DESTINO DE PROTEÍNA (dobradura, modificação, destino)							
gi|295665666	proteína Grp1p	1	0,152	0.2430	NO	0.9061	12
gi|295660961	gama-glutamil transpeptidase	1	0,366	0.288	NO	NO	27
gi|225677985	peptidil-prolil cis-trans isomerase	1	172	0.2847	0.993	0.8995	11
gi|225678123	peptidil-prolil cis-trans isomerase cypE	1	0,588	0.1569	NO	0.8435	7
gi|225683317	peptidil-prolil cis-trans isomerase H	1	136	0.7734	NO	0.7282	10
6. SÍNTESE PROTEICA							
gi|295667868	fator de elongação da tradução beta-1	1	65,63	0,3906	NO	0.9342	12

7. DIVERSAS							
gi|295669073	12-oxofitodienoato redutase	4	254,65	0,1837	NO	0.7398	15
gi|225683148	proteína da superfamília-PROF	1	0,8172	0.2882	NO	0.9274	8
gi|225678928	proteína da superfamília ADF-gelsolin	1	0,4851	0.6693	NO	NO	7
gi|295658312	proteína da família L-PSP endoribonuclease	1	0,1331	0.9461	NO	NO	6

As proteínas identificadas no secretoma de ambos os isolados foram classificadas em categorias funcionais de acordo com o banco de dados MIPS Catálogo Funcional (FunCatDB), como mostra a **figura 4**.

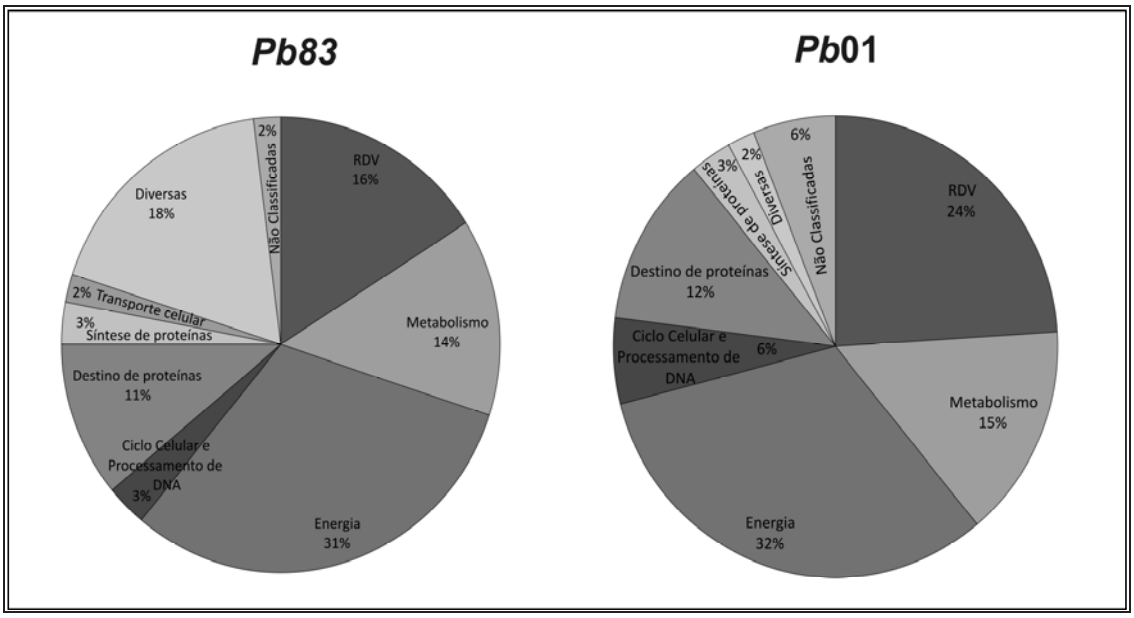


Figura 4 - Categorias funcionais representados no secretoma de levedura dos isolados *Pb*83 e *Pb*01 de *Paracoccidioides*. As proteínas identificadas foram agrupadas em categorias funcionais de acordo com o banco de dados denominado Catálogo MIPS Funcional (FunCatDB). A - proteínas identificadas no secretoma de *Pb*83, e B - proteínas identificadas no secretoma de *Pb*01.

Todas as proteínas identificadas foram submetidas à software de predição. As que possuíam peptídeo sinal foram consideradas proteínas secretadas por via clássica, de acordo com o *SignalP* 2.0. E as que não eram secretadas pela via clássica foram identificadas através do programa *SecretomeP* 2.0. Como mostra a **figura 5**, para ambos os isolados cerca de 20% das proteínas foram preditas como secretadas pela via clássica, enquanto 59 e 50% das proteínas foram consideradas como secretadas pela via não-clássica pelo *Pb*83 e *Pb*01 respectivamente.

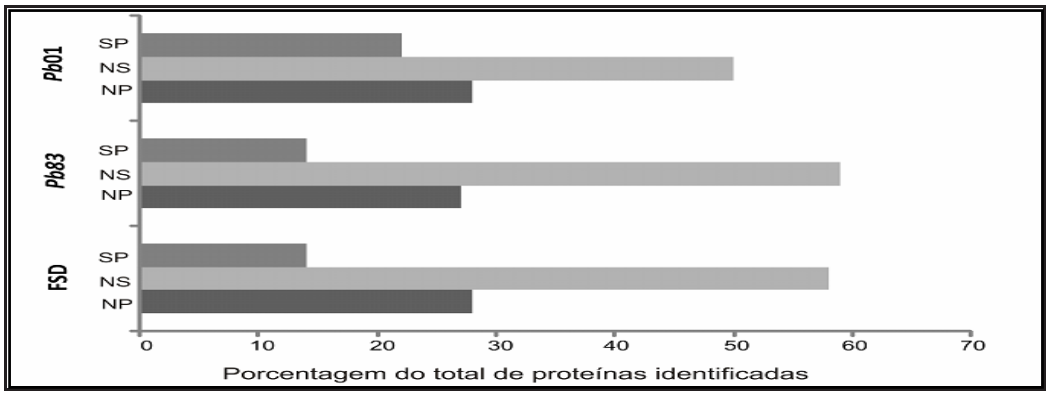


Figura 5- Classificação das proteínas extracelulares identificadas dos isolados *Pb*83 e *Pb*01, bem como do Fungal Secretome Database (FSD). SP (proteínas que foram preditas por SignalP 3.0), NS (proteínas que foram preditas por SecretomeP 2.0), NP (proteínas não inclusas em nenhuma classe).

A fim de identificar potenciais sítios antigênicos nas proteínas, suas sequências oligonucleotídicas foram codificantes foram analisadas ainda pelo software *Nucleotide Antigenics Pasteur*.

Os ensaios enzimáticos das enzimas formamidase (FMD) e superóxido-dismutase (SOD) foram realizados usando extratos citosólicos e secretados de ambos os isolados (**Figura 7**). Pôde-se observar que nas frações citadas acima, houve uma maior atividade de ambas enzimas no isolado Pb01, sendo que essa atividade apresentou maior discrepância na SOD.

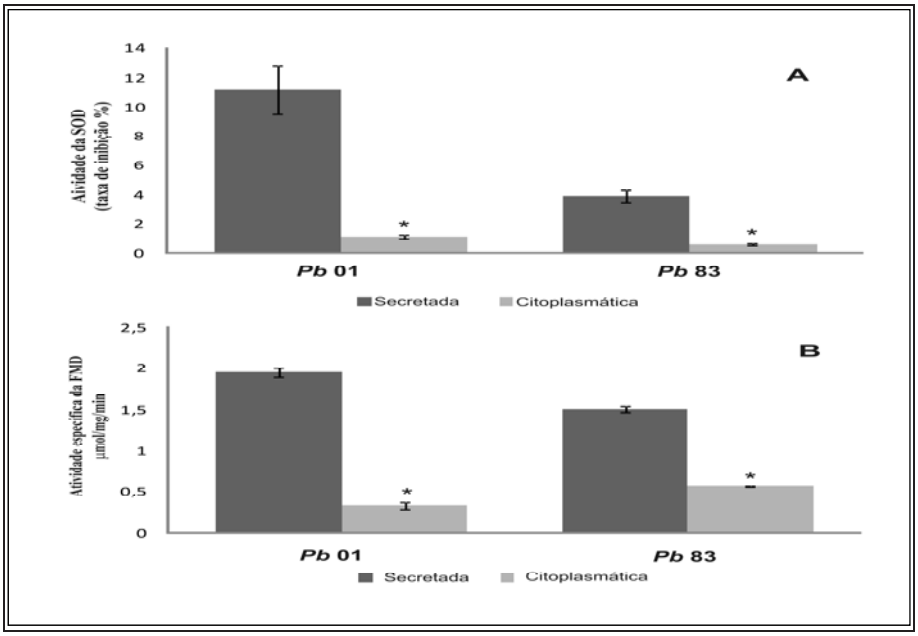


Figura 7- Análise da atividade enzimática de proteínas secretadas por *Paracoccidioides*, isolados *Pb*83 e *Pb*01. Resultados dos ensaios enzimático das proteínas (**A**) superóxido dismutase (SOD) e (**B**) formamidase (FMD). Teste t de Student foi utilizado para comparações estatísticas e as diferenças observadas foram

estatisticamente significantes quando $p \leq 0,05$. A barra de erros representa o desvio padrão das triplicatas biológicas.

4-Discussão

Proteínas secretadas por fungos desempenham importantes funções, tais como, obtenção de nutrientes, comunicação célula-célula, adesão e invasão dos tecidos do hospedeiro, colonização do substrato, detoxificação do meio e interações ecológicas com potenciais competidores, entre outros. Consequentemente o secretoma pode ser considerado como um compartimento biológico real, tendo um papel essencial na estratégia da infecção fúngica (SILVA et al., 2011).

Desenvolveu-se um mapa proteômico do *P. brasiliensis* para identificar proteínas que estão relacionadas à sobrevivência e disseminação do fungo no hospedeiro humano. Nesse estudo foi possível a obtenção dos mapas proteômicos dos isolados *Pb*83 e *Pb*01, da forma leveduriforme, com o intuito de analisar proteínas secretadas que sejam diferencialmente expressas entre os isolados em estudo. A maioria das proteínas secretadas por *Paracoccidioides* foi agrupada nas categorias Resgate celular, Defesa e Virulência (RDV) e Energia, incluindo proteínas de defesa como chaperonas e foldases, as quais fazem parte da maquinaria de proteção das células contra estresses (GUPTA e TUTEJA, 2011).

Muitas proteínas identificadas no secretoma possuem relações com a virulência fúngica ao colonizar o hospedeiro humano. Destacam-se superóxido dismutase, proteínas de choque térmico, citocromo c, formamidase, triose fosfato isomerase e 14-3-3 que também foram encontradas em vesículas secretadas por *H. capsulatum* (ALBUQUERQUE et al., 2008). No presente trabalho demonstrou-se a presença de enzimas associadas à virulência em frações vesiculares, proteínas de choque térmico, antioxidantes e também de proteínas como superóxido dismutase, tioredoxina e tioredoxina redutase.

Enzimas glicolíticas, como a enolase, foram encontradas no ambiente extracelular levando à suposição de que elas não estejam envolvidas somente em funções relacionadas à glicólise. A enolase possui afinidade por fibronectina e laminina, interação que facilita a adesão do fungo às células do hospedeiro, ela liga-se também ao plasminogênio, o que facilita a invasão e disseminação (NOGUEIRA et al., 2010). Isso sugere que a enolase esteja envolvida nesse processo de adesão, passo muito importante da infecção pelo *P. brasiliensis*.

A triose fosfato isomerase (TPI) tem sido caracterizada em modelo de infecção por outros patógenos e também pode estar envolvida na interação de *P. brasiliensis* com os

componentes da matriz extracelular, laminina e fibronectina, como já inferido em experimentos de adesão (PEREIRA *et al*., 2007).

A enzima GAPDH foi descrita como antígeno em vários microrganismos patogênicos, como o *P. brasiliensis* (FONSECA et al., 2001. Em *Paracoccidioides* foi demonstrado que a GAPDH está associada à parede celular onde é capaz de se ligar a componentes da MEC, como laminina, fibronectina e colágeno tipo I, além de ser capaz de mediar à aderência e internalização do fungo às células cultivadas in vitro, o que sugere o seu papel potencial no estabelecimento da doença (BARBOSA et al., 2006).

Enzimas da família da proteína Y20 são responsáveis pelo impedimento da redução de um elétron e da quinona em semiquinona que pode reagir com o oxigênio gerando espécies reativas do oxigênio altamente destrutivas (JENSEN et al., 2002). A atividade quinoredutase está relacionada ao estresse oxidativo gerado pelo sistema imune e essa função é atribuída à proteína Y20, que pode estar envolvida na proteção do *Paracoccidioides* contra macrófagos (MARCOS, 2011).

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes. As enzimas superóxido dismutases (SODs) detoxificam o radical superóxido, gerando oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Assume-se que a resposta ao estresse oxidativo em patógenos, incluindo a produção de antioxidantes, está diretamente relacionada com patogenicidade (HWANG *et al*., 2002; WYSONG *et al*., 1998), assim, a inibição dessa resposta pode atenuar a virulência (SAIJO et al., 2010). Essa condição de estresse oxidativo encontrada no hospedeiro permite que fungos dotados de um sistema antioxidante mais eficaz, possuam maior capacidade de disseminação e patogenicidade.

Estudos demonstram que a proteína Gp 43 (uma glicoproteína de 43 kDa) medeia um mecanismo de escape pela repressão da função do macrófago. O que permite supor que a inibição da função dos macrófagos pode facilitar a manutenção do fungo nos tecidos do hospedeiro, pelo menos nas fases iniciais (ALMEIDA *et al*., 1998).

Tirosinase, uma enzima chave na biossíntese da melanina, catalisa pelo menos três reações sequenciais na biossíntese de dopaquinona (intermediário na síntese de melanina) detirosina. A melanização parece contribuir para a virulência reduzindo a susceptibilidade de fungos melanizados para acolher o mecanismo de defesa e antifúngicos (TABORDA et al., 2008).

As 14-3-3 são um grupo de proteínas ácidas e pequenas, altamente conservadas. Apesar de estudos já observarem suas funções em apoptose, transdução de sinais, regulação do cliclo celular e transcrição. A invasão de *Paracoccidioides* afeta a estrutura do

citoesqueleto das células epiteliais, interferindo em aspectos morfológicos da actina, tubulina e citoqueratina (MENDES-GIANNINI *et al*., 2004). Nesse sentido, pode-se inferir que a proteína 14-3-3 de *P. brasiliensis* possa estar envolvida em diferentes processos de modificação da fisiologia da célula do hospedeiro, facilitando sua colonização, disseminação e infecção.

As chaperonas, ou proteínas de choque térmico, são induzidas principalmente em resposta ao aumento da temperatura e condições de estresse. Elas estão envolvidas no desdobramento e renaturação de proteínas, e participam de vários processos celulares, incluindo dimorfismo celular em fungos e imunopatogenicidade de doenças infecciosas (ANDRADE, 2006). Em *P. brasiliensis*, estas proteínas devem estar fortemente envolvidas no processo de adaptação para a sobrevivência do parasita no hospedeiro, visto que esta foi encontrada em grande número neste secretoma.

A formamidase catalisa a hidrólise específica da formamida para a produção de amônia e formato (SKOULOUBRIS *et al*., 1997). Formamidase de *P. brasiliensis* reage com anticorpos presentes em soro de pacientes com paracoccidioidomicose, proporcionando uma associação da proteína com patogênese fúngica (BORGES et al., 2005) e foi identificada neste secretoma.

Visto o número reduzido de proteínas encontradas no secretoma, a ampliação dos dados é necessária para se identificar um número maior de diferenças entre o perfil de secreção proteica destes isolados, bem como a realização de estudos funcionais das proteínas identificadas auxiliará na compreensão dos mecanismos de virulência e patogenicidade deste micro-organismo e das diferenças encontradas nos diversos isolados.

5-Conclusões

É possível construir um mapa das proteínas secretadas através da associação da eletroforese bidimensional à espectrometria de massas. Sendo que tais proteínas podem estar associadas à sobrevivência e patogenicidade fúngica nos tecidos do hospedeiro. Nossos resultados do secretoma mostram várias proteínas que trazem consigo informações importantes para a compreensão dos mecanismos de patogenicidade e virulência dos isolados *Pb*01 e *Pb*83.

Os dados indicam que cerca de 70% das proteínas identificadas foram preditas como secretórias, sendo a maioria delas utilizando vias secretórias não convencionais, de acordo com o Secretome Fungal Database. Dentre as proteínas identificadas devem-se destacar as relacionadas à adesão à MEC, proteínas relacionadas ao estresse térmico e oxidativo,

proteínas com capacidades imunogênicas, proteínas relacionadas à defesa contra antifúngicos, entre outras.

6-Considerações Finais

A análise de proteínas secretadas por fungos patogênicos humanos é muito útil elucidação dos mecanismos que os patógenos utilizam para adesão e disseminação nos tecidos do hospedeiro, mecanismos de evasão do sistema imune, entre outros. Sendo assim, torna-se uma importante ferramenta na compreensão das interações patógeno-hospedeiro.

7-Referências

1. BAGAGLI E, BOSCO S.M., THEODORO R.C., FRANCO M. (2006). Phylogenetic and evolutionary aspects of *Paracoccidioides brasiliensis*reveal a long coexistence with animal hosts that explain several biological features of the pathogen. **Infect Genet Evol6(5): 344-351.**
2. BARBOSA, M.S., BAO, S.N., ANDREOTTI, P.F., DE FARIA, F.P., Felipe, M.S., FEITOSA, L.S., MENDES-GIANNINI, M.J. SOARES, C.M.A. (2006). "Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Paracoccidioides brasiliensis* is a cell surface protein involved in fungal adhesion to extracellular matrix proteins and interaction with cells**." Infect Immun 74(1): 382-389.**
3. BORGES, C.L., PEREIRA, M., FELIPE, M.S., DE FARIA, F.P., GOMEZ, F.J., DEEPE, G.S., JR. SOARES, C.M.A. (2005). "The antigenic and catalytically active formamidase of *Paracoccidioides brasiliensis*: protein characterization, cDNA and gene cloning, heterologous expression and functional analysis of the recombinant protein." **Microbes Infect 7(1): 66-77.**
4. CAMARGO, Z.P. FRANCO, M.F. (2000). "Current Knowledge on Pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis." **Rev Iberoam Micol 17: 41-48**
5. FRANCO, M. (1987). "Host-parasite relationships in paracoccidioidomycosis." **J Med Vet Mycol 25(1): 5-18.**
6. FRANCO M, SANO A, KERA K, NISHIMURA K, TAKEO K, MIYAJI M (1989). “Clamydospore formation by *Paracoccidioides brasiliensis* mycelial form.” **Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 31: 151-7.**
7. MATUTE, D.R., MCEWEN, J.G., PUCCIA, R., MONTES, B.A., SAN-BLAS, G., BAGAGLI, E., RAUSCHER, J.T., RESTREPO, A., MORAIS, F., NINO-VEGA, G. TAYLOR, J.W. (2006). "Cryptic speciation and recombination in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis* as revealed by gene genealogies." **Mol Biol Evol 23(1): 65-73.**
8. MATUTE, D.R., SEPULVEDA, V.E., QUESADA, L.M., GOLDMAN, G.H., TAYLOR, J.W., RESTREPO, A. MCEWEN, J.G. (2006). "Microsatellite analysis of three phylogenetic species of *Paracoccidioides brasiliensis*." J Clin Microbiol **44**(6): 2153-2157.Nombela, C., Gil, C. Chaffin, W.L. (2006). "Non-conventional protein secretion in yeast." **Trends Microbiol14(1): 15-21.**

9. PEREIRA, L.A., BAO, S.N., BARBOSA, M.S., DA SILVA, J.L., FELIPE, M.S., DE SANTANA, J.M., MENDES-GIANNINI, M.J. DE ALMEIDA SOARES, C.M. (2007). "Analysis of the *Paracoccidioides brasiliensis* triosephosphate isomerase suggests the potential for adhesin function." **FEMS Yeast Res 7(8): 1381-1388**.
10. QUEIROZ-TELLES, F. (1994). "*Paracoccidioides brasiliensis* ultrastructural Findings. Paracoccidiodomycosis." M. Franco, C.S. Lacaz, A. Restrepo-Moreno and G. Del Negro. London, **CRC Press: 27-44**.
11. RESTREPO, A., MCEWEN, J.G. CASTANEDA, E. (2001). "The habitat of *Paracoccidioides brasiliensis*: how far from solving the riddle?" **Med Mycol 39(3): 233-241.**
12. RESTREPO, A. TOBON, A. (2005). *Paracoccdidioides brasiliensis*. Principles and Practice of infectious diseases. G. L. Mandell, J. E. Bennet and R. Dollin. **Philadelphia: 3062-3068**.
13. SAN-BLAS, G. (1993). "Paracoccidioidomycosis and its etiologic agent *Paracoccidioides brasiliensis*." **J Med Vet Mycol 31(2): 99-113**.
14. SAN-BLAS, G.; NINO-VEGA, G.; ITURRIAGA, T. *Paracoccidioides brasiliensis* and paracoccidioidomycosis: molecular approaches to morphogenesis, diagnosis, epidemiology, taxonomy and genetics. **Med Mycol, v. 40, n.3, p. 225-242, 2002.**
15. SILVEIRA, V.D., SCRIDELI, C.A. TONE, L.G. (2008). "Fungal infection by *Paracoccidioides brasiliensis* mimicking bone tumor." Pediatr Blood Cancer.
16. TSANG, A., BUTLER, G., POWLOWSKI, J., PANISKO, E.A. BAKER, S.E. (2009). Analytical and computational approaches to define the *Aspergillus niger* secretome." **Fungal Genet Biol 46 Suppl 1: S153-S160.**
17. VALERA, E.T.; MORI, B.M.; ENGEL, E.E., ET AL. Fungal infection by *Paracoccidioides brasiliensis* mimicking bone tumor. Pediatr Blood Cancer, 2008.
18. VIGNA, A.F., ALMEIDA, S.R., XANDER, P., FREYMULLER, E., MARIANO, M. LOPES, J.D. (2006). "Granuloma formation in vitro requires B-1 cells and is modulated by Paracoccidioides brasiliensis gp43 antigen." **Microbes Infect 8(3): 589-597.**

PERFIL CLÍNICO E EPIDEMIOLÓGICO DE GESTANTES VIVENDO COM HIV/AIDS EM GOIÁS

Acadêmica: Lara Cristina da Cunha Guimarães;
Orientadora: Sandra Maria Brunini de Souza
Faculdade de Enfermagem/UFG, CEP: 74605-080, Brasil
Email: Lara_cristina_g@hotmail.com; sandrabrunini@hotmail.com

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo identificar e analisar co-infecções prevalentes em gestantes vivendo com HIV/aids, atendidas na maternidade de referência da capital, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2012. Trata-se de um estudo transversal, retrospectivo, realizado por meio de coleta de dados em prontuários médicos, entre janeiro de 2010 a dezembro de 2012. Durante o período do estudo, foram atendidas 323 gestantes e a prevalência global de co-infecções foi 27,6% (IC 95%: 22,89 – 32,62). As co-infecções mais observadas foram as Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) (14,5%; IC 95%: 11,02 – 18,72) e as infecções do trato urinário (10,5%; IC 95%: 7,52 – 14,24), seguidas da toxoplasmose (2,5%; IC 95%: 1,16 – 4,65) e tuberculose (1,2%; IC 95%: 0,34 – 3,14) Algumas gestantes apresentaram múltiplas infecções. A maioria das gestantes portadoras de co-infecções possuía até oito anos de escolaridade (74,2%) e 85,4% relataram prática de sexo desprotegido durante a gravidez. Mais da metade das mulheres eram multíparas e 45% das mesmas tiveram evidência laboratorial do HIV anterior a gestação atual. Os resultados apontam para a necessidade de criação de um Serviço de Atenção a Saúde da Mulher Vivendo com HIV/aids em nosso Estado dedicado à saúde sexual e reprodutiva de qualidade, além de facilitador do acesso a este grupo populacional tão vulnerável.

Palavras-chave: Gestante, epidemiologia, HIV, aids, co-infecção

1. INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) é a terminologia empregada para definir uma doença infecto-contagiosa, emergente, grave, causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). A epidemia da aids a principio era caracterizada por ser restrita a algumas

populações cosmopolitas. Atualmente, a infecção pelo HIV é considerada um dos maiores problemas de saúde pública no mundo e é marcada principalmente, pelo aumento da ocorrência em mulheres (WHO, 2011; FONSECA, BASTOS, 2007).

Dados publicados recentemente mostraram que as mulheres já representam metade das pessoas vivendo com o HIV no mundo (UNAIDS, 2010). Estudos epidemiológicos vêm demonstrando a tendência a pauperização, interiorização e feminização da transmissão do HIV, além da heterossexualização, fato vinculado à taxas cada vez maiores de mulheres infectadas (DELICIO *et al.,* 2011; TEIXEIRA, *et al*., 2013).

A feminização da epidemia está relacionada a vários fatores que vulnerabilizam a mulher frente ao HIV, dentre os quais fatores biológicos, sociais e econômicos, como baixa escolaridade, pobreza, violência e impossibilidade de negociação do sexo seguro com seus parceiros (UNAIDS, 2010).

No Brasil, a feminização é uma realidade (BRASIL, 2007). Em 2010, foram identificados 34.218 casos de aids (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) dos quais 12.846 (37,5% do total) ocorreram em mulheres, correspondendo a uma razão de sexo de 1,7 homens para cada mulher (BRASIL, 2011). Gestantes infectadas pelo HIV em 2009 totalizaram 6.104 casos no Brasil. Nesse mesmo ano foram notificados 800 casos de aids em Goiás, correspondendo a 2% do total de casos no país, e coeficiente de detecção de 1,4 casos por 1.000 nascidos vivos (BRASIL, 2010). Pesquisa realizada em Goiás junto a Instituições de Referência para o atendimento de pessoas com soropositividade ao HIV identificou prevalência global de gestação de 9,5% no período de 2003-2008 (SILVA, 2011).

O manejo da paciente grávida HIV - positivo deve ter como foco a diminuição do risco de transmissão vertical e minimização das complicações maternas e neonatais (MARK et al.,2012). Desde 2010, a eliminação de novas infecções pelo HIV em recém-nascidos até 2015, se tornou uma meta global. Isso será possível desde que as gestantes vivendo com HIV e seus filhos tenham acesso oportuno a medicamentos antirretrovirais, conforme indicado, ou na forma de profilaxia para impedir a transmissão do HIV na gravidez, no parto e na amamentação (UNAIDS, 2011).

O HIV-1 e outros agentes patogênicos, como o vírus da hepatite B (HBV), vírus da hepatite C (HCV), ou o Treponema pallidum, partilham algumas ou todas as vias de transmissão, o que torna a ocorrência de co-infecção frequente. Em nossa região são poucos os estudos analisando co-infecções em gestantes HIV positivas e os patógenos acima relacionados. Acreditamos ser relevante uma proposta que objetive conhecer essa condição entre as gestantes HIV – positivas.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Analisar a ocorrência de co-infecções em gestantes HIV- positivas atendidas na maternidade pública de referência de Goiás.

2.2 ESPECÍFICOS

a) Descrever as características sóciodemograficas e comportamentais das gestantes HIV-positivas que apresentaram co-infecções;
b) Descrever as características clínico-laboratoriais e obstétricas dessas gestantes;
c) Identificar as principais co-infecções apresentadas durante a gestação;
d) Descrever as co-infecções apresentadas.

3. METODOLOGIA

3.1 Delineamento do estudo: estudo de corte transversal.

3.2 População alvo, local e período do estudo: gestantes infectadas pelo HIV, admitidas para tratamento no Hospital Materno Infantil (HMI), no período de 01 de janeiro de 2006 a 30 de dezembro de 2012.

3.3 Procedimento de coleta de dados: os dados foram coletados diretamente dos prontuários médicos das gestantes com diagnóstico laboratorial de infecção pelo HIV firmado no período do estudo e, atendidas naquela instituição de saúde, no mesmo período.

3.4 Fontes de informação: as fontes de informações foram constituídas pelos registros de prontuários do HMI.

3.5 Instrumentos de coleta de dados dos prontuários médicos: para a coleta de dados nos prontuários foi utilizado um formulário específico contendo as variáveis do estudo.

3.6 Critérios de elegibilidade: foram consideradas elegíveis gestantes com sorologia positiva para o HIV, idade igual ou superior a 13 anos e que demandaram ao serviço no período de 01 de janeiro de 2006 a 30 de dezembro de 2012. Mulheres que apresentaram mais de uma gestação no período do estudo foram contabilizadas uma única vez e considerados para análise os dados do último evento.

3.7 Variáveis do estudo:

a) Sócio-demográficas: faixa etária, escolaridade, raça, ocupação e estado civil;

b) Comportamentais: sexo desprotegido, uso de tabaco, álcool e drogas ilícitas;

c) Obstétricas: número de gestações, paridade, idade gestacional (IG) na 1ª consulta pré-natal e IG no parto;

d) Clínico-laboratoriais: momento da evidência laboratorial do HIV, sorologia do parceiro, contagem de linfócitos T CD4+; ultima carga viral, uso de TARV e presença de co-infecções.

3.8 Processamento e análise dos dados: Neste estudo os dados coletados dos prontuários compuseram um banco de dados que foi analisado utilizando-se o software Statistical Package Social Science (SPSS) versão 13.0 para *Windows.* A análise descritiva foi realizada através de distribuição de frequências, médias e desvio padrão. A medida de freqüência utilizada foi a prevalência com intervalo de confiança de 95%. O denominador utilizado para calcular a prevalência das co-infecções foi 323, número que corresponde ao total de gestantes incluídas no estuduo. Para análise descritiva das variáveis comportamentais, obstétricas e clínico-laboratoriais assumiu-se como denominador as gestantes que apresentaram co-infecção.

3.9 Procedimentos éticos: este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HMI. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado pelos guardiões dos prontuários do respectivo hospital e integra a ***Rede Goiana de Pesquisa em AgravosTransmissíveis com ênfase em seus aspectos epidemiológicos, preventivos e diagnósticos (REAT).***

Contou com financiamento da FAPEG e apoio logístico do NUCLAIDS/FEN/UFG.

4. RESULTADOS

Foram analisados os prontuários de todas as gestantes HIV- positivas que deram a luz no Hospital Materno Infantil de Goiânia entre janeiro de 2006 a dezembro de 2012. Durante este período foram atendidas 323 gestantes, sendo que em 89 delas houve relato de presença de co-infecção. A prevalência global de co-infecção nesse grupo foi 27,6% (IC 95%: 22,89 – 32,62).

Somente as gestantes co-infectadas tiveram suas características sociodemográficas e comportamentais apresentadas na Tabela 1. A maioria das gestantes atendidas que possuíam alguma co-infecção tinham entre 18 a 34 anos (91%), eram solteiras ou não estavam em união estável (66,3%), se auto-declararam como negras ou pardas (71,9%) e estudaram por até 8 anos (74,2%). Quanto a ocupação, 75,3% relataram ser donas de casa.

Tabela 1. Características sociodemográficas e comportamentais de 89 gestantes HIV - positivo portadoras de co-infecção, atendidas em maternidade de referência em Goiânia no período de 2006 a 2012. Goiânia – Goiás, 2013.

Variáveis	Nº	%
Idade (anos)		
<18 a 24	39	43,8
25 – 34	42	47,2
≥ 35	08	9,0
Estado Civil		
Solteira ou união não estável	59	66,3
Casado ou união estável	30	33,7
Raça / cor		
Branca	25	28,1
Negra /parda	64	71,9
Escolaridade		
Até 8 anos de estudo	66	74,2
8 a 11 anos	23	25,8
Ocupação		
Dona de casa	67	75,3
Outras	22	24,7
Sexo desprotegido durante a gestação		
Sim	76	85,4
Não	03	3,4
Não informado	10	11,2
Uso de drogas ilícitas		
Sim	10	11,2
Não	74	83,2
Não informado	05	5,6
Uso de álcool		
Sim	17	19,1
Não	37	41,6
Não informado	35	39,3
Uso de tabaco		
Sim	21	23,6
Não	36	40,4
Não informado	32	36,0

No que concerne às características comportamentais foi verificado que o sexo desprotegido durante a gravidez era frequente, sendo referido por quase todas as gestantes (85,4%).

Entre drogas lícitas e ilícitas utilizadas, o uso do tabaco durante a gestação, foi o mais relatado (23,6%), seguido pelo álcool, que foi utilizado durante a gestação por pouco mais de 19% das gestantes. As drogas ilícitas foram menos utilizadas durante a gestação, embora referida por mais de 10% das gestantes.

Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais de 89 gestantes HIV - positivo portadoras de co-infecção, atendidas em maternidade de referência em Goiânia no período de 2006 a 2012. Goiânia – Goiás, 2013.

Variáveis	Nº	%
Evidência laboratorial do HIV		
Anterior à gestação	40	44,9
Na gestação atual	49	55,1
Sorologia do parceiro		
Positiva	36	40,4
Negativa	06	6,7
Não informado	47	52,8
Contagem de CD4 na gestação		
< 200	06	6,7
≥200	45	50,6
Não informado	39	42,7
Última carga viral		
< 1.000 copias/ml	27	30,3
≥ 1.000 copias/ml	27	30,3
Não informado	35	39,3
Uso de TARV na gestação		
Sim	75	84,3
Não	14	15,7
Indicação de TARV na gestação		
Profilático	25	28,1
Terapêutico	48	53,9
Não informado	16	18,0

Em relação às características clínicas e laboratoriais observou-se que aproximadamente 45% das gestantes tiveram evidência laboratorial do HIV anterior a gestação atual e que

grande parte das informações referentes a sorologia do parceiro, à contagem de CD4 e à última carga viral não foram informadas nos prontuários. No entanto, entre os dados informados, observou-se que mais de 40% dos casais eram soroconcordantes e que 6,7% das mulheres apresentavam CD4+ inferior a 200. Quanto à carga viral, o mesmo número de gestantes teve carga viral < 1.000 copias/ml ou ≥ 1.000 copias/ml. Durante a gestação, aproximadamente 85% das mulheres utilizaram tratamento antirretroviral (TARV), e destas 53,9% a utilizavam de forma terapêutica (Tabela 2).

Tabela 3. Características obstétricas de 89 gestantes HIV- positivo atendidas em maternidade de referência em Goiânia no período de 2006 a 2012 e que apresentaram co-infecção. Goiânia – Goiás. 2013.

Variáveis	Nº	%
Número de gestações		
Primigesta	11	12,4
Secundigesta	16	18,0
Tercigesta	25	28,1
Quadrigesta	17	19,1
Multigesta	20	22,5
Paridade		
1 a 3	73	82,0
≥4	16	18,0
IG* na 1ª consulta pré-natal		
≤14 semanas	61	68,5
>14 semanas	20	22,5
IG*no parto		
< 37 semanas	20	22,5
37 – 41 semanas	67	75,3
>41 semanas	01	1,1
Não informado	01	1,1

***IG= Idade Gestacional**

Considerando as características obstétricas (Tabela 3), somente 30% era prima ou secundigesta, enquanto quadrigestas e multíparas somaram 41,6%. No que se refere à idade gestacional (IG) na primeira consulta do pré-natal, verificou-se que quase 70% das mulheres a realizaram até a 14º semana de gestação e que quase um quarto dos bebes nasceram pré-termo.

Muitas gestantes apresentaram mais de uma infecção associada ao HIV contabilizando um total de 103 co-infecções. As mais frequentes foram as DST (47), que juntamente com as

hepatites virais (10) corresponderam a 55,3% de todas as patologias. Calculando-se a prevalência de co-infecções a partir do total de gestantes atendidas depreende-se que a prevalência global de DST foi 14,5% (IC 95%: 11,02 – 18,72), destacando-se dentre essas os corrimentos vaginais (candidíase, vaginose e trichomoníase) e a sífilis com as respectivas prevalências de 5,96% (IC 95%: 3,69 – 8,87) e 5% (IC 95%: 2,96 – 7,75). Entre as doenças não classificadas como DST, houve maior prevalência para infecção do trato urinário (10,5%; IC 95%: 7,52 – 14,24), seguida da toxoplasmose (2,5%; IC 95%: 1,16 – 4,65) e tuberculose (1,2%; IC 95%: 0,34 – 3,14). As hepatites virais apresentaram uma prevalência de 3,1% (IC 95%: 1,58 – 5,45). A Tabela 5 mostra as prevalências identificadas nessa população.

Tabela 5. Prevalências de co-infecções em 323 gestantes HIV-positivas atendidas em maternidade de referência em Goiânia, no período de 2006-2012. Goiás, 2013.

Patologia	**Nº**	**%**	**IC 95%**
DST	**47**	**14,5**	**11,02 – 18,72**
Candidíase	10	3,1	
Vaginoses	07	2,2	3,69 – 8,87
Trichomoníase	02	0,6	
Sífilis	16	5,0	2,96 – 7,75
HPV	07	2,2	0,95 – 4,24
Condilomatose	05	1,5	0,50 – 3,58
Hepatites virais	**10**	**3,1**	**1,58 – 5,45**
Infecção do trato urinário	**34**	**10,5**	**7,52 – 14,24**
Tuberculose	**04**	**1,2**	**0,34 – 3,14***
Toxoplasmose	**08**	**2,5**	**1,16 – 4,65**

***Teste Exato de Fischer**

A Tabela 6 mostra os casos de múltiplas coinfecções. A candidíase vaginal foi a patologia que mais apareceu associada à outra morbidade além do HIV (70%), vindo seguida pela toxoplasmose (62,5%), vaginose (42,85%) e HPV (40%), sendo que somente a toxoplasmose não é considerada uma DST.

Tabela 6. Co-infecções associadas em gestantes HIV- positivas atendidas em maternidade de referência em Goiânia, no período de 2006-2011. Goiás, 2013.

Patologia	Nº	%
Candidíase vaginal (10)	**03**	
Candidíase associada	07	70,00
Vaginose (07)	**04**	
Vaginose associada	03	42,85
Sífilis (16)	**14**	
Sífilis associada	02	12,50
HPV (07)	**05**	
HPV associada	02	40,00
Condilomatose (05)	**04**	
Condilomatose associada	01	20,00
Infecções do trato urinário (34)	**24**	
Infecções do trato urinário associada	10	29,41
Toxoplasmose (08)	**03**	
Toxoplasmose associada	05	62,50
Tuberculose (04)	**03**	
Tuberculose associada	01	25,00

5. DISCUSSÃO

Neste estudo a maioria das gestantes atendidas possuía idade entre 18 a 34 anos, era solteira ou em união não-estável, se auto-declararam pardas, estudaram por até 8 anos e relataram ser donas de casa. Estes resultados reforçam a tendência apresentada por outros estudos, em que a infecção pelo vírus HIV tem atingido principalmente mulheres em idade fértil, com baixo nível de escolaridade e que tem como ocupação ser dona de casa (FONSECA, BASTOS, 2007; LEMOS *et al*., 2012; FIGUEIRÓ-FILHO *et al*., 2007; VIEIRA *et al.,* 2011).

Pesquisa realizada no Brasil demonstrou que grávidas não casadas podem ser mais vulneráveis a infecção pelo HIV, uma vez que o contexto de relações sexuais entre parceiros que não vivem juntos parece estar associado à maior exposição ao HIV do que aqueles de mulheres casadas ou em união estável. Além disso, mulheres não casadas têm maior

probabilidade de adotar comportamentos de risco como o de ter múltiplos parceiros sexuais e encontros casuais frequentes (BRASIL, 2000 apud CARDOSO *et al*, 2007).

Quanto às características comportamentais foi verificado que uma expressiva porcentagem de mulheres fez uso de tabaco e álcool durante a gravidez.

O tabagismo é altamente prevalente na população HIV – positiva e tem sido associado ao aumento da replicação viral do vírus e diminuição da resposta à terapia antirretroviral, aumentando o risco de transmissão vertical do HIV. Além disso, o uso do tabaco durante a gravidez está associado com morbidade materna e fetal e mortalidade significativa: importante fator de abortamento espontâneo, gravidez ectópica, parto prematuro, placenta prévia e ruptura prematura de membranas (ANDE *et al.,* 2013; DUPRAZ *et al*., 2013; ESCOTA, ONEN, 2013).

Quanto ao álcool, é comprovado que a exposição fetal a uma grande quantidade dessa substância está relacionada a síndrome alcoólica fetal, que inclui consequências cognitivas, comportamentais e físicas graves. As consequências do baixo a moderado consumo de álcool materno ainda não foram bem estabelecidas, assim como limite do consumo de álcool na gestação, no entanto, a abstinência completa de álcool durante a gravidez é recomendada em muitos países (DUPRAZ *et al*., 2013).

Mais da metade das mulheres tiverem três gestações ou mais. Segundo o censo de 2010 realizado no Brasil, pelo IBGE, o número médio de filhos nascidos vivos por mulher nesse ano, foi de 1,9 filhos. Portanto, considerando o êxito da gestação, essas mulheres apresentam número de filhos superior à média brasileira (IBGE, 2012).

Segundo manual de pré-natal e puerpério do Ministério da Saúde, a captação das gestantes para o pré-natal deve ser o mais precoce possível e a primeira consulta deve acontecer preferencialmente até 120 dias da gestação (BRASIL, 2006). Nossos resultados apontaram para uma boa resposta as ações desenvolvidas a fim de garantir a captação precoce das gestantes, uma vez que quase 70% das gestantes a realizaram antes da 14º semana de gestação. No entanto, é importante destacar que um número significativo de gestantes ainda realizou a primeira consulta de pré-natal com IG superior a 14 semanas.

O pré-natal é considerado um divisor de águas entre o diagnóstico e tratamento de infecções maternas, e a redução dos riscos de transmissão vertical. É durante o pré-natal que medidas educativas para as gestantes podem ser adotadas com o objetivo de reduzir os riscos, poupando recursos e garantindo qualidade da atenção à saúde materno-infantil (NETO, MEIRA, 2004).

O nascimento de bebês pré-termo foi observado em quase um quarto dos partos. Em estudo realizado na região sudeste do Brasil foi evidenciado que as crianças que nasceram no período pré-termo (<37 semanas de idade gestacional) apresentaram maior risco de infecção por HIV-1 do que as crianças que foram entregues no prazo gestacional correto (CARNEIRO *et al*., 2012).

As características clínicas e laboratoriais mostraram que aproximadamente 45% das gestantes conheciam sua sorologia positiva para o HIV antes da gestação atual, demonstrando que a soropositividade não foi um empecilho para a gravidez. Estudos realizados no Brasil têm demonstrado que mulheres soropositivas para HIV, principalmente as mais jovens, desejam ter filhos, mesmo cientes do risco da contaminação vertical e/ou do seu companheiro (CORDOVA *et al*., 2013).

Entre os dados informados para sorologia do parceiro, a contagem de CD4+ e a última carga viral, verificou-se que mais de 40% dos casais eram soroconcordantes e praticavam sexo desprotegido durante a gestação, aumentando o risco de reinfecção pelo próprio HIV (acarretando aumento na carga viral), da exposição a variantes resistentes do vírus e ainda da aquisição de outras DST (BRASIL, 2010b). E ainda, que 6,7% das mulheres apresentavam LT-CD4+ inferior a 200. Quanto a carga viral, o mesmo número de gestantes teve carga viral < 1.000 copias/ml ou ≥ 1.000 copias/ml.

As condições imunológicas das gestantes devem ser consideradas para o aumento do risco da transmissão vertical. Contagens de LT-CD4+ inferiores a 200 cels./mm³ indicam imunossupressão e definem um caso de aids, com indicação de tratamento antirretroviral independentemente da idade gestacional e de profilaxia de infecções oportunistas (BRASIL, 2010b).

A carga viral plasmática materna, também tem demonstrado associação proporcional ao risco de transmissão vertical do HIV, logo, uma das estratégias mais eficazes para reduzir a transmissão vertical do HIV é o de reduzir a carga viral materna durante a gravidez. Sendo por isso a precocidade do inicio da terapia antirretroviral um importante fator na redução do risco de transmissão vertical. Em nossos resultados verificamos que durante a gestação aproximadamente 85% das mulheres utilizaram TARV, e destas 53,9% a utilizavam de forma terapêutica, isto é, eram gestantes sintomáticas, independente da contagem de CD4+ ou gestantes assintomáticas com contagem de CD4+ $\leq$350 células/mm³ (LEMOS *et al*., 2012; BRASIL, 2010b).

A população em estudo tem como características em comum o fato de serem gestantes e portadoras do HIV. Estes dois fatores corroboram para a maior vulnerabilidade da mulher a

outras infecções, além do próprio HIV, uma vez que, durante a gestação, a mulher passa por diversas alterações. Entre as alterações destacam-se as do sistema imunológico, que ocorrem a fim de manter esse sistema tolerante aos antígenos paternos de histocompatibilidade mais expressos pelo feto. Por isso, a gravidez é um evento marcado pela supressão do sistema imunológico adaptativo. Além disso, o HIV é um retrovírus que infecta principalmente os linfócitos CD4+, que são reguladores da imunidade, levando a destruição progressiva do sistema imune (NEVES, MEDINA, DELGADO, 2007; BRASIL, 2010a).

Entre as co-infecções identificadas neste estudo, as mais prevalentes foram as DST, principalmente a candidíase e a sífilis, que juntamente com as hepatites virais (10), corresponderam a 50% de todas as patologias.

As DST são doenças transmitidas pela via sexual, sendo as mulheres mais vulneráveis do que os homens a este tipo de infecção, especialmente se estiverem gestantes, devido modificações fisiológicas que acompanham a gravidez como, congestionamento do colo do útero, o edema da mucosa vaginal e alterações da flora vaginal (LIMA, VIANA, 2009; TRAVASSOS *et al*., 2012).

A maioria das mulheres que possuem algum tipo de DST são assintomáticas, entretanto esse tipo de infecção durante a gravidez está associado ao aumento da morbidade e mortalidade neonatal e pode causar parto prematuro, baixo peso ao nascimento, morte fetal, ruptura prematura de membranas e infecções congênitas graves. Além disso, mulheres grávidas HIV - positivas co-infectadas possuem risco de transmissão vertical do HIV e outros patógenos aumentada (LIMA, VIANA, 2009; TRAVASSOS *et al*., 2012).

A candidíase não é propriamente uma DST, uma vez que é gerada por microrganismos comensais da flora vaginal, mas que sob determinadas condições, podem se tornar patogênicos (GONDO *et al.,* 2010).

A candidíase é causada por várias espécies de *Candida sp* e geralmente ocorre em consequência dos altos níveis de glicogênio vaginal associada ao calor e a umidade local, gerando um ambiente propício para a ativação desse fungo, principalmente no segundo trimestre da gestação. Embora esta infecção apresente elevada prevalência, não está relacionada a complicações perinatais relevantes, diferente da sífilis, que quando não tratada pode gerar consequências graves (GONDO *et al.,* 2010).

A sífilis materna possui altos índices de transmissão vertical, e está associada a morte fetal e neonatal, hidropisia fetal, restrição de crescimento intra-uterino, bem como o nascimento prematuro (NÓBREGA *et al*., 2013).

A hepatite B também requer atenção especial, pois assim como a sífilis possui altos índices de transmissão vertical quando não tratada, estes índices podem chegar até 95% quando há replicação viral. Entretanto, este risco pode ser reduzido para apenas 5% quando aplicada a imunoglobulina e a vacina contra hepatite B até as primeiras 12 horas de vida do recém-nascido (KUPEK, OLIVEIRA, 2012). Já para a hepatite C, a via vertical não é tão importante quanto a sanguínea. Mas a identificação da mesma é importante para adoção de medidas que evitem complicações perinatais decorrentes dessa co-infecção, que eleva o risco de transmissão vertical (CAINELLI, 2013; GARDENAL *et al.,* 2011).

Para as doenças não classificadas como DST, a infecção do trato urinário foi a que se destacou por ter apresentado a maior prevalência entre todas as patologias (10,5%). A infecção do trato urinário (ITU) é frequente na gestação e pode ocorrer em três formas: a bacteriúria assintomática, a cistite e a pielonefrite. A bacteriúria assintomática quando não tratada, aumenta o risco de baixo peso ao nascer, porém não aumenta o risco da prematuridade. Entre ITU sintomáticas, a pielonefrite é a mais grave e está associada com o nascimento pré-termo e restrição do crescimento intrauterino (HACKENHAAR, ALBEMAZ, 2013).

Algumas infecções apresentaram-se associadas a outras patologias. A candidíase vaginal e a toxoplasmose apareceram em associação na maioria dos casos, 70% e 62,5% respectivamente.

A toxoplasmose é uma zoonose causada por um protozoário que infecta muitos animais vertebrados, incluindo o homem. Pode ser transmitida verticalmente, mas não sexualmente. A transmissão vertical ocorre quando a mulher adquire a infecção pela primeira vez durante a gravidez. No entanto, a infecção subsequente, a infecção crônica é geralmente benigna em indivíduos imunocompetentes (FONSECA *et al*., 2012; SPALDING *et al*., 2005). Essa co-infecção tem aspectos importantes, especialmente se considerarmos que quase 7% das gestantes tinham aids e que além do risco de transmissão vertical podem desenvolver a neurotoxoplasmose, doença oportunista de alta prevalência em nosso país.

6. CONCLUSÕES

O estudo realizado nos permitiu identificar uma prevalência global de co-infecção em gestantes HIV - positivas de 27,6% (IC 95%: 22,89 – 32,62). As principais patologias identificadas em associação simples ou múltipla com o HIV foram as DST, com prevalência global de 14,5% (IC 95%: 11,02 – 18,72); seguida das infecções do trato urinário (10,5%; IC

95%: 7,52 – 14,24); da toxoplasmose (2,5%; IC 95%: 1,16 – 4,65) e tuberculose (1,2%; IC 95%: 0,34 – 3,14). Foram observados casos de coexistência de múltiplas infecções nessas gestantes. A candidíase vaginal foi a patologia que mais apareceu associada à outra morbidade além do HIV (70%) seguida da toxoplasmose (62,5%).

Quanto às características sociodemográficas e comportamentais das gestantes portadoras de co-infecções, observou-se que 91% tinham entre 18 a 34 anos; eram solteiras ou não estavam em união estável (66,3%), se auto-declararam negras ou pardas (71,9%), estudaram por até 8 anos (74,2%) e 75,3% eram donas de casa. A prática de sexo desprotegido durante a gestação foi referida por 85,4% das mulheres e quase ¼ delas referiu ser fumante ativa. O uso de bebidas alcoólicas durante a gestação foi relatado por 19% e o uso de substâncias ilícitas por mais de 10% dessas mulheres.

Tratando-se das características clínicas e laboratoriais observou-se que aproximadamente 45% das gestantes tiveram evidência laboratorial do HIV anterior a gestação atual; 40% constituíam casais soroconcordantes e 6,7% das mulheres apresentavam CD4+ inferior a 200. Aproximadamente 85% das mulheres utilizaram TARV, sendo que em 53,9% a indicação foi terapêutica ao invés de somente profilática.

Gestantes co-infectadas quadrigestas e multíparas somaram 41,6% e quase 70% realizaram a primeira consulta do pré-natal até a 14º semana de gestação, sendo que um quarto dos bebes nasceram pré-termo.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos evidenciam uma grande vulnerabilidade da gestante HIV-positiva, que tem acrescidos aos riscos obstétricos comuns ao processo gestacional, outros que podem comprometer sua saúde e do seu concepto. A prática frequente de comportamentos não seguros como o sexo desprotegido, independentemente da concordância sorológica, expõem essa mulher a muitos outros patógenos, haja visto a alta prevalência de DST e outras co-morbidades observadas. Associam-se a esses fatores, o uso de álcool e outras drogas que podem contribuir para o agravamento das condições clinicas dessa mulher.

Ressalta-se, todavia, o alto percentual de gestantes com evidência laboratorial do HIV anterior a gestação atual e em uso terapêutico de TARV. Tais fatos demonstram falta de acesso a serviços de planejamento familiar capazes de atender a mulher soropositiva tanto no seu desejo de engravidar, para uma opção consciente em relação a maternidade e apoio para a

reprodução conduzida e assistida, quanto àquela que, optando por não engravidar, necessita de informações sobre métodos anticonceptivos seguros para prevenir a gestação indesejada.

Esse contexto nos alerta para a importância do acompanhamento gineco-obstétrico da mulher soropositiva, inclusivo, de qualidade, com profissionais devidamente capacitados para lidar com as questões relacionadas à sua saúde sexual e reprodutiva, respeitando seus direitos; garantindo-lhes dignidade na vivência de sua sexualidade e segurança no processo reprodutivo, estendida ao seu concepto.

Acreditamos que a relevância deste estudo esteja no fato de possibilitar identificar as fragilidades ainda existentes na Rede-SUS em relação ao atendimento da mulher HIV-positiva. A pesquisa evidenciou a premência de se implementar políticas direcionadas às necessidades de saúde da mulher soropositiva e que fortaleçam e aprimorem a Rede-SUS de Goiás. Por isso, sugerimos a implantação de um Serviço de Atenção a Saúde da Mulher Vivendo com HIV/aids em nosso Estado, capaz de responder as demandas de atenção à saúde sexual e reprodutiva, com qualidade e que seja facilitador do acesso a este grupo populacional tão vulnerável.

REFERÊNCIAS

ANDE, A. et al. Tobacco smoking effect on HIV-1 pathogenesis: role of cytochrome P450 isozymes**. Informa Healthcare**, 2013. Disponível em: < http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/17425255.2013.816285>. Acesso em: 2 de set. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Área Técnica de Saúde da Mulher**. Pré-natal e Puerpério: atenção qualificada e humanizada – manual técnico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 163 p.

BRASIL. Secretaria de Atenção a Saúde. **Programa Nacional de DST e Aids. Plano Integrado de enfrentamento à feminização da epidemia de Aids e outras DST.** Brasília: 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. 8. ed. Brasília : Ministério da Saúde, 2010a. 444 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Recomendações para Profilaxia da Transmisão Vertical do HIV e Terapia**

Antirretroviral em Gestantes: manual de bolso. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. Brasília : Ministério da Saúde, 2010b. 172 p.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Aids e DST.** Brasília: 2011.

CAINELLI, F. Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus transmission routes: Differences and similarities. **World J. Hepatol.** , v. 5, n.5, p. 234-236, 2013. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3664281/>. Acesso em: 25 jun. 2013.

CARDOSO, A. J. C. Infecção pelo HIV entre gestantes atendidas nos centros de testagem e aconselhamento em Aids. **Rev. Saúde Pública**, v. 41, n.2, p.101-8, 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0034-89102007000900016&script=sci_arttext>. Acesso em: 1 jul. 2013.

CARNEIRO, L. E. P. *et al*. HIV-1 Mother-to-Child Transmission and Associated Characteristics in a Public Maternity Unit in Presidente Prudente, Brazil**. Rev. Inst. Med. Trop.,** Sao Paulo, v. 54, n.1, p.25-29, 2012. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652012000100005>. Acesso em: 1 jul. 2013.

CORDOVA, F. P. *et al*. Mulheres soropositivas para o HIV e seus companheiros frente à decisão pela gestação. **Rev. Bras. Enferm.**, Brasilia, v. 66, n. 1, p. 97-102, 2013. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-71672013000100015&script=sci_arttext>. Acesso em: 30 jun. 2013.

DELICIO, A.M. *et. al*. Mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus in aten years period. **Rev. Reproductive Health**, Campinas, v.8, n.35, 2011. Disponível em: < http://www.reproductive-health-journal.com/content/8/1/35>. Acesso em: 20 abr. 2013.

DUPRAZ, J. *et al*. Tobacco and alcohol during pregnancy: prevalence and determinants in Geneva in 2008. **Swiss Med Wkly**, v. 143, n. w13795, 2013. Disponível em: < http://www.smw.ch/content/smw-2013-13795/>. Acesso em: 2 set. 2013.

ESCOTA, G.; ONEN, N. HIV-Infected Adolescent, Young Adult and Pregnant Smokers: Important Targets for Effective Tobacco Control Programs. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 10, p. 2471-2499, 2013. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3717748/>. Acesso em: 2 set. 2013.

FIGUEIRÓ-FILHO, E. A. *et al*. Freqüência das infecções pelo HIV-1, rubéola, sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples, hepatite B, hepatite C, doença de Chagas e HTLV I/II em gestantes, do Estado de Mato Grosso do Sul. **Rev da Soc Bras de Med Tropical**, v. 40, n. 2, p. 181-187, 2007. Disponível em : < http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v40n2/a07v40n2.pdf>. Acesso em 2 set. 2013

FONSECA, A. L. *et al*. Epidemiologic aspects of toxoplasmosis and evaluation of its seroprevalence in pregnant women. **Rev da Soc Bras de Med Tropical**, v. 45, n. 3, p. 357-364, 2012. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822012000300015&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 25 jul. 2013.

FONSECA, M. G. P. , BASTOS, F.I. Twenty-five years of the AIDS epidemic in Brazil: principal epidemiological findings, 1980-2005. **Cad Saude Publica,** v.23, p. 333-344**,** 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2007001500002> Acesso em: 2 set. 2013

GARDENAL, R. V. C. Hepatite C e gestação: análise de fatores associados à transmissão vertical. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical**, v. 44, n. 1, p. 43-47, jan-fev, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822011000100011&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 2 set. 2013.

GONDO, D. C. A. F. *et al.* Alteración de la flora vaginal en gestantes de bajo riesgo atendidas en servicio público de salud: prevalencia y asociación a la sintomatología y hallazgos del examen ginecológico. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 18, n. 5, p. 1-9, 2010. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010411692010000500012&script=sci_abstract&tlng=es>. Acesso em: 3 ago. 2013.

HACKENHAAR, A. A., ALBERNAZ, E. P. Prevalência e fatores associados à internação hospitalar para tratamento da infecção do trato urinário durante a gestação. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 35, n. 5, p. 199-204, 2013. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-72032013000500002&script=sci_arttext>. Acesso em: 2 set. 2013.

IBGE. **Censo Demográfico 2010**, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2012. Disponível em: < ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo_Demografico_2010/Nupcialidade_Fecundidade_Migracao/tab1_2.pdf >. Acesso em: 4 de jul. 2013

KUPEK, E., OLIVEIRA, J. F. Transmissão vertical do HIV, da sífilis e da hepatite B no município de maior incidência de AIDS no Brasil: um estudo populacional no período de 2002 a 2007. **Rev Bras Epidemiol**, v.15, n. 3, p. 478-87, 2012. Disponível em: <

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-790X2012000300004&script=sci_arttext>. Acesso em: 2 set. 2013.

LEMOS, L. M. D. *et al.* Evaluation of preventive measures for mother-to-child transmission of HIV in Aracaju, State of Sergipe, Brazil. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical,** v. 45, n. 6, p. 682-686, 2012. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822012000600005&script=sci_arttext>. Acesso em: 29 jul. 2013.

LIMA, L. H. M.; VIANA, M. C. Prevalence and risk factors for HIV, syphilis, hepatitis B, hepatitis C, and HTLV-I/II infection in low-income postpartum and pregnant women in Greater Metropolitan Vitória, Espírito Santo State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p.668-676, 2009. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2009000300021>. Acesso em: 2 set. 2013.

MARK, S. *et al.* HIV Mother-to-Child Transmission Mode of Delivery and Durantion of Rupture of Membranes: Experience in the Current Era. **Inf. Diseases in Obstetrics and Gynecology.** 2012. Disponível em: < http://www.hindawi.com/journals/idog/2012/267969/>. Acesso em: 2 set. 2013.

NETO, J. O.; MEIRA, D. A. Soroprevalência de vírus linfotrópico de células T humanas, vírus da imunodeficiência humana, sífilis e toxoplasmose em gestantes de Botucatu – São Paulo – Brasil. Fatores de risco para vírus linfotrópico de células T humanas. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical**, v. 37, p. 28-32, 2004. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822004000100008&script=sci_arttext>. Acesso em 2 set. 2013.

NEVES, C.; MEDINA, J. L.; DELGADO, J. L. Alterações Endócrinas e Imuno-modulação na Gravidez. **ArquiMed**, v. 21, n. 5/6, p. 175-82, 2007. Disponível em: < http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/am/v21n5-6/v21n5-6a07.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2013.

NÓBREGA, I. *et al.* Syphilis and HIV-1 among parturient women in Salvador, Brazil: low prevalence of syphilis and high rate of loss to follow-up in HIV-infected women. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v. 17, n. 2, p. 184-93, 2013. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-86702013000200012&script=sci_arttext>. Acesso em: 2 ago. 2013.

RODRIGUEZ, M. J. H. **Percepção de Mulheres Hiv-Positivo acerca do Cuidado Recebido no Pré-Natal, Parto e Puerpério à Luz das Políticas Públicas Peruanas**. 2012. p. 139. Dissertação (Programa de pós-graduação em Enfermagem) - Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012. Disponível em: < https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/100870>. Acesso em: 2 set. 2013.

SILVA, L.R. **Epidemiologia da infecção pelo HIV em mulheres atendidas em hospitais de referência em Goiânia - Goiás: uso de técnica de relacionamento de bases de dados.** 2011. p.100. Dissertação (Programa de pós-graduação em Enfermagem) – Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

SPALDING, S. M. *et al*. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical**, v. 38, n. 2, p. 173-177, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822005000200009>. Acesso em: 2 set. 2013.

TEIXEIRA, L. B. *et al*. Sexual and reproductive health of women living with HIV in Southern Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 29, n.3, p. 609-620, 2013. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-311X2013000300018&script=sci_abstract>. Acesso em: 6 ago. 2013.

TRAVASSOS, A. G. A. *et al.* Prevalence of sexually transmitted infections among HIV-infected women in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis**., v.16, n.6, p. 581-85, 2012. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/bjid/v16n6/v16n6a14.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2013.

UNAIDS. **Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic**. Geneva: UNAIDS. 2010.

UNAIDS. **Plano Global para Eliminar Novas Infecções por HIV/VIH em Crianças até 2015 e Manter suas Mães Vivas**. Geneva: UNAIDS. 2011. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-89102011000400002&script=sci_arttext>. Acesso em: 12 jul. 2013.

VIEIRA, A. C. B. C. *et al.* Prevalência de HIV em gestantes e transmissão vertical segundo perfi l socioeconômico, Vitória, ES. **Rev Saúde Pública**, v.45, n. 4, p. 644-51, 2011. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-89102011000400002&script=sci_arttext>. Acesso em: 2 ago. 2013.

WHO. World Health Organization. **Key facts on global HIV epidemic and progress in 2010.** Geneva (Switzerland): WHO, 2011. Disponível em: **<** http://www.who.int/hiv/pub/progress_report2011/global_facts/en/index1.html **>.** Acesso em: 4 ago. 2013.

SUBJETIVIDADE, CULTURA E LAZER: (trans)formações sociais e individuais nos proprietários rurais atingidos pela construção da barragem UHE

Khézia de Freitas MONTEIRO

Graduanda do Curso de Psicologia, Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão.
Núcleo de Estudos e Pesquisas Socioambientais (NEPSA/CNPq).
E-mail: khezia_freitas@hotmail.com

Estevane de Paula Pontes MENDES

Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão.
Núcleo de Estudos e Pesquisas Socioambientais (NEPSA/CNPq).
E-mail: estevaneufg@gmail.com

Resumo: O presente texto tem como objetivo estudar o processo de desapropriação das áreas e população atingida pela construção do Reservatório de Aproveitamento Hidrelétrico Serra do Facão no Rio São Marcos, Sudeste Goiano, analisando os impactos dessas mudanças na vida da população atingida, tendo em vista que tais mudanças ultrapassam os limites físicos, mas também subjetivos, culturais e suas variadas formas de lazer.
Palavras-chave: Subjetividade. Cultura. Lazer. Catalão (GO).

1 Introdução

O presente artigo teve como finalidade estudar o processo de desapropriação da população atingida pelo Reservatório de Aproveitamento Hidrelétrico Serra do Facão e, a partir disso analisar os impactos dessas mudanças na vida da população pesquisada. É preciso ter em vista que tais mudanças ultrapassam os limites físicos, mas também subjetivos, culturais e suas variadas formas de lazer.

Nesse sentido, fez-se necessária a pesquisa com o objetivo, *a priori*, de conhecer os meios de produção, qualidade de vida, meios de subsistência dos proprietários que ainda residem na área rural e que tiveram que vender parte de sua terra, e em alguns casos, todas suas posses. O interesse primordial, partiu, então, em entrar em contato com a população atingida pela construção da barragem UHE, e fazer uma análise acerca de sua condição de vida no que diz respeito à piora ou melhora da mesma após essa construção. Esse estudo só foi possível de ser realizado através do vinculo com o Núcleo de Estudos e Pesquisas Socioambientais (Nepsa), situado na Universidade Federal de Goiás- Campus Catalão.

Foram entrevistados 46 proprietários residentes na área rural e estes apresentaram idades que variavam entre oitenta(80) anos a trinta e cinco (35) anos dentre homens e mulheres.

Alguns moram na região há mais de cinquenta (50) anos, enquanto que outros moram a cerca de três (3) anos. Aqueles que foram expropriados e tiveram que se mudar, residem na atual propriedade a cerca de dois (2) a cinco (5) anos.

As famílias que residem na mesma casa são, em média, constituídos por um (1) a cinco (5) componentes, entre velhos, jovens e crianças e os graus de escolaridade variam entre o analfabetismo e o ensino médio completo. E a renda mensal é proveniente da produção agrícola, e variam entre 1 a 3 salários mínimos.

A principal forma de lazer entre eles são a participação em eventos culturais (festas de roça, de santos, reza de terço), reunião entre amigos e famílias e o uso do rio São Marcos para a pesca.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

a) Estudar a população de proprietários atingidos pela construção da barragem UHE, mas que ainda continuam residindo na área rural, e as consequências físico/emocionais acarretadas por essa mudança.

2.2 Objetivos específicos

a) Fazer uma revisão teórica a fim de compreender a relação subjetividade, cultura e lazer;
b) Analisar como a população atingida percebe e se percebe em um território diferente de seu original;
c) Verificar se existe ou não momentos de lazer entre essas pessoas e quais suas implicações;
d) Analisar as mudanças físico e/ou emocionais ocorridas pelo processo de desterritorialização/reterritorialização dos indivíduos.

3 Metodologia

Segundo Campos (2004) o método é um conjunto de princípios que norteia, e orienta os procedimentos do pesquisador durante a realização da pesquisa. É através do método que se garante a veracidade do conhecimento descoberto, portanto, é a peça fundamental de uma pesquisa.

As metodologias utilizadas para a realização da pesquisa serão: pesquisa teórica, pesquisa documental e pesquisa de campo.

3.1 Pesquisa teórica

A pesquisa teórica teve como objetivo primordial o levantamento de materiais bibliográficos, tais como em livros, artigos científicos, monografias, relatórios, periódicos, sites que tratam a subjetividade, cultura e lazer, possibilitando assim a compreensão e avaliação acerca da temática proposta. Para isso, foram utilizados os seguintes autores: Batalha (2004), Cardoso de Oliveira (2006) Dumazedier (2004), Guattari e Rolnik (2010), Corrêa e Rosendahl (2010), e Hall (2006).

Autores como Corrêa e Rosendahl (2010)dizem que ao tratar a cultura como objeto de estudo , observarm os escritos de Cosgrove (1998a) e chegaram à concepção de que existe uma dificuldade em definir com clareza o que vem a ser a cultura propriamente dita. Para esses autores, defini-la objetivamente seria negar a "sua subjetividade essencial" e com isso recusar a compreendê-la como meio da prática humana, contextualizada histórica e geograficamente. Esses mesmos autores utilizam o termo *culturas* ao ressaltarem sua complexidade e mutabilidade. Outros autores como Guattari e Rolnik (2010) falam sobre essas culturas historicamente e nomeia- nas de a)"Cultura-valor", que determina quem tem cultura e quem não tem; b) "Cultura- alma coletiva", sinônimo de civilização, todo mundo tem cultura; c) "Cultura-mercadoria", que diz respeito à cultura de massa, onde nessa cultura são todos os bens.

No que diz respeito ao lazer, percebe-se a enorme dificuldade em encontrar material que vem abordar esse tema. Dumazedier (2004) afirma que o lazer se apresenta como elemento central da cultura vivida por milhares de trabalhadores, e que possui relações sutis e extremamente profundas com todos os grandes problemas vindos do trabalho, família e política, e que sob sua influência passa a ser tratado de maneira diferente.

Ao analisar essa relação entre subjetividade, cultura e lazer entende-se que os indivíduos, segundo Guattari e Rolnik (2010), são o resultado de uma produção de massa, e que a subjetividade não é passível de ser totalizada e centralizada única e exclusivamente no indivíduo. Aqui, o sujeito se percebe, se transforma e (re)cria novos significados a partir de sua relação com o outro.

3.2 Pesquisa documental

Os documentos e registros utilizados foram obtidos pelo Núcleo de Estudos e Pesquisa Socioambientais (NEPSA), Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Tratam-se de roteiros de entrevistas aplicados aos proprietários residentes na área rural que foram atingidos pela construção da barragem UHE.

3.3 Pesquisa de campo

No que tange a pesquisa de campo, foram aplicadas entrevistas e questionários e foi feita a observação da população ratingida, a fim de analisar como se estabelecem as relações nesse processo de desterritorialização/reterritorialização.

4 A questão da construção subjetiva marcada pelo espaço

A construção da subjetividade não pode ser entendida como um simples "recipiente" onde se pode colocar coisas essencialmente exteriores, e que serão imediatamente "interiorizadas, (ROLNIK; GUATARRI, 2010). Esses mesmos autores ainda enfatizam que ao se tratar da subjetividade, pode-se dizer que esta não é passível de totalizada e centralizada no indivíduo, mas que a subjetividade é essencialmente fabricada e modelada no âmbito social. Ou seja, há uma relação entre os próprios indivíduos e os espaços que ocupam.

A partir disso, é possível observar que na mesma proporção em que o sujeito age no espaço, este último também age sobre o primeiro. Sobre isso, Chaveiro (2009) diz:

> [...] que o espaço é, então, um referencial de vida porque torna a existência concreta; e a vida é um componente do espaço porque o devir humano apropria-se do espaço herdado, cria rotas de fluxos, envolve-se com a natureza, acolhe o mundo no lugar, ressignifica a paisagem, coletiviza os símbolos e o transformam num pleito relacional e vivo. (CHAVEIRO, 2009, p 43).

Ao sair do meio rural para morar em um novo território, a subjetividade pode ser entendida, de acordo com Chaveiro (2009), como uma nova realidade que surge e que adquire forma: o humano psicologicamente transformado, quem sabe mesmo modificado pela vida urbana, de qualquer forma produtor dela e produzido por ela, denuncia transformações irreversíveis na vida de todos nós. Este ser humano (ou seria ser urbano?) é o mesmo que transita por qualquer lugar do mundo a multiplicar a mutação urbana subjetiva.

Nesse sentido, mesmo os que não residem no meio urbano também são afetados por este, e os modos de produção e até compreensão da essência humana, em um contexto mais amplo, tem comprometimento, em maior ou menor grau, com o desenvolvimento das cidades. Essa questão da compreensão da essência humana, também está diretamente ligada ao sentimento de pertença que o indivíduo possui em relação a sua moradia, o "ser proprietário"

torna-o autônomo, fazendo com que este tenha voz em mundo capitalista. Isso fica evidente na fala de alguns participanetes (cerca de 23%) que foram atingidos e que com o dinheiro da indenização conseguiram valorizar sua terra/casa, ou até mesmo adquirir nova propriedade e é quase unanime ouvir deles que "*as condições de vida melhoraram bastante, porque antes as terras não eram tão valorizadas, e agora com a água ficou melhor* (Informação verbal, 2012).

Para Peluso (2003), quando esses moradores adotam o modo capitalista de pensar sobre a forma e o conteúdo da "casa" e os processos que a perpassam, eles se reconhecem e reconhece o outro a partir das várias categorias do habitar: proprietário, inquilino ou invasor. A casa, então, se torna uma realidade concreta, material e localizada e é aí que ela se torna tanto uma realidade mental, como também social e espacial porque é nela que se forma o ambiente propício para que os moradores (re)elaborem suas representações sociais. Cabe ainda ressaltar, que ao adquirirem um lugar que possa ser chamado de "seu", os moradores o vêem como uma forma de se libertarem da exclusão a qual já foram submetidos.

4.1 Cultura e lazer: o festar

Nas pesquisas de campo que foram realizadas com proprietários que foram atingidos pela construção da barragem UHE, no ano de 2012 pode-se perceber a presença massiva de festas de santo (Nossa senhora da Abadia, Santo Antônio, Novenas de Natal, Reza de terço,dentre outros) que ocorrem/ocorreram no meio rural e que contam/contaram com a participação expressiva da população, que ainda reside nas fazendas e até mesmo daqueles que tiveram que sair de suas terras para morarem na área urbana de Catalão (GO). Faz parte do hábito cultural dessa população participar de eventos como estes

Os entrevistados residentes na área rural consideram ter uma boa inserção social no local em que vivem e sempre que podem, participam de reuniões, festas, eventos religiosos e esportes como meio de se divertir e de estar em contato com o outro.

Canclini (apud ROSA, 2002) diz que as festas camponesas são caracterizadas como acontecimentos coletivos e que tem sua raiz na vida produtiva, e que geralmente essas celebrações são marcadas de acordo com o ritmo do ciclo agrícola ou o calendário religioso. Já as festas urbanas sofrem influencias das relações extrafamiliares, da indústria do lazer e outros; ou seja, a participação se dá de maneira mais individual, as datas são aleatórias, e quando há cunho religioso este acaba sendo colocado em plano secundário, seguindo a lógica mercantil. Le Goff (1990 apud ROSA, 2002) diz que independente da origem da festa –

camponesa ou urbana - o calendário é objeto essencial na construção cultural, social, além de científico, e que esse, indiretamente, controla o trabalho, o tempo livre e as festas.

Ao mencionar o cenário, Rosa (2002) referirá que ele não é simplesmente uma paisagem, destituída de significados e representações, pois toda cultura transforma a paisagem em espaço, território ou lar. A festa, como forma de lazer, traz em si sentidos e significados diversos, tais como ordem/desordem, diversão/trabalho, segurança/conflito, devoção, convivência, gratuidade e espontaneidade. Nesse sentido, pode-se dizer que a festa acontece em um universo político, sociocultural, econômico e simbólico, e que são memória e tradição de seu povo.

A festa é, portanto, para Rosa (2002), uma prática cultural, espaço para vivencia do lazer, atividade de uma política pública e/ou privada, que, segundo a concepção moderna do lazer, influencia e é influenciada por vários aspectos, como organização e estruturação, e como tal merece estudá-la e considerá-la como dinâmica da cultura, que não é estática.

A partir dessas considerações, pode-se notar que o sentimento de pertença que o indivíduo possui ao local em que vive está intimamente ligado à construção das relações estabelecidas por este. Essas relações estão engendradas pelo valor emocional que atravessam sua terra/casa, amigos e familiares e as tradições festivas e culturais que a perpassam. São nessas relações que o sujeito se (trans)forma e constrói sua subjetividade.

Os modos de viver, e de se deslocar no território da cidade provocam efeitos subjetivos. Além disso, viver em determinado território também configuram laços de sociabilidade, de trocas e modo coletivos e singulares de produção de subjetividade.

Para Foucault (1999 apud SCLISLESKI, 2006), o modo como o ser humano ocupa o espaço modula concomitantemente, fronteiras físicas e subjetivas e pode definir possibilidades da própria experiência, de maneira a configurar modos de viver e reconhecer-se como sujeito nestas experiências.

Com a construção da barragem UHE que atingiu diversas propriedades , mas que mesmo assim fez com que uma grande parte dos proprietários ainda quisessem permanecer no meio rural foi possível identificar alterações sociais ocasionadas por esse processo de mudança, interferindo na subjetividade, na cultura e no lazer pertencentes ao grupo, tais como o afastamento de amigos e vizinhos. Assim como em possíveis prejuízos cognitivos (transtornos depressivos, ansiosos, hiperativos e inadaptação a nova realidade), causados por esse processo de desterritorialização/reterritorialização da população. A partir disso, para que esses sujeitos se reconheçam como autores e atores autônomos nesta experiência é necessária

discussões que gerem a livre reflexão sobre o que de fato esse processo tem influenciado em suas vivencias.

5 Considerações

A partir dos textos estudados acerca do processo de subjetividade, cultura e lazer, desterritorialização/reterritorialização, bem como a metodologia de pesquisa com a utilização de aplicação de roteiros durante o ano de 2012, foi possível entrarmos em contato com uma cultura que sofreu modificações e que continua sofrendo, influenciada pela construção da Usina Hidrelétrica Serra do Facão, e que as percepções dessas mudanças não são unânimes, mas que variam de pessoa para pessoa.

No que diz respeito à expectativa que os moradores tinham, diversos deles (cerca de 55%) disseram que após a construção da usina, a qualidade de vida piorou e que a incidência de roubos e invasões em suas propriedades aumentaram bastante, e com isso pode-se observar o sentimento de perda da tranqüilidade que antes possuíam, bem como maior preocupação com seus bens. Em alguns casos, pode-se averiguar, através da fala da população, grande desgaste emocional, tais como depressão, irritabilidade, estresse, desânimo e falta de perspectiva quanto ao futuro decorrentes da construção da barragem.

Também, em contrapartida, diversos moradores (23%) relataram que sua qualidade de vida melhorou, que foi possível adquirir outros bens com o dinheiro da indenização, embora são todos contraditórios ao afirmarem que não teriam vendido suas terras, caso houvesse a possibilidade, antes da construção da barragem.

Em alguns casos(27%) a população entrevistada disse que sua qualidade de vida não mudou em nada depois da construção da barragem.

Nesse sentido, podemos observar que cada pessoa vivencia de maneira completamente diferente da outra a mesma situação e que isso faz parte de um processo de construção da própria subjetividade do individuo. Subjetividade essa que perpassa os limites territoriais, históricos e sociais, mas que é passível de mudanças, e de transformações através do contato.

No que tange a questões ligadas ao lazer, verificou-se que 30% moradores ainda mantêm as tradições ligadas a festas de roça e de santos, apesar da diminuição gradativa que vem ocorrendo das mesmas, e também do uso dos afluentes do rio são marcos para a pesca

REFERÊNCIAS

BATALHA, C. H. M; DA SILVA, F. T; FORTES, A. (Org.). **Cultura de classes**: identidade e diversidade na formação do operariado. Campinas: UNICAMP, 2004. 440 p.

CAMPOS, L. F. L. **Métodos e técnicas de pesquisa em psicologia**. 3. ed. Campinas, SP: Editora Alínea, 2004. 158 p.

CARDOSO DE OLIVEIRA, R. **Caminhos da identidade**: ensaios sobre etnicidade e multiculturalismo. São Paulo: UNESP, 2006. 285 p.

CORRÊA, R. L; ROSENDAHL, Z. (Org.). **Introdução à geografia cultural**. 3. ed. Rio de Janeiro: Bertrand, 2010.226 p.

DUMAZEDIER, J. **Lazer e cultura Popular**. 3. ed. São Paulo: Perspectiva S.A, 2004. 333p.

GUATTARI, F; ROLNIK, S. **Micropolítica**: cartografias do desejo. 10. ed. Petrópolis, RJ: Vozes, 2010. 439 p.

HALL, S. **A identidade cultural na pós- modernidade**. 11. ed. Tradução de Tomaz Tadeu da Silva; Guaracira Lopes Louro. Rio de Janeiro: DP&A, 2006. 104 p.

MENDES, E. de P. P.; FERREIRA, I. M. (Org.). **Monitoramento da qualidade de vida da população remanejada pela formação do Reservatório da UHE Serra do Facão**. 2010. 9 f. Relatório (Relatório parcial das atividades desenvolvidas no período de agosto/2009 a abril/2010) – Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão. 2010.

MENDES, E. de P. P.; FERREIRA, I. M. (Org.). **Monitoramento da qualidade de vida da população remanejada pela formação do Reservatório da UHE Serra do Facão**. 2011. 71 f. Relatório (relatório parcial das atividades desenvolvidas no período abril/2010 a outubro /2011)–Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão. 2011.

MENDES, E. de P. P.; FERREIRA, I. M. (Org.). **Monitoramento da qualidade de vida da população remanejada pela formação do Reservatório da UHE Serra do Facão. 2012**. 208 f. Relatório (relatório parcial das atividades desenvolvidas no período abril/2010 a dezembro/2011) – Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão. 2012.

PELUSO, M. L. **O potencial das representações sociais para a compreensão interdisciplinar da realidade**: Geografia e Psicologia Ambiental. Universidade de Brasília, DF. Estudos de Psicologia, 2003.

ROSA, M.C; PIMENTEL, G. G. A; QUEIRÓS. I. L. V. B. G.(Org.). **Festa, Lazer e Cultura.** Campinas, São Paulo: Papirus, 2002. –(Coleção Fazer/Lazer).

SCISLESKI, A.C. C; MARASCHIN, C; TITTONI, J. (Org.). **A Psicologia Social e o Trabalho em Comunidades**: limites e possibilidades. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Revista Interamericana de Psicologia, 2006.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE ENFERMAGEM

"COMMUNITY BASEAD PARTICIPATORY RESEARCH": CONCEITO, MÉTODO E SUA UTILIZAÇÃO NA ENFERMAGEM.

Autores: Denize Bouttelet Munari[1]
Lara Gomes Rêgo[2]
Bárbara Souza Rocha[3]
Myriam Karla Ayres Veronez Peixoto[4]
Luana Cassia Miranda Ribeiro[5]

RESUMO

Revisão integrativa da literatura com o objetivo de caracterizar o uso da *"Community Basead Participatory Research"* como método de pesquisa na área da enfermagem. A coleta de dados aconteceu durante os meses de Janeiro à Abril de 2013, no banco de dados PubMed a partir dos MESHs: *"Community Basead Participatory Research"* e "Nursing" tendo como critérios de inclusão: artigos originais na integra via *on-line* escritos nos idiomas Português, Inglês Espanhol Ao todo foram encontrados 68 artigos, destes 15 artigos compuseram compuseram a amostra da pesquisa, sendo que ano de 2010 houveram nove publicações (60%), seguido de 2011 com cinco artigos publicados (33,33%) e 2009 com um artigo(6,66%), não havendo nenhuma publicação indexada nos anos entre 2003 e 2008. Desta forma, Foi possível perceber que na enfermagem, a CBPR é utilizada como uma aliada em saúde baseada na troca de informações entre pesquisador e pesquisado, para uma intervenção focada nas carências de cada comunidade em específico, fazendo com que esta seja mais significativa. Sendo a Enfermagem a profissão que presta serviços à pessoa, família e coletividade, no seu contexto e circunstâncias de vida. O enfermeiro deve se apropriar desse método afim de extrair melhores condições de envolvimento com a comunidade, assim, o profissional será capaz de aprimorar seus conhecimentos e competências envolvendo-se e envolvendo a comunidade no processo de programação e planejamento das estratégias em saúde.

Palavras-chave: "Community Basead Participatory Research", "Nursing".

Revisado pelo orientador – Denize Bouttelet Munari

1.Enfermeira. Doutora em Enfermagem pela Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (EERP-USP). Professora Titular FEN-UFG. Endereço eletrônico: boutteletmunari@gmail.com
2. Acadêmica de Enfermagem pela FEN-UFG. Endereço eletrônico: gore21ljo@gmail.com
3. Enfermeira. Doutoranda em Enfermagem pela Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás (FEN-UFG). Professora Assistente FEN-UFG. Endereço eletrônico: barbarasrocha@hotmail.com
4. Enfermeira. Doutoranda em Enfermagem pela FEN-UFG. Professora Assistente na Faculdade de Mato Grosso – UFMT. Endereço eletrônico: myrianveronez@yahoo.com.br
5. Enfermeira. Doutoranda em Enfermagem pela FEN-UFG. Endereço eletrônico: luaufg@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A compreensão dos diversos fatores que dificultam a manutenção da saúde, como os ambientais, sociais, econômicos e físicos, ligados à questão da saúde contribuem para novas abordagens voltadas ao pesquisador e a comunidade, buscando a participação de ambas as partes. Havendo assim, uma parceria participativa entre pesquisador e comunidade, em prol da promoção da saúde (LEVINE ET AL., 1994; BROWN E TANDON 1983). para tal, as metodologias de pesquisa tem que atender a nova demanda com objetivo de transformação, buscando preencher a lacuna entre a ciência e a prática por meio do engajamento da comunidade na ação social e incorporando teorias da comunidade na pesquisa (MINKLER & WALLERSTEIN, 2008).

Uma das possibilidades de realizar pesquisa a partir dessa abordagem é por meio da *"Community-Based Participatory Research"* (CBPR), definida como uma intervenção aliada a participação das pessoas afetadas por um problema com a finalidade de educação e ação para efetuar mudança (GREEN, GEORGE, DANIEL, et al., 1995). A Agência de Investigação de Saúde e Qualidade em 2004 também conceituou a CBPR como uma abordagem que incorpora as estruturas formais para garantir a participação da comunidade (VISWANATHAN, AMMERMAN, et al.,2004). Focando nas disparidades, a Fundação *Kellogg Community Health Scholars* gerou um programa afirmando que a CBPR equitativamente envolve parceiros com um tema de pesquisa com importância na comunidade tendo o objetivo de combinar conhecimento e ação para melhorar a saúde da comunidade e eliminar as desigualdades (MINKLER & WALLERSTEIN, 2008).

Muitos autores do estudo CBPR notaram como o envolvimento da comunidade na análise dos dados, em particular, contribuiu para o crescimento pessoal e profissional da equipe de pesquisa (CASHMAN, ADEKY, ET AL, 2008; FARQUHAR ET AL, 2008; JACKSON, 2008; SAVAGE ET AL, 2006; FOSTER, ET AL, 2012).

A Enfermagem sendo a profissão que tem por finalidade o cuidar do indivíduo família e comunidade, acaba por ser um dos ingredientes mais importantes deste processo. O enfermeiro aliado à saúde pública trabalha na comunidade prestando serviços orientados na participação, expandindo as capacidades da comunidade juntamente com investigadores acadêmicos de um ou mais disciplinas e líderes comunitários (BÖRNER ET AL., 2010; KEGLER ET AL., 2008 ; LI ET AL., 2012).

Este estudo justifica-se pela necessidade em conhecer e caracterizar como a *"Community Basead Participatory Research"* vem sendo desenvolvida na área de enfermagem, tendo em vista que tal procedimento constitui-se em importante estratégia para o planejamento e implementação de mudanças no contexto da saúde. Além disso, se faz necessário entender como a enfermagem no âmbito da Atenção em Saúde e na atualidade vem produzindo e divulgando pesquisas utilizando a *"Community Basead Participatory Research"*.

Com o intuito de caracterizar a utilização da CBPR como método de pesquisa na enfermagem, esse estudo se torna importante, pois permitirá a identificação de lacunas do conhecimento sobre a utilização da CBPR na enfermagem, o que vai possibilitar o direcionamento para futuras pesquisas e a identificação da ligação desse método com as áreas afins dentro da enfermagem.

OBJETIVO

Caracterizar o uso da *"Community Basead Participatory Research"* como método de pesquisa na área da enfermagem.

METODOLOGIA

Estudo do tipo revisão integrativa de literatura sobre artigos que utilizam a *"Community Basead Participatory Research"* como metodologia de estudo. Esse tipo de revisão tem por finalidade reunir e sintetizar resultados de pesquisas sobre um tema de maneira sistemática e ordenada, construindo estudos aprofundados capazes de direcionar a prática e o saber crítico (MENDES, SILVEIRA e GALVÃO, 2008; SOUZA, 2010).

Essa revisão integrativa foi desenvolvida seguindo as etapas de identificação do tema e seleção da questão de pesquisa; estabelecimento de critérios para inclusão de estudos; categorização dos estudos; avaliação dos estudos incluídos; interpretação dos resultados, e apresentação da revisão/síntese do conhecimento (MENDES, 2008; SOUZA, 2010).

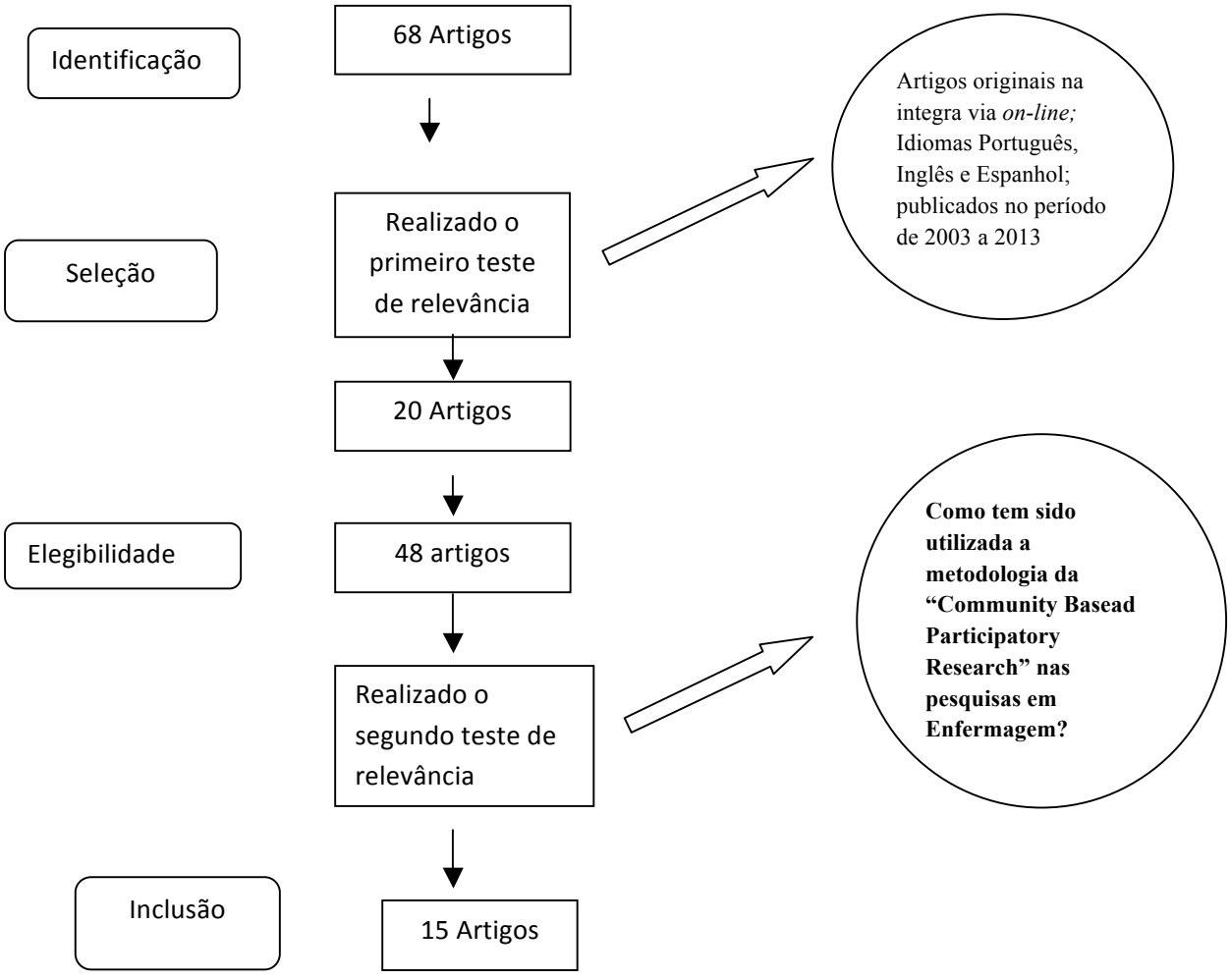
Revisado pelo orientador – Denize Bouttelet Munari

Para orientar o estudo foi utilizada como pergunta norteadora a seguinte questão: ***Como tem sido utilizada a "Community Basead Participatory Research" como metodologia aplicada às pesquisas em enfermagem?***

A busca foi realizada na base de dados PubMed, tendo como critérios de inclusão: artigos originais na integra via *on-line* escritos nos idiomas Português, Inglês e Espanhol; publicação no período de 2003 a 2013 e estudos que utilizaram a *"Community Basead Participatory Research"* como método de pesquisa e que estejam direcionados para área de Enfermagem.

O período de realização da busca se deu nos meses de Janeiro a Abril de 2013, orientada pelos MeSH *"Community Basead Participatory Research"* e *"Nursing''*, fazendo o cruzamento dos termos entre si, de forma a contemplar o maior número de artigos que abordem a temática. Ao todo foram encontrados 68 artigos, após à aplicação dos critérios de inclusão fizeram parte da amostra 15 artigos *(figura 1)*.

Figura 1: Fluxograma de seleção dos artigos utilizados no estudo, Goiânia, 2013.



A análise dos dados foi iniciada pela leitura dos resumos, selecionando os trabalhos e obedecendo aos critérios de inclusão previamente determinados. Nos trabalhos pré-selecionados foi realizada a leitura dos artigos, com intuito de responder a questão norteadora da pesquisa. Nos trabalhos que se mostraram aptos a compor a amostra do estudo foi feita uma leitura exaustiva seguida da extração dos dados por meio do preenchimento do protocolo com as seguintes informações: autores, título, ano de publicação, país de origem do manuscrito, periódico, objetivo do estudo, metodologia aplicada, resultados alcançados e conclusão dos estudos.

Após a extração dos dados foi elaborado um quadro sinóptico *(quadro 1)* com as informações do protocolo e em seguida procedeu-se a análise descritiva dos dados encontrados seguida da interpretação e apresentação da síntese do conteúdo obtida da revisão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 68 artigos selecionados na base de dados PUBMED utilizando os MESHs *"Community Basead Participatory Research"* e *"Nursing'',* aplicado os critérios de inclusão e exclusão a maioria dos artigos foi excluída por não apresentarem disponibilidade na íntegra via *on-line* e ainda por não se tratarem de artigos originais. Dessa seleção foram incluídos na amostra 15 artigos, que atenderam a todos os critérios de elegibilidade.

Caracterização dos estudos

Os 15 artigos científicos incluídos no estudo foram apresentados no *quadro 1* abaixo, destacando o ano, país de origem do artigo, periódico de publicação e ainda dados conceituais como título, objetivo, metodologia e resultados relevantes. Diante dos dados identificou-se que o ano de 2010 houveram nove (60%) publicações, seguido de 2011 com cinco (33,33%%) artigos publicados e 2009 com um (6,66%) artigo. Os anos entre 2003 e 2008 nenhuma publicação foi indexada.

Em relação aos periódicos de publicação verificou-se que as revistas: "*Public Health Nursing"e Journal of Nursing Management"* tiveram dois (13,33%) artigos publicados cada uma e as demais revistas tiveram um (6,66%) artigo cada uma.

Quadro 1: Quadro síntese dos artigos incluídos na revisão integrativa segundo autor, ano, periódico, país de origem, título, objetivo, metodologia e resultados, Goiânia, 2013.

Autor/ano/país/periódico	Título	Objetivo	Metodologia	Resultados
Henderson J.; Curren D.; Walter B.; Toffolib L.; O'Kaneb D.; (2011) Australia *Nursing Inquiry*	Relocating care: negotiating nursing skillmix in a mental health unit for older adults.	Explorar o impacto da reestruturação da força de trabalho e movimento em direção à flexibilidade e polivalência dos funcionários através das experiências da equipe de enfermagem em uma unidade de saúde mental de adultos mais velhos que se mudou recentemente de um hospital psiquiátrico de longa permanência para um hospital geral.	Pesquisa-ação em duas fases: fase de identificação e fase de *feedback* para futuras ações. A pesquisa aconteceu através da realização de 4 grupos focais e 2 entrevistas com 18 enfermeiros do serviço.	Os dados fornecem um instantâneo das percepções dos enfermeiros de circunstâncias na unidade pesquisada.
Alexander I. M.; (2010) *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners.*	Emancipatory Actions Displayed by Multi-Ethnic Women: "Regaining Control of My Health Care"	Descrever qualquer interesse emancipatório que surgiram quando oito mulheres de diversas etnias examinaram suas interações com os profissionais de cuidados primários de enfermagem.	Ação participativa baseada na Teoria da Ação	Em última análise, eles identificaram o "caminho certo" para "falar de volta" para indiferentes clínicos.
Belknap R. A.; Vusse L. V.; (2010) EUA *Public Health Nursing*	Listening Sessions With Latinas: Documenting Life Contexts and Creating Connections	Desenvolver uma compreensão contextual da vida de mulheres imigrantes para informar o desenvolvimento do programa e, finalmente, atender melhor as necessidades da comunidade para serviços de violência doméstica.	Descritivo exploratório usando a *"Community Based Participatory research* através de questionários e grupos de escuta. Ao todo foram realizados 7 grupo de escuta para 63 participantes.	A facilidade com que mulheres compartilharam o conhecimento dos recursos e ofereceu apoio emocional para o outro durante as sessões de escuta apoia a sua utilização por enfermeiras de saúde pública nas comunidades para levantamento de necessidades, educação.
Garwick A. W.; Seppelt A.; Riesgraf M.; (2010) EUA *Public Health Nursing*	Addressing Asthma Management Challenges in a Multisite, Urban Head Start	Desenvolver um plano de ação com base nos desafios no manejo da asma identificados por professores estudiosos da área em um programa variado.	*"* envolveu duas fases sequenciais: (1) a avaliação das necessidades e (2). desenvolvimento de plano de ação. Utilizou-se pra a primeira fase grupo focal com duração de 1h e meia com professores.	O processo PAR transformou as questões nas estratégias do plano de ação para melhorar o atendimento para pré-escolares com asma neste programa.

	Program			
Haozous E. A.; Eschiti V.; Lauderdale J.; Hill C.; Amos C.; (2010) EUA *Journal of Transcultural Nursing*	Use of the Talking Circle for Comanche Women's Breast Health Education	Descrever as crenças da relação saúde-doença e as barreiras para a saúde da mama para um grupo mulheres da tribo Comanche.	Estudo exploratório descritivo, qualitativo guiado pela *"Community Based Participatory research"* realizado com 7 CHR – Representantes de Saúde da Comunidade através de círculos de conversa com duração de 3h.	Este estudo forneceu insights sobre barreiras à saúde da mama para as mulheres da tribo Comanche a partir dos CHR, além de contribuem para o conhecimento cultural de enfermeiros.
Bakker D.; Butler L.; Fitch M.; Green E.; Olson K.; Cummings G.; (2010) Canadá *Journal of Nursing Management.*	Canadian cancer nurses' views on recruitment and retention	Descrever a percepção de enfermeiras oncológicas sobre recrutamento e retenção, e estratégias de trabalho que poderia fortalecer ambientes de prática da oncologia.	Pesquisa qualitativa usando a *"Participatory action research"* através de 12 grupos focais com duração de 2h e meia, com 91 enfermeiras oncológicas durante 6 meses.	A escolha do método possibilitou aumentar a compreensão do tema (recrutamento e retenção) do ponto de vista das partes interessadas (os enfermeiros de câncer).
Mahone I. H.; (2011) EUA *Archives of Psychiatric Nursing.*	Shared Decision Making in Mental Health Treatment: Qualitative Findings From Stakeholder Focus Groups	Relatar os resultados de sete grupos focais realizados interessados em explorar a tomada de decisão compartilhada entre provisão e consumo no tratamento em saúde mental pública.	*"Participatory-action research"* realizada através de 7 diferentes grupos focais com os membros da família, psiquiatras e enfermeiros psiquiátricos, e outros prestadores, a equipe clínica rural, e três grupos de consumidores.	Esse tipo de pesquisa rendeu diferentes informações valiosas no planejamento para a implementação desta abordagem em saúde mental pública. A metodologia de grupo focal é geralmente eficaz para explorar novos conceitos.
I-Chuan Li.; Yu-Chi Chen.; Ling-ling Hsu.; Chih-hsuan Lin.; Noel J Chrisman.; (2011) China. *Journal of Advanced Nursing*	The effects of an educational training workshop for community leaders on self-efficacy of program planning skills and partnerships.	Avaliar os efeitos de uma oficina pedagógica de 6 meses para os líderes comunitários destinados a capacitá-los a participar ativamente nos programas de promoção da saúde, melhorando a sua confiança nestes programas e reforçar as parcerias do grupo.	*"Participatory action research"* realizada com 15 líderes comunitários através de pré-e pós-teste, questionários de performance e ainda observação e gravação dos encontros nos 6 meses de *workshop* educativo.	Com a participação no *workshop*, a avaliação dos líderes da comunidade, o planejamento e as habilidades de avaliação foram reforçadas significativamente.
Pierre-Louis B.; Akoh V.; White P.; Pharris M. D.; (2011) *Nursing Science Quarterly*	Patterns in the Lives of African American Women with Diabetes.	Compreender a experiência de mulheres afro-americanas que vivem com diabetes, e vislumbrar novos padrões de saúde, envolvendo as mulheres no diálogo sobre o significado de suas experiências.	Realizou-se um *"community-based collaborative action research"* com mulheres afro-americadas, através de entrevistas de 45'a 3h construiu-se uma narrativa apresentada ao grupo de mulheres coma produção de um DVD: Vier a Vida Doce.	Esse tipo de pesquisa produz insights que são únicos, envolvendo membros da comunidade na construção de significado dos achados do estudo descobrindo caminhos para a transformação da comunidade de saúde. Quando as necessidades específicas de uma comunidade são completamente compreendidos, as condições podem ser

Revisado pelo orientador – Denize Bouttelet Munari

				tratadas em função dessas necessidades, reduzindo, assim, a prevalência e sequelas graves.
Jones K.; Griffiths L.; (2011) Inglaterra *Journal of Nursing Management*	Back to the floor Friday: evaluation of the impact on the patient experience	Avaliar a iniciativa *"back to the floor Friday"*, em particular o seu impacto na melhoria da prática com o paciente e na assistência ao paciente.	*"Participatory action research"* realizada com 20 funcionários multi-profissional; 9 terapeutas, 45 enfermeiros, 1 enfermeiro especialista e 4 pacientes. A coleta de dados se deu em 3 ciclos utilizando grupo focal e entrevistas.	O uso da PAR possibilitou um ímpeto mais abrangente para a pesquisa no sentido de melhorar a prática profissional e melhorar a prestação de serviços com a inclusão dos participantes no desenho do estudo e na implementação.
Springer P. J.; Black M.; Martz K.; Deckys C.; Soelberg T.; (2010) - EUA *Advances in Nursing Science*	Somali Bantu Refugees in Southwest Idaho Assessment Using Participatory Research	O objetivo desta pesquisa foi completar uma avaliação comunitária e cultural de refugiados da Somalia Bantu no sudoeste Idaho que incidiu sobre as suas necessidades de saúde.	Encontros informais com a comunidade e entrevistas formais com os membros da comunidade, voluntários que servem a comunidade e profissionais de saúde. As questões formais da entrevista foram desenvolvidos pela equipe de pesquisa e testadas com os membros do conselho consultivo da Somália Bantu. Ocorreram um total de 13 encontros informais com duração de 1 a 3 horas por visita. Um total de 22 entrevistas foram conduzidas, 12 membros da comunidade, 5 profissionais de saúde e 5 voluntários foram entrevistados.	Durante 18 meses pesquisadores, usando a CBPR com técnicas descritivas qualitativas conseguiram interagir com a comunidade e explorar as diversas perspectivas da pesquisa. A CBPR permitiu aos pesquisadores expandir e aprofundar áreas apontadas pela comunidade como sendo as mais importantes. Identificou-se um alto grau de vulnerabilidade e um risco considerável de disparidades em saúde.
Fredland N. M.; (2010) – EUA *J Community Health Nurs.*	Nurturing Healthy Relationships through a Community-based Interactive Theater Program	O objetivo do presente estudo é a promoção de relações saudáveis e prevenção de comportamentos não saudáveis, como o assédio moral, assédio sexual e namoros violentos entre adolescentes jovens.	"Community-based participatory research" utilizou-se a interatividade do teatro para distribuir mensagens saudáveis para alunos da 7ª série do sistema publico de educação. O programa foi desenvolvido em três performances consecutivas e um dia de acompanhamento. As fases do estudo consistem em levantamento de necessidades dos participantes, planejamento da ação e execução da atividade.	As lições aprendidas com essa intervenção foram utilizadas para promover pesquisas para ajudar outras comunidades com ferramentas de aproximação criativas.
Froelicher E. S.; Doolan D.; Yerger V. B.; McGruder	Combining community participatory	Este artigo descreve o processo e os resultados da intervenção de um ensaio clínico randomizado na	O grupo – IAM foi submetido a atividades de educação, aconselhamento, intervenção	A proporção dos que pararam de fumar no GC e no grupo IAM foram 11,5% e 13,6% em 6 meses e de 5,3% e 15,8%

C. O.; Malone R. E.; (2010) - Califórnia. *Heart and Lung*	research with a randomized clinical trial: The protecting the hood against tobacco (PHAT) smoking cessation study	cessação do fumo que foi conduzido como um projeto de "Community based participatory research".	comportamental focada na recaída e planejamento da situação. O IAM recebeu uma intervenção desenvolvida sob medida juntamente com eles e para eles, além de sessões pré encontro e sessões de grupo. Além disso o IAM tinha um serviço de suporte para recaída via telefone.	em 12 meses, respectivamente. Trabalhou-se com um grupo controle CG e com o grupo que submetido a mesma intervenção para sessação do tabaco acrescido de informações e assessorias focadas na recaída (IAM).
Stickley T.; Stacey G.; Pollock K.; Smith A.; Betinis J.; Fairbank S.; (2010) – Inglaterra. *Nurse Education today*	The practice assessment of student nurses by people who use mental health services.	Este artigo apresenta um projeto de *"Participatory action research"* com foco no envolvimento do usuário do serviço na avaliação de estudantes de enfermagem em saúde mental na prática.	A pesquisa foi realizada através de várias técnicas de coleta de dados qualitativos tais como: grupo focal, intervenções individuais com usuários do serviço, enfermeiros formados e estudantes de enfermagem e diários de pesquisa alimentados por membros do time de pesquisadores.	A avaliação de estudantes de enfermagem de saúde mental realizado por usuários do serviços é tão desafiador e aumenta ainda mais complicações para educadores; além do sentimento de impotência pelos estudantes sentidas na prática. Iniciativas educacionais devem ajudar os estudantes a se sentir competente e aumentar sua confiança
Austin W.; et. al.; (2009) – Canadá *Journal of Family Nursing*	Supporting Relationships Between Family and Staff in Continuing Care Settings	(a) explorar a formação e manutenção do relacionamento família-profissionais, prestando particular atenção aos elementos relacionais de engajamento e respeito mútuo, (b) explorar famílias e profissionais na perspectivas de apoio ambiental e restrições para relacionamentos verdadeiros, e (c) identificar formas práticas para apoiar e reforçar essas relações.	Formou-se grupos de trabalho com dois familiares, dois auxiliares da equipe de saúde, três profissionais regulares e um gerente. Realizou-se 4 reuniões por ano utilizou-se a estratégia de grupo focal com desenvolvimento de recomendações em resposta aos dados da pesquisa.	"Participatory action research" (PAR) considerando a dimensão moral e social dos relacionamentos no cuidado contínuo. Promovendo a oportunidade de ambos familiares e profissionais de saúde expressar suas expectativas e preocupações sobre o relacionamento entre eles.

Revisado pelo orientador – Denize Bouttelet Munari

Síntese da Revisão

Para Costa, (2005), os conceitos de comunidade devem ser abordados de forma mais ampla, visto que nos dias de hoje, com a internet, o indivíduo pode estar envolvido em um processo comunitário sem necessariamente dividir o mesmo espaço físico. Sendo assim, entende-se por comunidade, o conjunto de pessoas com interesses mútuos que se organizam dentro de um conjunto de normas, estando de certa forma ligados devido as relações interpessoais (COSTA, 2005).

Os artigos nos mostra a utilização eficaz da CBPR em diferentes comunidades sejam elas, comunidades com necessidades de saúde, profissionais sedentos por formação, comunidades carentes de informações que necessita de cuidados individuas e/ou coletivos, , em comunidades de imigrantes carentes de engajamento cultural, em comunidades de estudantes de enfermagem, indígenas, dentre outras.

A maior parte dos estudos está concentrada no desenvolvimento de pesquisas voltadas para a comunidade em geral, tendo destaque o envolvimento de pesquisas voltadas para a saúde da mulher, seja ela africana, indígena, imigrante ou com doenças crônicas (PIERRE-LOUIS B., AKOH V., WHITE P., PHARRIS M. D., 2011). Alguns estudoS também abordaram as questões relacionadas a saúde mental tanto na perspectiva gerencial quanto na decisão medicamentosa (MAHONE I. H., 2011). Também tiveram estudos que apontaram a CBPR como um método importante para realização de trabalho com jovens (FREDLAND N. M., 2010) e líderes comunitários. Merece destaque as pesquisas realizadas com o intuito de melhorar a gestão institucional partindo da visão de enfermeiros e profissionais de saúde que trabalham e vivem as dificuldades do dia a dia de hospital e unidades de saúde (JONES K.; GRIFFITHS L., 2011). Um estudo em particular tratou da perspectiva do estudante para melhorar processos avaliativos na prática do estágio (STICKLEY T., STACEY G., POLLOCK K., SMITH A., BETINIS J., FAIRBANK S., 2010).

Verificou-se que existe uma diversidade de formas de utilizar os princípios da CBPR, sendo esta organizada para construir forças e recursos dentro da comunidade para apoiar as capacidades de seus membros a fim de melhorar a saúde por meio de trabalho conjunto. O importante é entender que CBPR traz o conhecimento necessário para capacitar o indivíduo e a comunidade em que esta inserido de acordo com suas necessidades sendo este pesquisador ou pesquisado (FLYNN ET AL. 1992 , FEINBERG ET AL., 2008).

Sendo a Enfermagem a área que compreende um componente próprio de conhecimentos científicos e técnicos, construído e reproduzido por um conjunto de práticas sociais, éticas e políticas que se processa pelo ensino, pesquisa e assistência. Realizada na

prestação de serviços à pessoa, família e coletividade, no seu contexto e circunstâncias de vida.

O profissional enfermeiro a partir do uso desse tipo de abordagem será capaz de aprimorar seus conhecimentos e competências envolvendo-se e envolvendo a comunidade no processo de programação e de planejamento favorecendo a possibilidade de haver parceria efetiva entre as partes participantes do processo.

Como forma de ligação entre enfermagem e coletividade a CBPR confere um ótimo aliado para que se possa intervir, implementar , detectar as lacunas da assistência, resolver problemáticas, capacitar pessoal, em fim, todas as áreas em que se possa aprender/ trocar conhecimento. É possível identificar a aplicabilidade da CBPR na enfermagem com esse objetivo e finalidade, sendo esse método capaz de inspirar novas pesquisas e programas que tem poder de intervir na assistência. Sendo assim, CBPR e a enfermagem dividem o mesmo objetivo, que é trabalhar com a comunidade (consequentemente atingir o indivíduo) com finalidade de produzir conhecimentos contribuindo para amenizar as carências especificas de cada comunidade em questão.

CONCLUSÕES

A CBPR tem sido usada na enfermagem como intervenção que promove educação em saúde entre pesquisador e pesquisado, suprindo as carências identificadas nas comunidades estudadas e trazendo novos conhecimentos para os que a estudam, tendo comprometimento com a manutenção da qualidade de vida.

Foi observado que esse método auxilia o enfermeiro na promoção da saúde, aprimora os processos de educação permanente e fortalece a prática clínica. Esta ação transformadora é feita através de momentos de compartilhamento mútuo onde o pesquisador identifica os pontos em que se deve intervir e executa em conjunto com o público participante seu plano de ação almejando a devolução dos efeitos para a comunidade envolvida.

REFERÊNCIAS

1. BROWN LD and TANDON R. Ideology and political economyininquiry. Action research and participatory research. **The Journal of Applied Behavioral Science**. 1983; 19: 277–94.

Revisado pelo orientador – Denize Bouttelet Munari

2. CASHMAN SB, ADEKY S, ALLEN AJ, CORBURN J, ISRAEL BA, MONTAÑO J, *et al*. The power and the promise: Working with communities to analyze data, interpret findings, and get to outcomes. **American Journal of Public Health**, 98, 1407–1417. DOI: 10.2105/ AJPH.2007.113571(2008).

3. COSTA R. On a new community concept: social networks, personal communities, collective intelligence. **Interface -Comunic., Saúde, Educ**., v.9, n.17, p.235-48, mar/ago (2005).

4. FARQUHAR SA, WIGGINS N, MICHAEL YL, LUHR G, JORDAN J, LOPEZ A. ‘‘Sitting in different chairs’’: Roles of the community health workers in the Poder es Salud/Power for Health Project. **Education for Health**, 21(2), 39 (2008).

5. FEINBERG ME, GOMEZ BJ, PUDDY RW AND GREENBERG MT. Evaluation and community prevention coalitions: validation of an integrated web-based/technical assistance consultant model. **Health Education & Behavior** 35, 9–21(2008)

6. FLYNN BC, RIDER MS AND BAILEY WW. Developing community leadership in healthy cities: the Indiana model. **Nursing Outlook** 40(3), 121–126 (1992).

7. FOSTER JW, CHIANG F, BURGOS RI, CACERES RE, TEJADA CM, ALMONTE AT, *et al*. Community-Based Participatory Research and the Challenges of Qualitative Analysis Enacted by Lay, Nurse, and Academic Researchers. **Research in Nursing & Health**, 35, 550–559 (2012).

8. GREEN LW, GEORGE MA, DANIEL M, et al. Study of Participatory Research in Health Promotion: Review and Recommendations for the Development of Participatory Research in Health Promotion in Canada. Vancouver, British Columbia: Royal Society of Canada; 1995:4.

9. IRVINE F. Examining the correspondence of theoretical and real interpretations of health promotion. **Journal of Clinical Nursing** 16, 593–602 (2007).

10. JACKSON SF. A participatory group process to analyze qualitative data. **Progress in Community Health Partnerships**, 2, 161–170 (2008).

11. KEGLER MC, NORTON BL, ARONSON R. Strengthening community leadership: evaluation findings from the California health cities and communities programs. **Health Promotion Practice** 9(2), 170–179 (2008)

12. LEVINE DM, BECKER DM, BONE LR et al. Community ±Academic health center partnerships for underserved minority populations-Journal of the American Medical Association, 272, 309 ±311(1994).

13. LI IC, CHEN IC, YC, HSU LL, LIN CH and CHRISMAN NJ. The effects of an educational training workshop for community leaders on self-efficacy of program planning skills and partnerships. **Journal of Advanced Nursing** 68(3), 600-613. doi: 10.1111/j.1365-2648.2011.05767.x (2012)

14. LI IC and CHEN YC. Demonstrative Healthy City in Taipei – County Tamsui Township BHP Taiwan. Department of Health, Taiwan, ROC (2006).

15. MENDES KDS, SILVEIRA RCCP, GALVÃO CM. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto Contexto Enferm**. v.17, n.4, p.758-64. Florianópolis, Out-Dez, 2008.

16. MINKLER M, WALLERSTEIN N. Community Based Participatory Research for Health: Process to Outcomes. 2nd ed. San Francisco, CA: Jossey Bass (2008).

17. SAVAGE CL, XU Y, LEE R, ROSE BL, KAPPESSER M, AND ANTHONY JS. A case study in the use of community-based participatory research in public health nursing. **Public Health Nursing,** 23, 472–478. DOI: 10.1111/j.1525- 1446.2006.00585.x (2006).

18. SOUZA MT, SILVA MD, CARVALHO R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein.** v.8, n.1Pt 1, p.102-6. 2010.

19. VISWANATHAN M, AMMERMAN A, ENG E, et al. Community-Based Participatory Research: Assessing the Evidence. Rockville, MD: Agency for Health Care Research and Quality (2004).

20. MAHONE IH, FARRELL S, HINTON I, JOHNSON R, MOODY D, RIFKIN K, *et al*. Shared Decision Making in Mental Health Treatment: Qualitative Findings From Stakeholder Focus Groups. **Archives of Psychiatric Nursing**, Vol. 25, No. 6 (December), 2011: pp e27–e36.

Revisado pelo orientador – Denize Bouttelet Munari

21. PIERRE-LOUIS B, AKOH V, WHITE P, PHARRIS MD. Patterns in the Lives of African American Women with Diabetes. **Nursing Science Quarterly**, 2011; 24(3) 227– 236.

22. JONES K and GRIFFITHS I. Back to the floor Friday: evaluation of the impact on the patient Experience. **Journal of Nursing Management**, 2011; 19, 170–176.

23. FREDLAND N. M. Nurturing Healthy Relationships through a Community-based Interactive Theater Program. **J Community Health Nurs**. 2010 April ; 27(2): 107–118.

24. STICKLEY T, STACEY G, POLLOCK K, SMITH A, BETINIS J, FAIRBANK S.The practice assessment of student nurses by people who use mental health services. **Nurse Education Today** 30 (2010) 20–25.

Avaliação da atividade antiproliferativa sobre células de melanoma humano em cultura de Silibinina.

Larissa Cardoso Zanetti[1], Lidia Andreu Guillo[2], Lee Chen Chen[3], Clever Gomes Cardoso [4]

1- Orientanda, 2- Colaborador, 3- Colaborador, 4- Orientador

Instituto de Ciências Biológicas (ICB), UFG, 74001-970, Brasil

e-mail: larizanetti@hotmail.com, clevergomes@gmail.com, lidia.guillo@gmail.com

Resumo

O melanoma tem se tornado um grande problema de saúde pública, devido ao aumento de sua incidência. O tratamento do melanoma ainda é pouco efetivo devido á resistência dos melanócitos, células que originam esse tipo de câncer, à radiação e quimioterapia atuais. Esses fatores levantam à necessidade de buscar de novos compostos, menos tóxicos e mais efetivos contra esse tipo de célula cancerosa. Nesse aspecto, os produtos naturais têm configurado como enorme fonte de compostos com atividades terapêuticas e antiproliferativa e anticancerígena. No presente estudo investigamos o potencial antiproliferativo e apoptótico *in vitro,* dos compostos silibinina e sobre células de melanoma humano. A silibinina ($C_{25}H_{22}O_{11}$), um flavonoide derivado da planta medicinal *Silybum marianum* (L.) Gaertn., possui atividade hepatoprotetora, anticancerígena e quimiopreservativa, e ação demonstrada em diferentes modelos celulares de câncer. Contudo, poucos estudos sobre a ação da silibilina em células de melamona humano estão disponíveis. A citotoxicidade *in vitro* foi avaliada por meio da exposição de células de melanoma em cultura a diferentes concentrações da solução 41, 104, 207 e 518µM por 48h utilizando, utilizando o teste de MTT para avaliar a viabilidade celular. Em análise inicial foi observada atividade antiproliferativa da silibinina contra a linhagem de células de melanoma humano SK MEL 37 com IC_{50} de 240 uM. A observação por microscopia de campo claro indicou a perda de aderência das células ao substrato, aspecto característico de morte celular por apoptose, nas diferentes doses tratadas. Os níveis de expressão em células tratadas com a dose de 240 uM, utilizando a técnica de real time PCR, não se alteraram, nos testes com caspase 8 e tiveram expressão reduzida de caspase 3, quando comparadas com células normais. Esses resultados reforçam a necessidade da continuidade desses estudos visando à elucidação do mecanismo de ação e comprovação de sua eficácia clínica.

PALAVRAS- CHAVE: Silibinina, citotoxicidade *in vitro*, células de melanoma humano, MTT

Introdução

A incidência de câncer tem aumentado de forma considerável, sendo responsável, na atualidade, por um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. O avanço da doença impõe a constante necessidade pelo desenvolvimento de novos compostos anticancerígenos [(1)].

O uso de produtos de origem vegetal no tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais remotas formas de prática medicinal, e provavelmente quase tão antiga quanto a própria espécie humana. Fósseis datam o uso de plantas como medicamentos pelo homem desde aproximadamente 60.000 anos atrás [(22).]

Nesse aspecto, os produtos naturais configuram com uma inigualável fonte de diversidade e de complexidade química que podem ser explorados nas suas diferentes potencialidades biológicas. De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), mais de 80% da população mundial utilizam plantas como fonte primária de diversos agentes medicinais. Além disso, dos 252 fármacos considerados como básicos e essenciais pela OMS, 11% são exclusivamente de origem vegetal [(2)]. Sabe-se ainda que 74% das drogas anticancerígenas originaram-se ou foram derivadas de produtos naturais [(3)].

Em consonância com os outros tipos de câncer, incidência de melanoma maligno tem aumentado na ordem de 3 a 7% por ano [(4,5)]. Nos Estados Unidos, o risco de desenvolver melanoma durante a vida, aumentou de 1 em 1500 no ano de 1935 para 1 em 30 no ano de 2009[(6)]. O melanoma é um tipo de câncer que se origina dos melanócitos e tem predominância em adultos brancos, sendo considerado o mais letal tipo de câncer de pele. O tratamento contra o melanoma é pouco efetivo por conta da resistência das células malignas à radiação e à quimioterapia e alta possibilidade de metástase [(7,8)]. Esses fatores impõem à busca de novos agentes químicos com ação efetiva em melanócitos malignos.

A silimarina é um extrato, composto de flavoligninas, obtida das sementes de *Silybum marianum* (L.) Gaertn, uma planta medicinal membro da família Asteraceae, também conhecida como “cardo-mariano” ou “cardo-leiteiro”, nome derivado das nervuras nas folhas que, quando quebradas, expelem um líquido branco leitoso. Originalmente nativa do sul da Europa até a Ásia (região do Mediterrâneo) e atualmente encontrada em todo o mundo, tem sido usada na medicina tradicional há cerca de 2000 anos, sendo mencionada pela primeira vez por Plínio, o Velho, naturalista Romano[(23).]

Aproximadamente 50 a 60% da mistura de compostos químicos da silimarina consiste de silibinina ($C_{25}H_{22}O_{11}$), seu principal componente bioativo. Atualmente está confirmado que a silibinina é composta de uma mistura de dois diastereoisomeros a Silibilina A e a Silibilina B[9].

As ações biológicas da silibinina estão relacionadas à sua atividade hepatoprotetora e antioxidante, anticancerígena e antimetastática[10,11]. A silibinina também demonstrou auxiliar no tratamento de problemas no pâncreas, atuar no equilíbrio glicêmico e atenuar danos causados por agentes químicos e radiação UVA e UVB [12-14].

Contudo, poucos dados sobre sua ação antiproliferativa estão disponíveis. As ações de silibinina em células de melanoma humano SK MEL 37 ainda não foram alvo de pesquisa.

Durante a apoptose, a célula sofre alterações morfológicas características desse tipo de morte celular. Tais alterações incluem a retração da célula, perda de aderência com a matriz extracelular e células vizinhas, condensação da cromatina, fragmentação internucleossômica do DNA e formação dos corpos apoptóticos. Muitas são as moléculas envolvidas no controle das vias de ativação da apoptose, dentre estas, as proteínas antiapoptóticas e pró-apoptóticas, além das caspases. Esse fenômeno biológico, além de desempenhar um papel importante no controle de diversos processos vitais, está associado a inúmeras doenças, como o câncer. A compreensão dos mecanismos apoptóticos permitiu o desenvolvimento de novas estratégias no tratamento do câncer. Tais estratégias são embasadas na indução da morte nas células tumorais e em uma maior resposta aos tratamentos agentes citotóxicos[21].

Estre trabalho verificou o efeito antiproliferativo, presente no composto silibinina, na linhagem celular de melanoma humano SK MEL 37. Os resultados dos testes de viabilidade celular pelo MTT e pela observação in vitro das características morfológicas, indicaram que a silibinina efetivamente inibe a proliferação de células de melanoma. Os testes quantitativos demontraram a baixa expressão de caspase 3 e 8 em células tratadas, sendo necessário mais estudos sobre as vias pelo qual o composto atua nas células.

Materiais e Métodos

Cultura de células e manutenção da linhagem celular

As células de melanoma humano metastático da linhagem SK MEL-37 empregadas neste estudo foram obtidas por doação de Dr. Loyd J. Old do Instituto de Câncer Memorial Sloan-Kettering, New York, USA. As células estocadas em nitrogênio líquido foram descongeladas em

fracos de cultura de 25 cm^2 (Nunc Brand Products, USA) contendo meio de cultura MEM (Cultilab, Campinas, Brasil), suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (Cultilab, Campinas, Brasil), 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina (Gibco BRL, Argentina) e 0,25 µg/mL de Fungizona (Gibco BRL, Argentina) e mantidas em incubadora úmida com condições de 5% de CO_2 e 37° C. As células eram semeadas para os experimentos assumindo-se um tempo de duplicação de 30 horas, de forma que durante o tratamento com as drogas, as células se mantinham em crescimento exponencial.

Preparação da solução de Silibinina

A extrato de silibinina (2,3-Dihydro-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-6-(3,5,7-trihydroxy-4-oxobenzopyran-2-yl)benzodioxin, Silybin) com ≥ 98% de pureza (HPLC) foi obtida da Sigma Aldrich. O composto foi armazenado em temperatura de -20° C. As diferentes concentrações de silimarina foram diluídas em solução a 0,1% de DMSO.

Medida da atividade antiproliferativa de Silibinina

Realizamos inicialmente um acompanhamento visual do efeito do tratamento com a solução em DMSO de Silibinina. Para isso, analisamos o grau de desprendimento das células do fundo da placa, fato indicativo da citotoxicidade do tratamento. Neste procedimento as células de melanoma (SK MEL-37) foram semeadas em placas de com 24 poços (Nunc Brand Products, USA) e tratadas após 24 horas (tempo suficiente para adesão das células ao fundo da placa) com diferentes doses de solução em DMSO de silibinina. Após 24, 48 e 72 horas de incubação, as placas foram diretamente observadas em microscópio óptico (Eclipse TE 2000S, NIKON) e fotografadas.

Após observação visual como descrito acima, procedemos à avaliação da viabilidade celular através do ensaio de MTT. Este ensaio se baseia na medida da atividade da enzima desidrogenase mitocondrial, a qual é capaz de metabolizar o reagente brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (conhecido como MTT) em um composto colorido denominado formazan (cor roxa), que pode ser solubilizado e quantificado por espectrofotometria (570 nm). Dessa forma, os eventos metabólicos de apoptose ou necrose que levam à uma diminuição na viabilidade da cultura celular, podem ser quantificados. O formazan produzido pelas células está diretamente correlacionado com o número de células viáveis[15]. Este ensaio foi originariamente proposto por MOSMANN (1983) e tem sido ligeiramente modificado no sentido de estabilizar a solução do formazan[16]. Em nossas mãos, o melhor solvente para a solubilização do formazan e estabilidade dessa solução foi o metanol. O ensaio se baseia na proporcionalidade entre o número de células e a

absorbância do formazan. Sendo este um ensaio versátil, quantitativo e com boa reprodutibilidade, particularmente em células aderentes, além de ser considerado um método avançado com relação às técnicas tradicionais usadas nos ensaios de proliferação e citotoxicidade[17].

O número de células semeadas foi calculado de tal forma que as células atingissem a confluência ao término de 72 horas. Após 24 horas da semeadura, as células foram tratadas com diferentes concentrações da solução de silibinina em quadruplicatas e incubadas por um período de 48 horas. Ao término do período de incubação, acrescentou-se 50 µL de solução de MTT (5mg/mL, Calbiochem, USA), incubando-se novamente por duas horas para metabolização do MTT. A seguir, o meio foi totalmente descartado, acrescentando-se 300 µL de metanol gelado (Vetec) para a solubilização do formazan formado. Alíquotas de 100 µL foram transferidas para uma placa de 96 poços para leitura da absorbância a 570 nm em leitor de microplacas (ELX-800, Bio-Teck Instrument, INC). Para a construção do gráfico de Porcentagem de viabilidade celular x concentração, bem como o cálculo do IC_{50} (Concentração Inibitória para 50% das células), utilizou-se o Programa GraphPad Prism, versão 4.00 para Windows, da GraphPad Software, San Diego, USA, www.graphpad.com. Os valores de absorvância obtidos no tratamento com as diferentes concentrações de silibilina, foram normalizados para os valores obtidos com o solvente DMSO (B) para obtenção da porcentagem de viabilidade celular (C) através da equação: C = A/B x 100 para todas as concentrações estudadas.

Extração de RNA

Após o tratamento das células com 240 µM de silibinina, foi extraído o RNA total utilizando-se o reagente Trizol (Sigma-Aldrich), de acordo com as recomendações do fabricante. Para a extração, foi adicionado ao pellet celular 1 mL de trizol e homogeneizado até a dissolução completa do pellet. Em seguida foram adicionados 200 µL de clorofórmio aos tubos sendo em seguida homogeneizados por inversão, colocados parados à temperatura ambiente por dois minutos e centrifugados durante 15 minutos a 12.000 g a 4°C. Com a centrifugação foi possível observar 3 fases: a fase aquosa superior onde está o RNA, a interface que contém proteínas e a face inferior onde está fenol/clorofórmio. A fase aquosa foi então transferida para um novo tubo sendo em seguida adicionados 500 µL de álcool isopropílico para a precipitação do RNA. Após a precipitação, o RNA foi incubado à temperatura ambiente por 5 minutos e centrifugado a 12.000 g por 10 minutos a 4°C. O RNA foi em seguida lavado com etano 75% e centrifugado por 10 minutos a 7500g por 4°C. Logo após o descarte do álcool, os tubos foram colocados em capela para evaporação do álcool

restante na amostra. A seguir o RNA foi dissolvido em 50 µL de água ultrapura e tratado com Dnase I (Sigma Aldrich), seguindo as recomendações do fabricante. A concentração e o grau de pureza do DNA forma medidos pelo Quant-iT RNA Assay Kit. A integridade do RNA foi avaliada utilizando eletroforese em gel de agarose a 1%.

Síntese de cDNA

Para a síntese de DNA complementar (cDNA) foi utilizado o SuperScript® (Invitrogen), de acordo com as instruções do fabricante. Para reação foram utilizados dNTPs (desoxiribonucleotídeos trifosfatos), iniciadores randômicos (primers aleatórios) e a enzima transcriptase reversa, os quais foram adicionados a 2 µg de RNA. A reação de síntese de cDNA foi realizada a 25°C por 10 minutos e 42°C por 2 horas.

Real time PCR (qPCR)

A avaliação da expressão do mRNA dos genes das caspases 3 e 8 foi realizada por real time PCR. Para reação foram utilizados 2µL de cada primer sense e antisente (10 mM), cDNA (2 µL) e Taq polimerase platinum (5U/mM), dNTP (10 mM) MgCl2 (50mM), PCR buffer 1X. A amplificação seguiu o seguinte protocolo: desnaturação inicial de 95°C durante 15 minutos, em seguida de 40 ciclos de amplificação a 95 °C durante 15 segundos, 55°C pó 15 segundos e 72°C por 30 segundos. A expressão relativa dos genes analisados foi normatizada por meio da expressão dos genes de referência GAPDH (Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase). A sequencia de primers utilizados foram:

Tabela 1 – Sequencia dos prímers utilizados nas amplificações das caspases 3 e 8

Primers	Sequência dos primers (5'→3')	Tamanho do fragmento (PB)
Caspase 3	F: GAATATCCCTGGACAACA R: ACGCCATGTCATCATCATCAA	462 bp
Caspase 8	F: TCATTTTGAGATCAAGCCCC R: CCCCTGACAAGCCTGAATAA	256bp

Resultados

As células das foram fotografadas em microscópio óptico (NIKON) para a observação da ação da solução de silibinina. Após 72 horas de incubação com o composto químico, foi possível observar notaram-se mudanças morfológicas nítidas entre as células tratadas (**Figura 1 D-I**) e as não-tratadas (**Figura 1 A-C**). As células não tratadas apresentam-se aderidas à placa de cultura, bem distribuídas e com prolongamentos irregulares em várias direções, aspectos característicos do melanoma (SK MEL-37) em cultura. Já as células tratadas se caracterizaram pelo arredondamento celular, presença de vacúolos, fragmentação nuclear e desprendimento (perda de aderência ao substrato), sendo que, essas características se tornaram mais evidentes à medida que se aumentava a concentração de silibinina no meio de cultura.

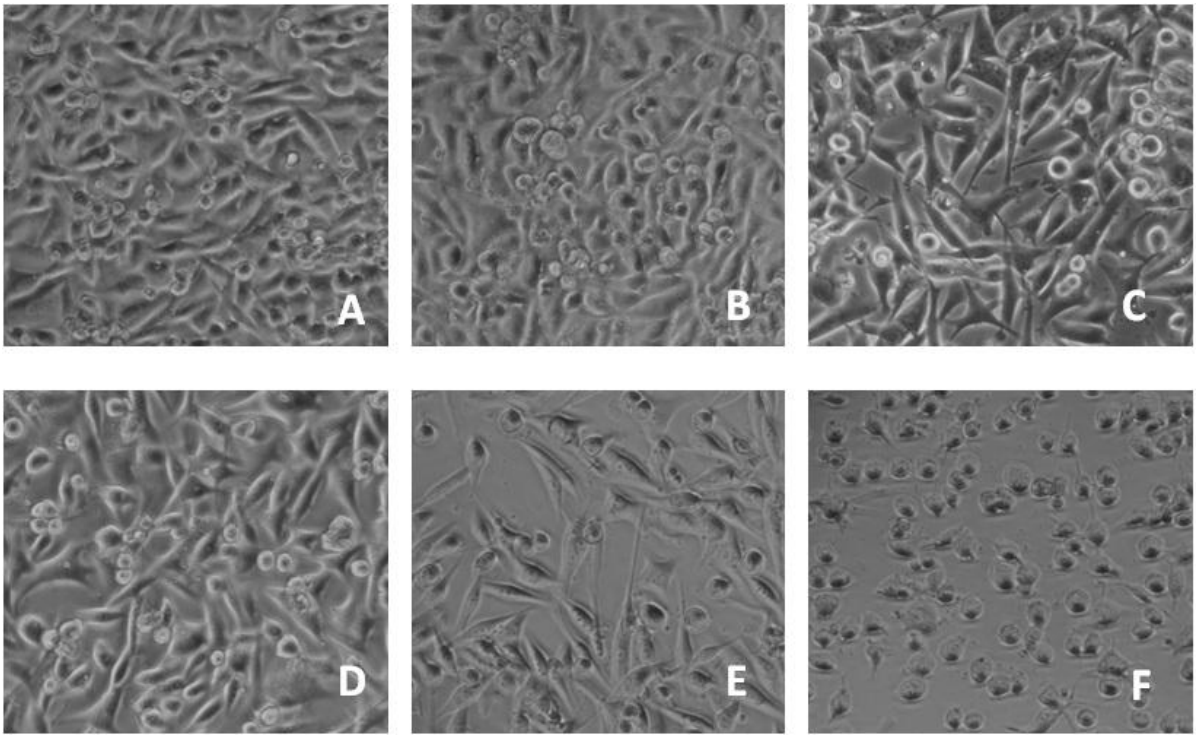


Figura 1. Micrografia óptica das células SK MEL-37 tratadas com silibinina. Aspecto morfológico de células de melanoma SK-MEL-37 em cultura após 48h de incubação na ausência de silibinina (A); na presença de DMSO (B); e nas concentrações de 41, 104, 207 e 518µM (C, D, E, e F)

Para análise da viabilidade celular, as células foram tratadas por 48 h com a concentração do composto variando entre 41, 104, 207 e 518µM. O valor do IC50 da silibinina foi de 240µM e foi

obtido por meio curva dose-resposta demonstrada na Figura 2. As células não tratadas apresentaram 100% de viabilidade

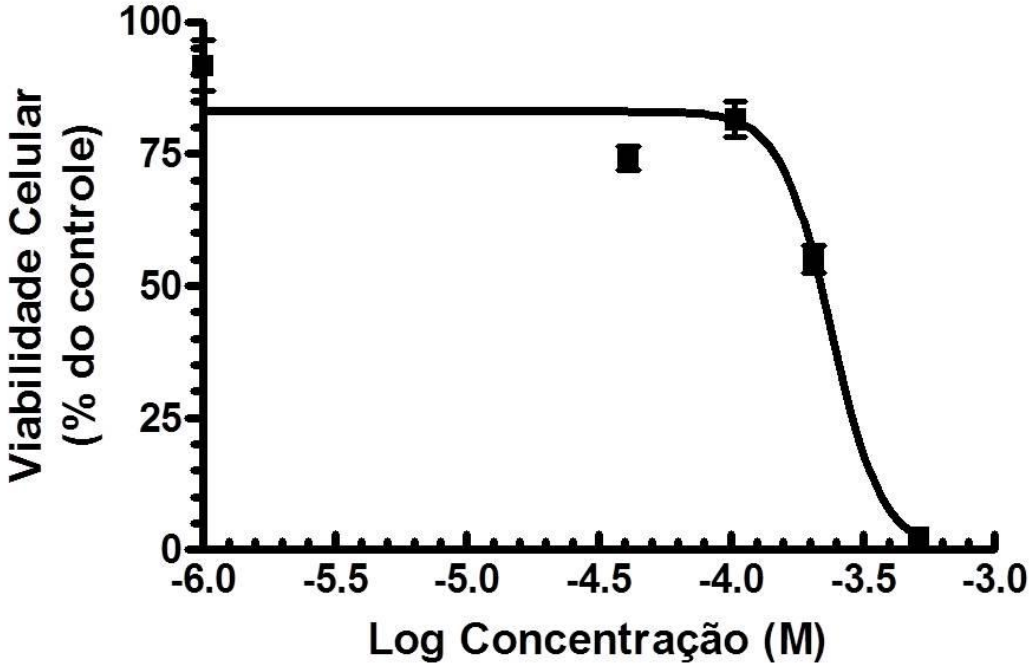


Figura 2. Medida da viabilidade celular. As células de melanoma humano SK MEL 37 foram tratadas com diferentes concentrações da solução de silibinina e a viabilidade celular foi avaliada através do método MTT, conforme descrito em Material e Métodos.

O efeito da silibinina na expressão de caspases 8 e 3 foi analisado por RT-PCR (figura 03). A normatização dos dados com o gene controle GAPDH indicou que expressão de caspase 8 não se alterou após 48 horas de exposição à silibinina enquanto que expressão de caspase 3 teve expressão reduzida em células tratadas quando comparada ao controle (figura 04).

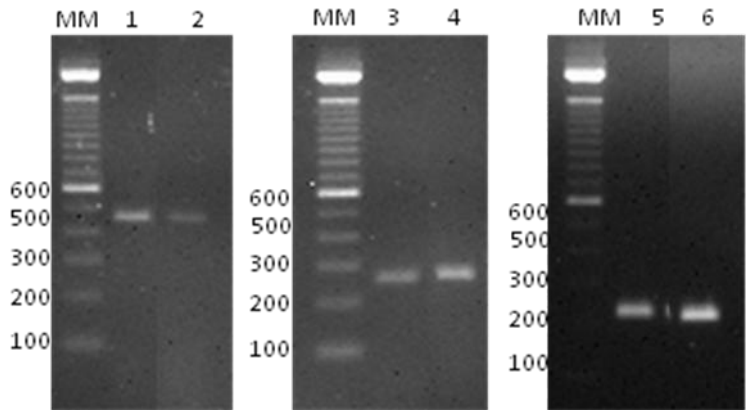


Figura 3. Real Time PCR de caspase 3 e 9 em células tratadas e não tratadas com silibinina. As células de melanoma humano SK MEL 37 tratadas com silibinina na concentração de 240 µM. MM – Marcador de peso molecular; 1 – Caspase 3 (controle); 2 – Caspase 3 (Tratamento com silibinina); 3 – Caspase 8 (controle); 4 - Caspase 8 (Tratamento com silibinina); 5 – GAPDH (controle); 6 – GAPDH (Tratamento com silibinina) .

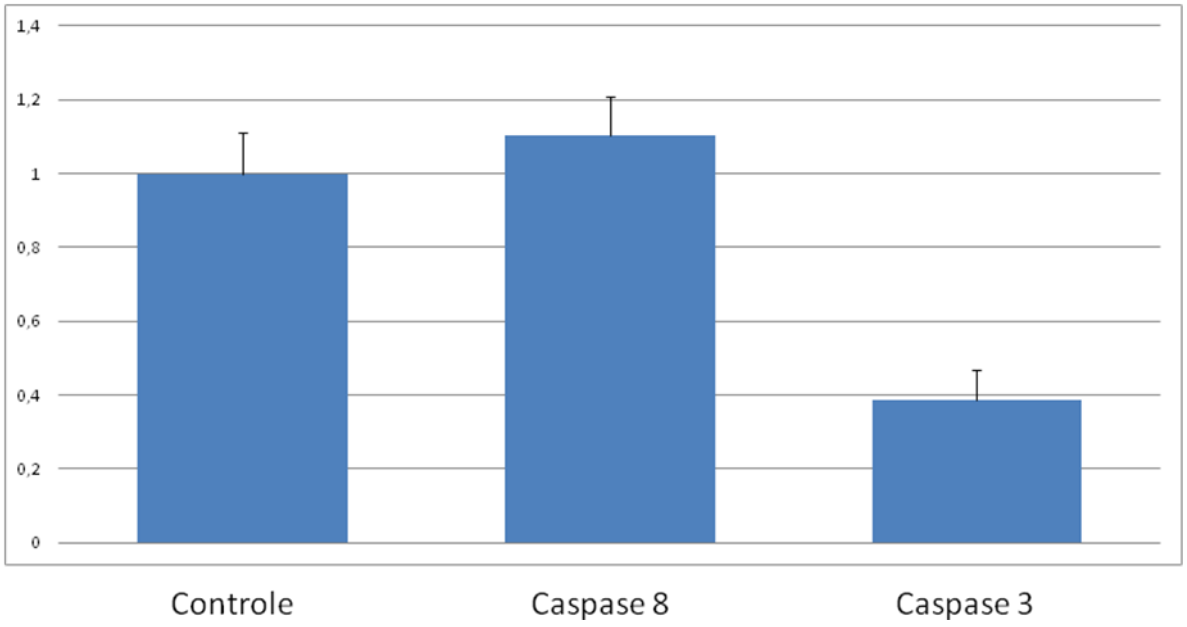


Figura 4. Efeito de silibinina na expressão de genes apoptóticos avaliados por Real Time PCR. Os experimentos foram realizados em triplicatas.

Discussão

No presente estudo avaliamos o potencial citotóxico da solução silibinina diluída em DMSO sobre as células de melanoma humano em cultura. Os resultados demonstraram que a solução induziu citotoxicidade nas células expostas à solução. A viabilidade celular avaliada pelo ensaio de MTT permitiu observar que a atividade citotóxica da solução de silibinina é diretamente proporcional ao aumento de sua concentração, observando-se uma viabilidade celular de apenas 40% na concentração de 250 µg/mL. As observações visuais das células indicaram que a ação da silibinina nas células ocorre em menos de cinco horas após a incubação com a droga.

Nas duas últimas décadas, em adição à atividade antioxidante e hepatoprotetiva, a silibinina tem demonstrado eficácia anticancerígena e antimetastática bem como atividade quimiopreventiva em cultura de células e em modelos animais de vários tipos de cancer epitelial, incluindo o cancer de pele, bexiga, colon, prostata, pulmão e outros (Agarwal et al, 2013) [18]. A ação da silibinina está relacionada à inibição do efeito proliferativo de células por meio da indução de apoptose e à parada do ciclo celular[19-21]. Contudo, o mecanismo pelo qual a silibinina inibe o crescimento de tumor varia de acordo com a linhagem celular, inclusive em linhagens diferentes do mesmo tipo de cancer[18]. Evidencias de que a silibinina é capaz de induzir apoptose em diferentes tipos de célula cancerígenas tem sido demontrada através da análise dos niveis de caspases e genes pró-apoptóticos relacionados à via intrinseca e extrinseca de apoptose[22].

Diferentemente, nossos resultados indicaram dos níveis de expressão de caspases 3 e 8 não aumentaram no tratamento com silibinina quando comparado com células não tratadas (controle). Contudo estudos em células de melanoma A375-S2 têm indicado que a silibinina também está envolvida na indução de espécies reativas de oxigênio e na indução de autofagia celular[23] Poucos estudos descrevem o mecanismo pelo qual a silibinina atua em células de melanoma. Esses dados indicam que são necessários estudos complementares utilizando diferentes dosagens de silibinina além da verificação da expressão de outros sinalizadores de apoptose e dano celular.

Conclusões

A solução de silibinina empregada popularmente no tratamento de vários tipos de cânceres, também apresenta atividade antiproliferativa sobre células de melanoma humano em cultura (SK-MEL-37). Os resultados apresentados sugerem que a silibinina pode ser um candidato a agente quimiopreventivo para o melanoma humano e reforçam a necessidade da continuidade desses

estudos visando à elucidação do mecanismo de ação em células de melanoma e comprovação de sua eficácia clínica.

Considerações Finais

Nesse trabalho foi evidenciada a atividade antiproliferativa do composto silibinina em células de melanoma SK-MEL-37. Os testes de MTT e a observação em microscópio indicaram que a silibinina possui ação eficaz na proliferação celular, os experimentos para quantificação de genes mostraram que não houve aumento na expressão de genes pró-apoptoticos. Esses dados demonstram que o mecanismo de ação da silibinina em células de melanoma ainda não está totalmente elucidado e que merece estudos adicionais envolvendo a determinação de outros fatores celulares e a aplicação de diferentes técnicas experimentais.

Referências Bibliográficas

1- SEKHON BK, Roubin RH, Tan A, *et al*. High-throughput screening plataform for anticancer therapeutic drug cytotoxicity. Assay and Drug Dev Technol 2008; 6:711-721.

2 - RASKIN I, Ribnicky DM, Komarnytsky S, *et al*. Plants and human health in the twenty-first century. Trends in Biotechnology 2002; 20(12):522 – 531.

3 - NEWMAN DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25years. J. Nat Prod 2007; 70:461-477.

4 - DIEPGEN T, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. Br J Dermatol. 2002 v.146:1–6.

5 - GERY PG, Donatus MPH, Florence KT, et al. Melanoma Treatment Costs A Systematic Review of the Literature, 1990–2011. Am J Prev Med. 2012; 43(5):537–545.

6 - RIGEL DS. Trends in dermatology: melanoma incidence. Arch Dermatol. 2010;146(3):318.

7 - ZHENG, M, Ekmekcioglu S, Walch T.E, et al. Inhibition of nuclear factor-kB and nitric oxide by curcumin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human melanoma cells. *Melanoma Res.*2004;14:165-171.

8- INCA. Estimativa 2008, incidência de câncer no Brasil.2007:1-94.

9 - DAVIS-SEARLES PR, Nakanishi Y, Kim, NC, *et al*. Milk thistle and prostate cancer: Diferrencial effects of pure flavonolignans from Silybum mariamum on antiproliferative end points in human prostate carcinoma cells. Cancer Research 2005; 65(10):4448-4457.

10 - GAZAK R, Walterova D, Kren V. Silybin and silymarin—new and emerging applications in medicine. Curr. Med. Chem 2007;14: 315–338.

11 - DEEP G, Agarwal, R. Antimetastatic efficacy of silibinin: molecular mechanisms and therapeutic potential against cancer. Cancer Matastasis Rev. 2010;29:447-463.

12 - SOTO C, Perez BL, Favari LP, *et al*. Prevention of alloxan-induced diabetes mellitus in the rat by silymarin. Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.1998, 119: 125–129.

13 - AFAQ F, Adhami VM, Ahmad N, *et al*. Botanical antioxidants for chemoprevention of photocarcinogenesis.; Front Biosci. 2002;7:784– 792.

14 - SRIRUPA R, Gagan D, Chapla A, *et al*. Silibinin prevents ultraviolet B radiation-induced epidermal damages in JB6 cells and mouse skin in a p53-GADD45a-dependent manner. Carcinogenesis, 2012, 33(3):629–636.

15 - BERNHARD D, Wolfgang S, Roman C, *et al*. Enhanced MTT-reducing activity under growth inhibition by resveratrol in CEM-C7H2 lymphocytic leukemia cells. *Cancer Lett.* 2003*;195*:193-199.

16 - MOSMANN T, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. *J. Immunol Methods* 1983; 65: 55-63.

17 - CARMICHAEL J, Degraff WG, Gazdar AF, *et al* , Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetrie assay assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Research,* 1987, (47): 936-942.

18 – AGARWAL C, Wadhwa R, Deep, G, et al. Anti-cancer efficacy of Silybin derivates – A estruture activity relationship. Plos One 2013; 8 (3), 871 – 878.

19 - AGARWAL C, Singh RP, Dhanalakshmi S, et al. Silibinin upregulates the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and causes cell cycle arrest and apoptosis in human colon carcinoma HT-29 cells. Oncogene 2003; 22:8271–8282.

20 - YAKUN G, Yuanxin Z, Yunpeng C, et al. Silibinin Causes Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Some Human Pancreatic Cancer Cells. *Int. J. Mol. Sci.,* 2011,v.*12*: 4861-4871.

21 - ZHANG Y, Ge1 Y, Chen Y, et al. Cellular and molecular mechanisms of silibinin induces cell-cycle arrest and apoptosis on HeLa cells. Cell Biochem Funct. 2011; 12:1-5.

22 – DEEP G, Agarwal R. Targeting tumor microenvironment with silibinin: promise and potential for a translational cancerchemopreventive strategy. Curr Cancer Drug Targets. 2013; 13(5): 486 – 499.

23 - JIANG YY, Huang H, Wang HJ, et al. Interruption of mitochondrial complex IV activity and cytochrome c expression activated $O_2 \cdot^-$-mediated cell survival in silibinin-treated human melanoma A375-S2 cells via IGF-1R-PI3K-Akt and IGF-1R-PLC γ-PKC pathways. Eur J Pharmacol. 2011, 668(1-2):78-87.

Detecção e caracterização molecular de calicivírus (CVs) em amostras coletadas de pacientes submetidos a transplante alogênico de células progenitoras hematopoiéticas

Larissa Córdova Turones*, Lucianna Gonçalves Nepomuceno Lemes, Hugo César Pereira Santos, Fabíola Souza Fiaccadori, Menira Borges de Lima Dias e Souza**
*bolsista PIBIC, **orientadora

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG, 74605050, Brasil e-mail: larissa645@gmail.com

RESUMO

Os calicivírus (CVs), norovírus (NoVs) e sapovírus (SaVs) constituem importante causa de gastroenterite aguda, afetando indivíduos de todas as idades. São transmitidos pela via fecal-oral, não sendo incomuns os surtos em locais semi-fechados e com aglomeração de pessoas como escolas, creches, hospitais e asilos. Em geral a infecção é sintomática, entretanto, a excreção assintomática já foi documentada, podendo ser prolongada principalmente em indivíduos imunocomprometidos. Este estudo teve como objetivo a pesquisa de NoVs e SaVs no soro e em amostras fecais provenientes de pacientes submetidos ao transplante alogênico de células progenitoras hematopoiéticas (TACPH). Amostras foram obtidas de pacientes submetidos ao TACPH, realizado no Hospital Araújo Jorge – Associação de Combate ao Câncer de Goiás (AAC-GO). As amostras de fezes foram coletadas, processadas e extraídas pelo método de Boom et al. (1990), e as amostras de soro foram extraídas utilizando-se kit comercial (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen). A pesquisa de CVs (NoVs e SaVs) foi realizada por reação em cadeia pela polimerase pós-transcrição reversa (RT-PCR), utilizando iniciadores específicos para regiões parciais de segmentos codificantes para o capsídeo viral dos NoVs e SaVs. Das 57 amostras fecais, provenientes de nove pacientes, sete foram positivas para NoVs e, das 14 amostras de soro analisadas, 13 foram positivas para NoVs. Nenhuma amostra foi positiva para SaVs. Os resultados obtidos como o estudo reforçam a importância dos NoVs como agentes causadores de diarreia, sendo este o primeiro relato da infecção de pacientes submetidos ao TACPH no Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Calicivirus, Norovirus, Sapovirus, transplante de medula óssea, imunosuprimidos

Revisado pela Orientadora

1 INTRODUÇÃO

A gastroenterite é uma síndrome que afeta indivíduos de todas as idades e em diversas partes do mundo. Dentre os agentes causadores desta síndrome destacam-se os vírus, tais como os calicivírus (CVs) (Green et al., 2007).

Dentre os calicivírus (norovírus e sapovírus), os norovírus (NoVs) apresentam-se como a principal causa de surtos de gastroenterite aguda não-bacteriana, afetando grande parte da população, incluindo ao grupo indivíduos de todas as idades, com grande impacto nos sistemas de saúde públicos e privados, em diversas partes do mundo (WHO, 2009; KARST, 2010; CDC, 2012). Os norovírus são responsáveis, anualmente, por mais de 100 milhões de hospitalizações e 1,8 milhões de mortes de crianças em países desenvolvidos, e por mais de um milhão de hospitalizações com aproximadamente 200.000 mortes de crianças em países em desenvolvimento (PATEL et al, 2008)

Os calicivírus (CVs) pertencem à família *Caliciviridae*, que é subdividida em cinco gêneros. Esses agentes podem infectar diversas espécies de animais, porém somente os pertencentes aos gêneros *Norovirus* e *Sapovirus* são de importância patogênica para humanos (ICTV, 2011; GREEN, 2007). Ambos os gêneros são ainda classificados em cinco genogrupos (GI-V), os quais são ainda subdivididos em diversos clusters genômicos, refletindo a elevada variabilidade genética e antigênica destes agentes (HALL et al., 2011; OKA et al., 2012).

As partículas virais dos CVs são esféricas, não envelopadas, com diâmetro de 27 a 40 nm, e seu capsídeo é formado pelas proteínas VP1 e VP2. Seu genoma é composto por uma molécula de RNA fita simples (ssRNA) de polaridade positiva, com um tamanho de 7,3 a 8,3 Kb. O genoma dos NoVs e dos sapovírus (SaVs) compreende três regiões de leitura aberta (RLAs), sendo que a primeira codifica para proteínas não-estruturais, a segunda para a proteína estrutural VP1 e a terceira para a proteína VP2 do capsídeo. Os SaVs do genogrupo II são formados por duas RLAs, caracterizando desta forma uma exceção, sendo que a primeira codifica tanto para proteínas não-estruturais quanto para a proteína VP1 (GREEN, 2007).

A infecção por CVs ocorre principalmente pela via fecal-oral, tal infecção se dá principalmente através da ingestão de água e alimentos contaminados, exposição à fômites e contato pessoa-pessoa (GREEN, 2007). Uma dose infecciosa de duas a vinte partículas virais de NoV podem ser suficientes para infectar um adulto saudável, verificado através de estudos (TEUNIS et al., 2008). O sítio primário de replicação dos CVs parece ser as vilosidades do intestino delgado (GREEN et al., 2007) e o período de incubação varia de 10 a 77 horas. A

infecção é geralmente auto-limitada, com média de duração de 12 a 48 horas, sendo os principais sintomas apresentados pelos indivíduos infectados a diarreia, o vômito, náuseas e dores abdominais. A diarreia pode resultar em desidratação, sendo complicação frequente entre crianças, idosos e imunocomprometidos de uma foram geral (GREEN et al., 2007). Os surtos de gastroenterites causados por esses vírus são mais frequentes em locais com aglomeração de pessoas como hospitais, creches, escolas, restaurantes e asilos, dentre outros (KOOPMANS, 2009). A excreção assintomática de NoV em indivíduos saudáveis já foi documentada, entretanto o seu papel na disseminação viral não está ainda bem estabelecido (CDC, 2012).

Estudos recentes revelam a ocorrência de excreção prolongada e doença grave por NoV em pacientes hospitalizados e em imunocomprometidos, como os que foram submetidos a transplantes e a infecção de um paciente por sapovírus após ter sido submetido a transplante renal foi relatada em apenas um estudo (ROSS-WEIL et al., 2011). A diarreia crônica apresentada por esses pacientes pode levar à má absorção dos alimentos, podendo resultar em óbito (WESTHOFF et al., 2009; ROSS-WEIL et al., 2011; SAIF et al., 2011).

Os CVs não são cultiváveis *in vitro*, e não há um modelo animal ideal para experimentação (SOUZA et al., 2007; WOBUS, THACKRAY, VIRGIN, 2006). Os principais métodos diagnósticos se baseiam na observação da partícula viral por microscopia eletrônica, detecção de antígenos virais por ensaios imunoenzimáticos e detecção e caracterização molecular por métodos moleculares, como a técnica de reação em cadeia pela polimerase pós-transcrição reversa (RT-PCR), sendo o último considerado “padrão ouro” para a pesquisa dos CVs (CDC, 2012).

Como referido, surtos em ambiente institucional e hospitalar são comuns. Estima-se que de todos os surtos de gastroenterite causados por norovírus, aproximadamente 35% ocorram em locais de internação prolongada de pacientes, como hospitais (HALL et al., 2011). Estudos mostram que são fatores que contribuem para a ocorrência de surtos nosocomiais: a excreção assintomática de NoVs por indivíduos saudáveis, a excreção viral prolongada em pacientes hospitalizados e em imunocomprometidos, a elevada carga viral excretada, a baixa dose infecciosa e a estabilidade dos NoVs. O quadro clínico dos pacientes infectados por Nov/SaV pode ser ainda agravado por terapia imunossupressora para aqueles que foram submetidos ao transplante alogênico de células progenitoras hematopoiéticas (TACPH), podendo, assim, resultar em óbito (SCHWARTZ et al., 2011).

O diagnóstico da infecção por HuCVs não faz parte da rotina do acompanhamento de pacientes que foram submetidos ao TACPH, assim, é de extrema importância o diagnóstico

precoce da infecção por tais agentes para que o esquema terapêutico mais eficaz seja definido, sendo também importante um estudo e determinação das características moleculares das amostras virais isoladas. Ademais, ao nosso conhecimento, nenhum estudo foi ainda realizado no Brasil sobre a detecção e caracterização molecular dos NoVs/SaVs em pacientes que foram submetidos ao TACPH, reforçando a relevância deste estudo.

2 METODOLOGIA

2.1 Coleta dos espécimes clínicos

O material de estudo foi constituído de soro e amostras fecais de pacientes admitidos ao Hospital Araújo Jorge - Associação de Combate ao Câncer de Goiás (AAC-GO), que foram submetidos ao TACPH, para a detecção e o monitoramento da infecção por NoV/SaV. A coleta das amostras teve início em Outubro de 2012 e terminará em Outubro de 2013. As amostras de fezes foram coletadas semanalmente de cada paciente e de soro a cada quinze dias durante o período de internação e após este período, durante as consultas em ambulatório. Após esclarecimento ao paciente dos procedimentos da pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo paciente ou seu responsável, iniciou-se a coleta das amostras, sendo realizada semanalmente após o transplante, e sempre que houve suspeita clínica de infecção viral ou suspeita de doença do enxerto contra hospedeiro. Após a coleta, as amostras (soro e fezes) foram encaminhadas ao Laboratório de Virologia IPTSP/UFG e imediatamente processadas para posterior armazenamento.

2.2 Processamento das amostras coletadas

As amostras fecais foram processadas para a obtenção de uma suspensão fecal a 20% em tampão salina fosfato (PBS) pH 7,4, e as suspensões homogeneizadas e clarificadas por centrifugação a 3000 x g por 10 minutos. Os sobrenadantes foram colhidos e estocados a -20ºC até o uso. As amostras sanguíneas foram centrifugadas para coleta do soro, o qual foi separado em duas alíquotas, sendo uma armazenada a -20ºC e outra a -70ºC para posterior realização dos ensaios.

2.3 Extração do RNA no soro e nas fezes para a detecção de calicivírus

As amostras de soro foram inicialmente diluídas a 1:3 em água DEPC, e em seguida utilizadas para a extração do RNA viral por kit comercial (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen), seguindo as instruções do fabricante.

As suspensões fecais foram utilizadas para a extração do ssRNA viral utilizando-se o agente quiomiotrópico (isotiocianato de guanidina) e a sílica, de acordo com descrição de Boom et al. (1990), com modificações (CARDOSO et al., 2002), conforme descrito:

a.300 µl de suspensão fecal de cada amostra foram incubados em banho-maria com 800 µl de tampão L6 e 20 µl de PK (10 mg/ml) por 10 minutos. Após essa fase, 200 µl de etanol absoluto gelado e 15 µl de sílica foram adicionados ao tubo e as amostras homogeneizadas em vórtex.

b. A suspensão de cada amostra foi em seguida centrifugada (16000 rpm) por 20 segundos, descartando o sobrenadante. Essa etapa de centrifugação e descarte do sobrenadante foi repetida por três vezes, primeiramente adicionando-se 500 µl de tampão L2, seguido de 500 µl de etanol a 70% e, por último, 500 µl de acetona P.A.

c. Após a última centrifugação, o pellet foi colocado para secar em banho-maria por 15 minutos e depois foram adicionados 30 µl de água com DEPC 0,1% por amostra, seguido de nova incubação por mais 15 minutos. Homogeneizou-se então a suspensão, centrifugou-se a 16000 r.p.m por 3 minutos e recolheu-se 20 µl do sobrenadante em tubos eppendorff. O material extraído foi então armazenado a - 20ºC até o momento do uso.

As amostras extraídas foram mantidas estocadas à -20ºC até a realização dos ensaios de RT-PCR.

2.4 Detecção dos calicivírus por RT-PCR

Para a pesquisa de ácido nucléico de NoV/SaV, a partir das amostras extraídas, foi utilizada a metodologia de RT-PCR para a síntese do cDNA seguida de amplificação. Para tal, foi feita a transcrição reversa utilizando o iniciador randômico (Invitrogen), e para a reação de multiplex-PCR foram utilizados iniciadores específicos para segmentos de regiões codificantes para o capsídeo viral dos NoVs do genogrupo I e II (KOJIMA et al., 2002) e SaVs (YAN et al., 2003). Os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose a 1,5% através de transluminador de luz UV usando como padrão de peso molecular o 100pb DNA *ladder* (Invitrogen). Os produtos com tamanho entre 330-344 pb foram considerados positivos para NoV e de 434 pb para SaV (Figura 1).

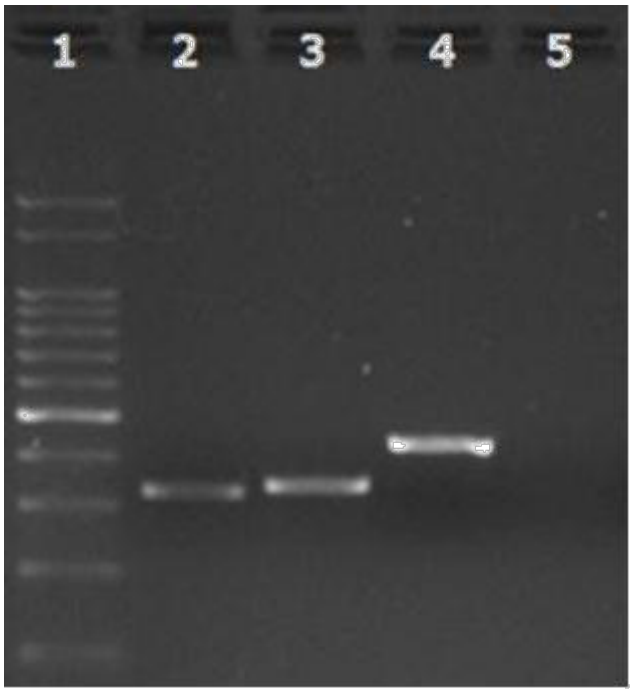


Figura 1 Linha 1 – peso molecular 100pb; Linhas 2-4 – amostras positivas para NoVs (GI-334pb - GII-344pb e SaVs (440pb), respectivamente; Linha 5 – controle negativo.

3 RESULTADOS

Foram analisadas 57 amostras fecais e 66 amostras de soro obtidas de nove pacientes transplantados. Dos nove pacientes, quatro tiveram pelo menos uma amostras de fezes e soro positivas para NoVs. Destas, 7/55 (12,7 %) das amostras de fezes e 13/14 (92,8%) amostras de soro, obtidas durante o período de excreção viral nas fezes, foram positivas para NoVs. Este dado confirma a presença de viremia durante a infecção por NoVs. Nenhuma das amostras analisadas apresentou resultado positivo para SaVs. O número de amostras coletadas por paciente variou de 2 a 12 amostras, tanto para soro quanto para fezes.

Dos nove pacientes participantes do estudo, oito apresentaram diarreia que variou de dois a 12 dias. O segundo sintoma mais predominante apresentado pelos pacientes foi vômito. O período de diarreia coincidiu com a excreção de vírus pelas fezes. A excreção viral foi prolongada e variou de 12 a 35 dias para amostras de soro e de um a 12 dias para amostras de fezes.

4 DISCUSSÃO

Como referido os calicivírus circulam em diversos países do mundo podendo infectar pessoas de todas as idades. A ocorrência desses agentes em crianças menores de cinco anos, bem como no envolvimento de surtos epidêmicos têm sido bastante reportada (Hall et al.,

20011; CDC, 2012).

Entretanto, dados sobre a epidemiologia molecular destes vírus em determinadas populações, como em indivíduos imunocomprometidos são ainda escassos, principalmente no Brasil. Os resultados do presente estudo revelam a ocorrência de NoVs entre pacientes submetidos ao transplante de células progenitoras hematopoiéticas, em Goiânia, Goiás, corroborando dados da literatura que revelam a infecção por estes agentes em pacientes imunocomprometidos (SCHWARTZ et al., 2011). Neste estudo foi constatada também a viremia em todos os pacientes que excretavam vírus nas fezes. O principal sintoma associado à infecção por NoVs na população estudada foi a diarréia, seguida de vômito.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos como o estudo reforçam a ocorrência dos NoVs em ambiente nosocomial e a infecção em indivíduos imunocomprometidos, sendo este o primeiro relato da infecção de pacientes submetidos ao TACPH no País. Estes achados alertam para a necessidade da inclusão de um teste molecular para a pesquisa destes vírus na rotina de exames de triagem destes pacientes antes da realização do transplante.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo faz parte de um projeto maior que ainda está em andamento que tem como principal objetivo obter mais informações sobre a epidemiologia molecular dos calicivírus na população de imunossuprimidos, como os pacientes submetidos ao TACPH. As amostras positivas pelo método de RT-PCR estão sendo submetidas ao sequenciamento genômico para a confirmação dos resultados, bem como para a determinação do genótipo viral. Os dados obtidos poderão fornecer subsídios para a inclusão da triagem para calicivírus, utilizando-se um método sensível e específico para a detecção desses agentes, na rotina de exames antes do transplante, bem como no acompanhamento destes pacientes no período pós-transplante, o que poderá auxiliar na conduta de tratamento dos pacientes infectados e na redução da morbimortalidade na referida população.

7 REFERÊNCIAS

BOOM, R.; SOL, C. J. A.; SALIMANS, M. M. M.; JANSEN, C. L.; WERTHEIM-van DILLEN, P. M. E.; van der NOORDAA, J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. **J Clin Microbiol**, v. 28, p. 495-503, 1990.

CARDOSO, D. D. P.; FIACCADORI, F. S.; SOUZA, M. B. L. D.; MARTINS, R. M. B.; LEITE, J. P. G. Detection and genotyping of astroviruses from children with acute gastroenteritis from Goiânia, Goiás, Brazil. **Med Sci Monit**, v. 8, p. 624-628, 2002.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Norovirus. 2012. Disponível em: <http://www.cdc.gov/norovirus/index.html>. Acesso em: 18 de dez, 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Norovirus. 2012. Disponível em: <http://www.cdc.gov/norovirus/index.html>. Acesso em: 18 de dez, 2012.

GREEN, K. Y. *Caliciviridae*: the noroviruses. In: Knipe, D. M.; Howley, P. M. **Fields virology**. 15 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. p. 949-979.

HALL, A. J.; VINJÉ, J.; LOPMAN, B.; PARK, G. W.; YEN, C.; GREGORICUS, N.; PARASHAR, U. Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. MMWR, v. 60, p. 1-15, 2011.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Virus taxonomy: 2011 release. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2011>. Acesso em: 11 de agosto de 2012.

KARST, S. M. Pathogenesis of noroviruses, emerging RNA viruses. **Viruses**, v. 2, p. 748-781, 2010.

KOJIMA, S.; KAGEYAMA, T.; FUKUSHI, S.; HOSHINO, F. B.; SHINOHARA, M.; UCHIDA, K.; NATORI, K.; TAKEDA, N.; KATAYAMA, K. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. **J Virol Methods**, v. 100, n. 1, p. 107-114, 2002.

KOOPMANS, M. Norovirus in healthcare settings: a challenging problem. **J Hosp Infec**, v. 73, p. 331-337, 2009.

OKA, T.; MORI, K.; IRITANI, N.; HARADA, S.; UEKI, Y.; IIZUKA, S.; MISE, K.; MURAKAMI, K.; WAKITA, T.; KATAYAMA, K. Human sapovirus classification based on complete capsid nucleotide sequences. Arch Virol, v. 157, n. 2, p. 349-352, 2012.

PANG, X.; HONMA, S.; NAKATA, S.; VESIKARI, T. Human calicivirus in acute gastroenteritis of young children in the community. J Infect Dis, Sapporo, v. 181, p. 288-294, 2000.

PATEL, M. M.; WIDDOWSON, M. A.; GLASS, R. L.; AKAZAWA, K.; VINJÉ, J.; PARASHAR, U. D. Systematic literature review of role norovírus in sporadic gastroenteritis. **Emerg Infect Dis**, v.44, p. 1224-1231, 2008.

ROOS-WEIL, D.; AMBERT-BALAY, K.; LANTERNIER, F.; MAMZER-BRUNEEL, M. F.; NOCHY, D.; POTHIER, P.; AVETTAND-FENOEL, V.; ANGLICHEAU, D.; SNANOUDJ, R.; BERERHI, L.; THERVET, E.; LECUIT, M.; LEGENDRE, C.; LORTHOLARY, O.; ZUBER, J. Impact of norovirus/sapovirus-related diarrhea in renal transplant recipients hospitalized for diarrhea. **Transplantation**, v. 92, n. 1, p. 61-69, 2011.

SAIF, M. A.; BONNEY, D. K.; BIGGER, B.; FORSYTHE, L.; WILLIAMS, N.; PAGE, J.; BABIKER, Z. O.; GUIVER, M.; TURNER, A. J.; HUGHES, S.; WYNN, R. F. Chronic norovirus infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients: a cause of prolonged intestinal failure requiring intensive nutritional support. Pediatr Transplant, v. 15, n. 5, p. 505-509, 2011.

SAKAI, Y.; NAKATA, S.; HOMNA, S.; TATSUMI, M.; NUMATA-KINOSHITA, K.; CHIBA, S. Clinical severity of Norwalk virus and Sapporo virus gastroenteritis in children in Hokkaido, Japan. Pediatr Infect Dis J, Sapporo, v. 20, p. 849-853, set. 2001.

SCHWARTZ, S.; VERGOULIDOU, M.; SCHREIER, E.; LODDENKEMPER, C.; REINWALD, M.; SCHMIDT-HIEBER, M.; FLEGEL, W. A.; THIEL, E.; SCHNEIDER, T. Norovirus gastroenteritis causes severe and lethal complications after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**, v. 117, n. 22, p. 5850-5856, 2011.

SHIRATO, H. Norovirus and histo-blood group antigens. **Jpn J Infect Dis**, v. 64, p. 95-103, 2011.

SOUZA, M. et al. Cytokine and antibody responses in gnotobiotic pigs after infeccion with human Norovirus Genogroup II. Journal of Virology, v. 81 n. 17 9183-9192, 2007.

TAN, M.; JIANG, X. Norovirus-host interaction: Multi-selections by human histo-blood group antigens. **Trends Microbiol**, p. 1-7, 2011.

TEUNIS, P. F.; MOE, C. L.; LIU, P.; MILLER, S. E.; LINDESMITH, L.; BARIC, R. S.; Le PENDU, J.; CALDERON, R. L. Norwalk virus: how infectious is it? J Med Virol, v. 80, p. 1469-1476, 2008.

WESTHOFF, T. H.; VERGOULIDOU, M.; LODDENKEMPER, C.; SCHWARTZ, S.; HOFMANN, J.; SCHNEIDER, T.; ZIDEK, W.; VAN DER GIET, M. Chronic norovirus infection in renal transplant recipients. Nephrol Dial Transplant, v. 24, n. 3, p. 1051-1053, 2009.

WOBUS, C. E.; THACKRAY, L. B.; VIRGIN, H. W. Murine norovirus: a model system to study norovirus biology and pathogenesis. J Virol, v. 80, n. 11, p. 5104-5112, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Viral gastroenteritis, 2011. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/gastro/faq.htm>. Acesso em: 09 de jan, 2013.

YAN, H.; YAGYU, F.; OKITSU, S.; NISHIO, O.; USHIJIMA, H. Detection of norovirus (GI, GII), Sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. **J Virol Methods**, v. 114, n. 1, p. 37-44, 2003.

"DEGRADAÇÃO ELETROQUÍMICADE DESREGULADORES ENDÓCRINOS UTILIZANDO ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO"

Larissa Ferreira da Silva, Kamila Pereira de Amorim, Leonardo Santos Andrade.

Universidade Federal de Goiás, Campus Avançado Catalão, Catalão, Brasil.

laryssaF.21@gmail.com; ls_andrade@ufg.br

Orientanda: Larissa Ferreira da Silva

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Santos Andrade

Catalão – GO

2013

Revisado pelo orientador

RESUMO: Atualmente, com o avanço tecnológico, a construção de sensores sensíveis à detecção e quantificação de compostos que antes eram indetermináveis em baixas concentrações permite que hoje sejam detectadas. Em consequência a esse avanço, uma das melhorias proporcionadas é a detecção de desreguladores endócrinos em corpos hídricos. Ultimamente tem-se verificado que o tratamento de efluentes por métodos convencionais não é eficaz na degradação de hormônios e que a exposição de animais e seres humanos em geral a estes compostos é prejudicial mesmo em concentrações muito baixas. Dessa forma, o presente trabalho propõe um método de degradação e detecção do desregulador endócrino 17 b-estradiol (E2) por meio do métodos eletroquímicos ambos utilizando como eletrodo de trabalho o diamante dopado com boro (DDB). Este eletrodo vem sendo muito utilizado em aplicações eletroquímicas pelo fato de apresentar propriedades únicas, tais como baixa e estável corrente de fundo, ampla janela de potencial em meios aquosos e não aquosos e alto sobrepotencial para a reação de desprendimento de oxigênio.

Palavras chave: 17 β-estradiol, eletrodo de diamante, degradação eletroquímica, detecção eletroquímica.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais

Em virtude do avanço tecnológico, cada vez mais se produzem sensores eletroquímicos mais sensíveis permitindo assim análises e detecções de substâncias em baixíssimas concentrações, que antes jamais poderiam ser detectadas. Assim, contaminantes presentes em baixas concentrações em efluentes que antes não eram detectáveis em análises, agora são como é o caso dos desreguladores endócrinos.[1,2]

A grande preocupação com estes compostos se deve ao fato de que mesmo em baixas concentrações eles oferecem problemas à vida aquática e à saúde humana. Alguns estudos mostram que a incidência de câncer, descontroles hormonais e comprometimento do sistema reprodutor, podem estar relacionados à presença desses hormônios em corpos hídricos.[3,4,5]

Esses desreguladores endócrinos atingem os corpos d'água através da eliminação em urina e fezes humanas e animais (de suas moléculas íntegras ou seus metabólitos), infiltração no solo e dos efluentes de indústrias farmacêuticas e

alimentícias (alimentos de origem animal). Assim, devido à ineficiência dos sistemas de tratamento convencional das águas, as pessoas estão sujeitas à exposição destes compostos.[3,4,5]

Nesse sentido, o método de degradação eletroquímica surge como uma alternativa eficiente e promissora na degradação de compostos aromáticos, permitindo a mineralização completa destes compostos, dependendo do material de eletrodo utilizado. Filmes finos de diamante dopado com boro vêm sendo bastante promissor em aplicações eletroquímicas, por exemplo, como eletrodo, devido a este apresentar propriedades únicas, sendo elas: baixa e estável corrente de fundo; ampla janela de potencial em meios aquosos e não aquosos; alto sobrepotencial para a reação de desprendimento de oxigênio; extraordinária estabilidade morfológica e microestrutural a altas densidades de corrente (por exemplo, 0,1-10 A/cm^2, em H_3PO_4 85%); boa resposta a alguns analitos aquosos e não aquosos, após pré-tratamento convencional, e estabilidade na resposta em longo prazo.[1,2,6,7]

1.2. Hormônio 17 b-estradiol

O 17 β-estradiol (E2), FIGURA 1, é um estrogênio natural, secretado no ovário e considerado biologicamente como o estrogênio ovariano mais potente sendo responsável pela manutenção da reprodução das células dos seios, da pele e cérebro. Apesar de natural, o E2 é produzido em grandes quantidades para serem utilizados em contraceptivos orais e para reposição hormonal.[1-5]

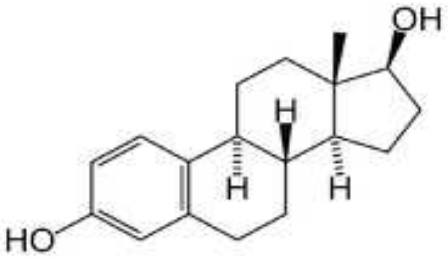


FIGURA 1: Estrutura química do 17 β-estradiol.3

Dentre os resíduos de fármacos que apresentam maior atividade estrogênica, o E2 é o que mais vem se destacando. As mulheres excretam maiores quantidades deste hormônio em relação aos homens, podendo ainda variar a quantidade por período da vida sexual, conforme TABELA 1:

TABELA 1: Excreção diária de 17 b-estradiol.[4]

	[E2] / µg./L
Homens	1,6
Mulheres em menstruação	3,5
Mulheres em menopausa	2,3
Mulheres em gestação	259

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo a investigação da degradação e detecção eletroquímica de um desregulador endócrino, o 17 b-estradiol, utilizando o eletrodo de diamante dopado com boro.

3. METODOLOGIA

Antes de se realizar quaisquer medidas, preparou-se um eletrodo de referência Ag/AgCl 3 mol/L, por eletrodeposição de um fio de Ag em solução saturada de KCl (3 mol/L), aplicando-se uma corrente anódica de 0,1 A por 30 s armazenando-o em uma ponteira cheia com solução de KCl 3,0 mol/L, cristais de $AgNO_3$ e mantendo-o em um vidro âmbar pequeno em solução de KCl 3,0 mol/L.

O eletrólito suporte utilizado nos estudo eletroquímicos foi o sulfato de sódio Na_2SO_4, (Isofar), na concentração de 0,1 mol/L e em pHs 3, 7 e 10. O ajuste do pH foi feito com ácido sulfúrico, H_2SO_4 (Synth), 0,5 mol/L e NaOH (Synth), 1 mol/L.

Preparou-se uma solução mãe com padrão de 17 b-estradiol (Aldrich) na concentração de 1 g/L, utilizando como solvente o metanol.

As medidas eletroquímicas foram realizadas com um bipotenciostato/Galvanostato III Dropsens 400 mStat.

a) Voltametria Cíclica:

As medidas foram feitas em uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos em sistema estacionário, confeccionada em vidro com capacidade 50 mL e tampa de teflon.

Inicialmente, realizou-se o pré-tratamento do eletrodo de DDB, sendo o primeiro anódico, sob uma densidade de corrente de 0,5 A/cm2 durante 1 min seguido de um tratamento catódico com a mesma densidade de de corrente por 5 min, em uma célula eletroquímica convencional, tendo-se como contra-eletrodo uma placa de Pt. Os

eletrodos presentes na célula eletroquímica eram alimentados por uma fonte de tensão/corrente (Instrutherm®). A medida da corrente utilizada nos experimentos foi monitorada com o auxílio de um multímetro (Minipa®).

Antes de cada medida voltamétrica, 50 varreduras de potencial entre 0,2 V e 0,5 V x Ag/AgCl (3 mol/L) e à 100 mV/s eram realizadas visando-se estabilizar a corrente de fundo. Após esses procedimentos, realizaram-se as medidas do perfil voltamétrico da solução de E2 na concentração de 4 mg/L em Na_2SO_4 0,1 mol/L em pHs 3, 7 e 10. Devido ao baixo sinal (pico de oxidação) obtido em pH 7, a medida foi realizada em uma concentração de 8 mg/L.

b) FIA:

Inicialmente montou-se o sistema de fluxo, utilizando uma bomba peristáltica (Gilson-Minipuls), previamente calibrada, para controlar a vazão, acoplada a um injetor comutador em acrílico, o qual é composto por um linha que transporta a solução carregadora e outra que conduz a amostra ao detector, onde encontram-se os eletrodos de trabalho (ET), de referência (ER) e o contra-eletrodo, conforme esquematizado na FIGURA 2:

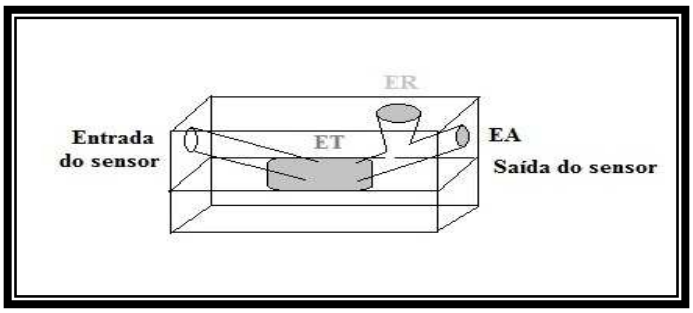


FIGURA 2: Esquema ilustrativo do sensor eletroquímico.

Todas as medidas foram realizadas à potencial constante (Detecção Amperométrica), e antes de se iniciar as medidas aplicava-se um potencial de 2,0 V durante 20 s para remover eventuais impurezas ou algum produto adsorvido sobre a superfície do eletrodo de DDB.

Injeções com E2 na concentração de 2,0 mg/L foram realizadas nos diferentes pHs investigados e a um potencial pré-determinado de acordo com voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para cada pH (ver seção a seguir) variando-se o tamanho da alça de amostragem em 20 cm, 30 cm, 40 cm, 50 cm, 60 cm , 70 cm e 80 cm. Após

determinado o melhor tamanho de alça de amostragem, novas injeções foram realizadas sob as mesmas condições, variando-se as vazões em 1,00 mL/min, 1,25 mL/min, 1,50 mL/min, 1,75 mL/min, 2,00 mL/min, 2,25 mL/min, 2,50 mL/min, 2,75 mL/min e 3,00 mL/min.

b.1.) Voltamograma Hidrodinâmico:

Injeções de E2 na concentração de 2 mg/L foram realizadas variando-se o potencial conforme o intervalo de potencial do pico de oxidação observado em seus respectivos voltamogramas cíclicos de forma a determinar o melhor potencial a ser aplicado para cada condição de pH.

b.2.) Reprodutibilidade:

Determinado o melhor potencial, 10 injeções de E2 na concentração de 2,0 mg/L foram realizadas sucessivamente, todas na mesma condição.

b.3.) Limite de detecção:

O limite de detecção para cada condição foi obtido considerando-se o sinal do pico de corrente como sendo aproximadamente 3 vezes maior do que o ruído.

b.4.) Curva de calibração:

Realizaram-se injeções nas respectivas concentrações de 17 b-estradiol: 0,04 mg/L, 0,07 mg/L, 0,1 mg/L 0,4 mg/L 0,7 mg/L e 1,0 mg/L. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

c) Eletrólise:

As eletrólises foram realizadas em um reator de fluxo, como mostrado na FIGURA 3, utilizando-se como eletrodo de trabalho o DDB (2000-4000 mg/L em Boro, DIACHEM®, Alemanha) com área igual a 36 cm2 e duas placas de aço inoxidável como contra-eletrodo.

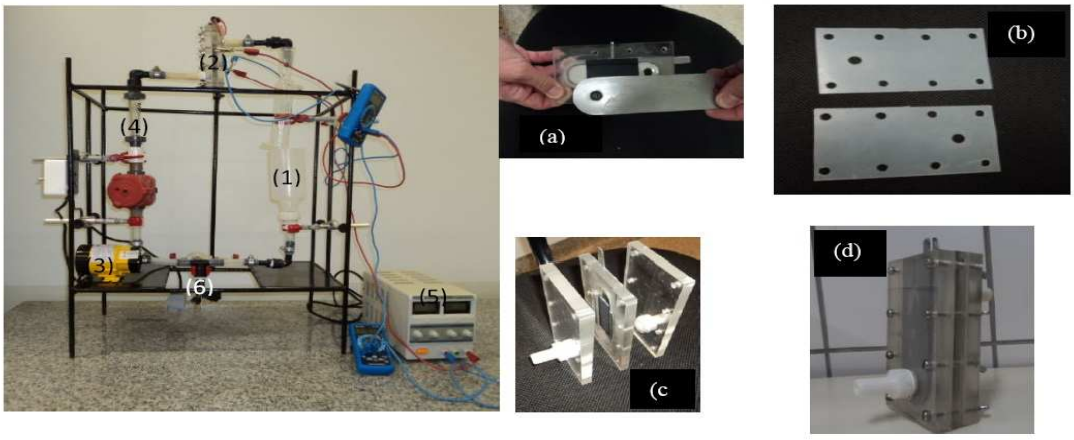


FIGURA 3: Fotografias do sistema experimental e do reator utilizado na eletrólise do 17 β-estradiol.

Conforme a representação acima, o sistema experimental constitui-se da seguinte forma: o reservatório do efluente a ser tratado (1), era conduzido ao reator eletroquímico (2) e (d) por uma bomba de arraste magnético (3), controlada com auxílio de um rotâmetro (4). A fonte de alimentação (5) fornecia corrente para o sistema. As alíquotas para as medidas da degradação do hormônio eram retiradas por meio de uma torneira (6), com o auxilio de um béquer.

Na fotografia do reator eletroquímico, em (a) é onde está embutido o eletrodo de trabalho (DDB) bem como os 2 catodos de aço inoxidável, em (b) são as mantas de silicone, as quais eram colocadas entre cada uma das placas de acrílico do reator, e que servem para evitar vazamentos. Estas placas foram então justapostas (c) e prensadas (d) com o auxílio de porcas e parafusos. A distância entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo, medida com um paquímetro, era de 5,3 mm.

As eletrólises foram realizadas sob densidade de corrente 36 mA/cm2 e concentração inicial de E2 de 1 mg/L, em diferentes pHs (3, 7 e 10). As alíquotas eram retiradas a cada 20 min e, então, submetidas à detecção amperométrica no sistema FIA.

d) CLAE

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram feitas em um aparelho da marca Shimadzu (bomba LC-20 AT). A vazão usada foi de 1,0 mL/min e o comprimento de onda de 280 nm. Foi usada uma coluna C18 (Schim Pack, LC Column CLC-ODS 15 cm) e 20 µL de cada alíquota foram injetados na coluna. Como

fase móvel foi usado solução de tampão fosfato KH_2PO_4 (Synth) na concentração de 0,01 mol/L (pH = 5) e metanol, nas proporções 75:25 (v:v), respectivamente.

4. Resultados e discussão:

4.1. Caracterização voltamétrica

Pelo fato da superfície do eletrodo de DDB ser hidrofóbica é necessária a aplicação de um pré-tratamento no eletrodo com a finalidade de torná-lo hidrofílico, tal como descrito no item 3a deste relatório. Após o pré-tratamento realizaram-se 50 varreduras de potencial apenas na presença do eletrólito suporte com o propósito de estabilizar a corrente de fundo e, em seguida, verificou-se o perfil voltamétrico do 17 β-estradiol em diferentes pHs, utilizando sempre como eletrólito suporte solução de Na_2SO_4 0,1 mol/L.

4.1.1. *Influência do pH*

Ao aplicar-se potencial no intervalo de 0,5 V à 1,2 V x Ag/AgCl (3,0 mol/L),obteve-se o seguinte voltamograma cíclico para o E2, conforme mostrado na FIGURA 4.

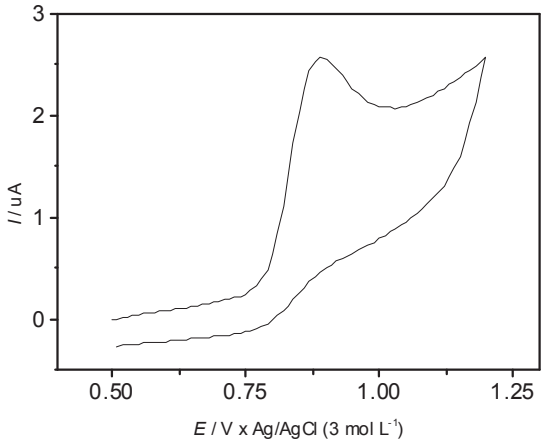


FIGURA 4: Voltamograma cíclico de [E2] = 4 mg/L em pH = 3, em eletrólito suporte Na_2SO_4 0,1 mol/L.

Conforme pode se observar no voltamograma cíclico acima, o hormônio E2 apresenta um pico no potencial de 0,888 V x Ag/AgCl (3 mol/L), correspondente à oxidação do 17 b-estradiol em pH 3. Após o pico de oxidação tem-se o aumento contínuo da corrente, o qual é característico da reação de desprendimento de oxigênio.

Além disso, verifica-se que o processo pode ser caracterizado como irreversível já que nenhum pico reversível de redução foi observado na varredura inversa. Em função dos sinais de corrente de pico obtidos nos experimentos de voltametria cíclica com E2 na concentração de 4 mg/L terem sido um pouco pequenos em pH 7, optou-se por obtê-los dobrando-se a concentração de E2 para 8 mg/L. A FIGURA 5 mostra os resultados dessa medida.

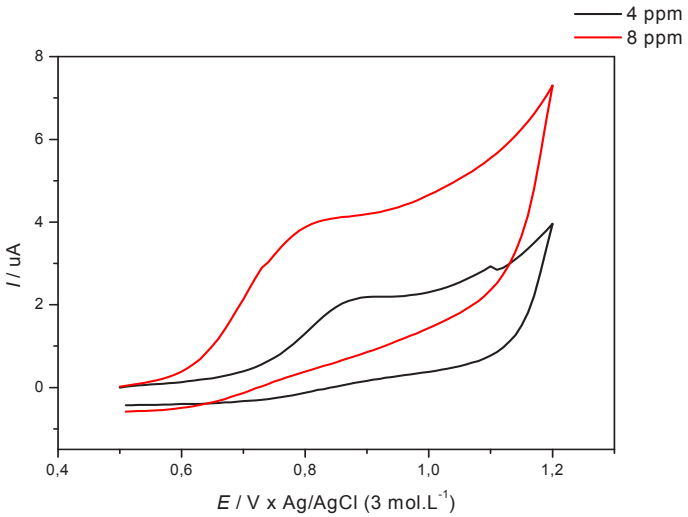


FIGURA 5: Voltamogramas cíclico em pH = 7, com eletrólito suporte Na_2SO_4: em diferentes concentrações de E2.

Conforme pode se observar na FIGURA 5, houve aumento do sinal de E2 com o aumento de sua concentração, conforme esperado. Observa-se um aumento da corrente que se estende até o potencial de pico de oxidação, 0,8 V x Ag/AgCl (3 mol/L). Após o pico de oxidação, observa-se aumento contínuo de corrente característico de reações de desprendimento de oxigênio. Assim como no estudo em pH 3 observa-se apenas um pico de oxidação, o que caracteriza o processo como sendo irreversível.

No caso do voltamograma cíclico obtido em pH 10 (FIGURA 6) observa-se que o pico de oxidação do E2 se dá em 0,48 V x Ag/AgCl (3 mol/L) e, portanto, muito menor quando comparado aos demais pHs. Este fato mostra que o processo de oxidação é favorecido em condições alcalinas uma vez que os potenciais de pico de oxidação foram cada vez menores na medida em que o pH da solução era aumentado.

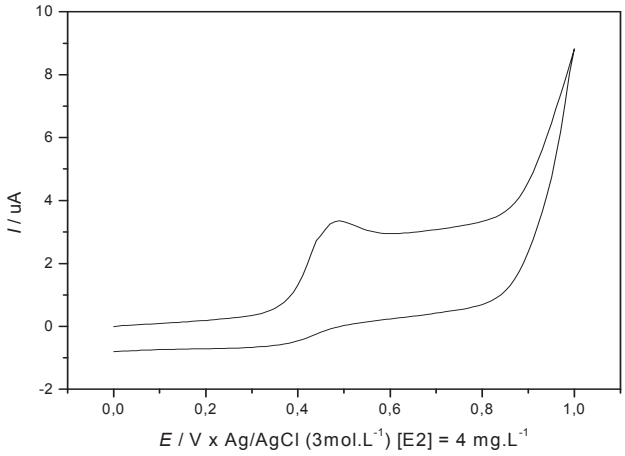


FIGURA 6: Voltamograma cíclico de [E2] = 4 mg/L em pH = 10.

4.2. Análise por injeção de fluxo

4.2.1. Alça de amostragem e vazão

A alça de amostragem é um compartimento que contém uma quantidade de volume de amostra para ser inserida no detector. Desta forma, quando se aumenta o tamanho da alça de amostragem, aumenta-se a quantidade de amostra, o que consequentemente resulta em um aumento no sinal do analito até alcançar-se um limite máximo e constante.[8] O resultado das medidas realizadas com a variável alça de amostragem estão mostrados na FIGURA 7.

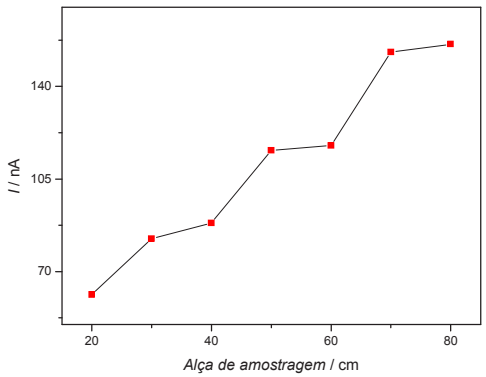


FIGURA 7: Sinais de corrente registrados em função do tamanho da alça de amostragem. [E2] = 2 mg/L, E = 1,0 V.

Com base na figura acima, observa-se que a alça de amostragem de tamanho 70 cm foi a que apresentou o maior valor de corrente registrada. Como a corrente obtida

para a alça de 80 cm manteve-se praticamente inalterada, considerou-se que a melhor alça de amostragem é a de 70 cm pois desta forma trabalha-se com menor quantidade de analito. Considerando-se que o diâmetro da alça é de 0,1 cm, o volume da alça é de 550 µL.

O eletrodo de DDB promove a oxidação da matéria orgânica através de radicais •OH fracamente adsorvidos na sua superfície. Desta forma, para que este processo ocorra é necessário que a espécie orgânica difunda em direção á superfície do eletrodo, ou seja, a oxidação da espécie orgânica será tanto mais eficiente quanto maior for o transporte de massa da espécie em direção à superfície do eletrodo. Assim, o aumento da vazão (ou do transporte de massa) também pode resultar em um aumento no sinal de corrente até que se atinja um limite máximo e constante. Os resultados obtidos das medidas realizadas com a variável vazão são mostrados na FIGURA 8.

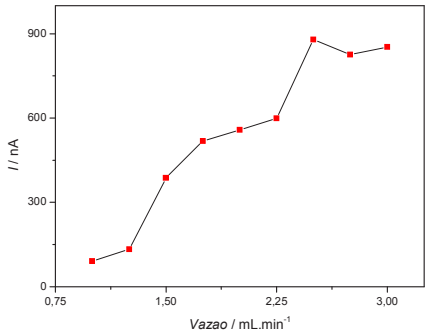


FIGURA 8: Sinais de corrente registrados em função vazão. [E2] = 2 mg/L, alça de amostragem 70 cm e E = 1,0 V.

Conforme pode se observar FIGURA 8, o aumento mais significativo da corrente corresponde à vazão de 2,50 mL/min. Portanto, este é o valor de vazão onde o transporte de massa é maximizado e, assim, todas as medidas posteriores foram realizadas nesta vazão.

4.2.2. Influência do pH

A partir do voltamograma cíclico obtido em pH 3 (FIGURA 4) verificou-se que o E2 responde à aplicação de potencial em um intervalo de potencial de 0,7 V à 1,05 V x Ag/AgCl (3 mol/L). Desta forma, a escolha dos potenciais aplicados para a obtenção

do voltamograma hidrodinâmico foi baseada neste intervalo. Os resultados desta medida são mostrados na FIGURA 9.

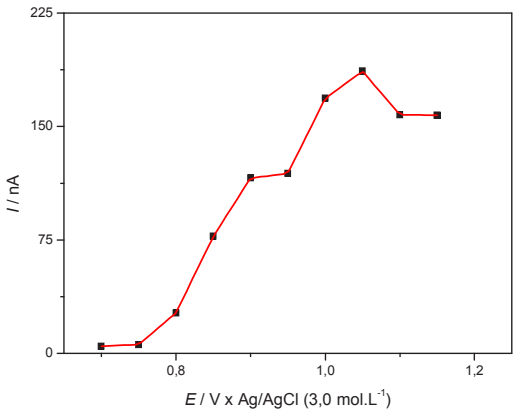


FIGURA 9: Voltamograma hidrodinâmico referente à oxidação do E2 na concentração de 2 mg/L. [Na2SO4] = 0,1 mol/L em pH 3.

Com base no voltamograma hidrodinâmico acima, observa-se que o potencial aplicado que apresenta a melhor resposta para o 17 b-estradiol é de 1,00 V x Ag/AgCl (3 mol/L). Apesar da aplicação do potencial de 1,05 V x Ag/AgCl (3 mol/L) ter resultado em um maior valor de corrente, deve-se considerar que esta região está mais próxima da região característica de desprendimento de oxigênio, o que traria problemas no detector em função do acúmulo de bolhas no sistema.

Uma vez determinada a melhor condição de potencial, a reprodutibilidade da medida foi verificada realizando-se as medidas repetitivamente sob as mesmas condições. A FIGURA 10 mostra os resultados desta medida.

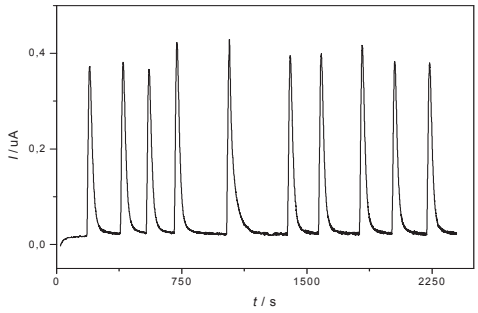


FIGURA 10: Cronoamperograma obtido referente à injeções sucessivas de E2 na concentração de 2 mg/L. [Na2SO4] = 0,1 mol/L em pH 3 e E = 1,0 V x Ag/AgCl (3 mol/L).

A partir do cronoamperograma mostrado acima e medindo-se a altura dos picos, obtém-se um valor médio de 0,3723 mA ± 0,0184 mA. Com base nesse valor médio e desvio padrão, tem-se que o erro relativo à medida é de 4,94 %, erro este aceitável, já que é um valor pequeno, conferindo assim baixa variabilidade nas medidas. Logo, a técnica empregada na detecção de E2 em pH 3 apresenta boa reprodutibilidade.

Com relação ao limite de detecção (LD), o valor alcançado foi de 50 µg/L. Neste caso, Definiu-se o limite de detecção como sendo a concentração correspondente ao sinal que é no mínimo 3 vezes maior que o sinal do ruído. A FIGURA 11 mostra o cronoamperograma obtido no qual foi determinado o LD.

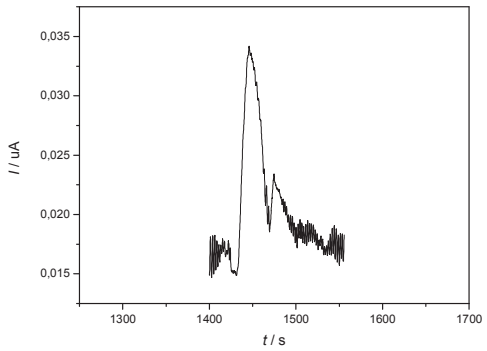


FIGURA 11: Cronoamperograma obtido na determinação do limite de detecção.

De acordo com o cronoamperograma acima, correspondente à injeção de E2 na concentração de 50 µg/L, o pico de oxidação obtido satisfaz o critério definido uma vez que seu tamanho é pelo menos 3 vezes maior do que o sinal do ruído.

Uma vez determinados os melhores parâmetros de análise por FIA, obteve-se a curva de calibração com os respectivos valores de [E2]: 0,04 mg/L, 0,07 mg/L, 0,1 mg/L 0,4 mg/L 0,7 mg/L e 1 mg/L. Medindo-se a altura dos picos e realizando a média de cada injeção (triplicata), obteve-se a seguinte curva de calibração, mostrada na FIGURA 12.

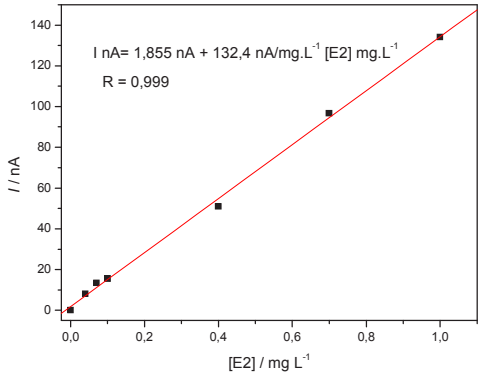


FIGURA 12: Curva de calibração obtida para E2 em pH = 3.

Conforme se observa na curva de calibração acima, aplicando-se uma regressão linear obtém-se a seguinte equação de reta: I(nA) = 1,855 nA + 132,4 nA[E2] (mg/L), com coeficiente de correlação de 0,999. Assim, partindo-se desta equação, é possível determinar a concentração nominal de E2 a partir da corrente registrada na medida.

O mesmo procedimento foi adotado para as medidas realizadas em pH 7 e 10 e a TABELA 2 sumariza os resultados encontrados.

TABELA 2. RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS OBTIDOS NA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE E2 POR FIA.

	pH = 3	**pH = 7**	**pH = 10**
E_{ox} x Ag/AgCl (3 mol/L)	1,0 V	1,05 V	0,65 V
Reprodutibilidade	0,3723 µA ± 0,0184 mA	0,5522 µA ± 0,0256 mA	0,1006 µA ± 0,0054 mA
LD	50 µg/L	15 µg/L	15 µg/L
Equação (curva de calibração)	I(nA) = 1,85 + 132[E2/(mg/L)] R = 0,999	I(nA) = 7,7 + 206[E2/(mg/L)] R = 0,998	I (nA) = 0,71 + 127[E2/(mg/L)] R = 0,997

c) Eletrólise do E2:

Nas eletrólises de degradação do E2 em pHs 3, 7 e 10, realizaram-se leituras de alíquotas nos tempos: 0 min, 20 min, 40 min, 60 min, 80 min, 110 min, 130 min, 150 min e 180 min. Uma vez conhecidos os valores de correntes registrados e a partir da curva de calibração pré-determinada para este pH as respectivas concentrações de E2 foram determinadas e o resultado da cinética de degradação do 17 b-estradiol em pH 3, monitorada pelo detector eletroquímico desenvolvido, está mostrado na FIGURA 13:

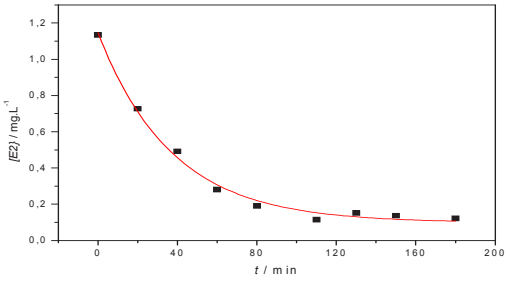


FIGURA 13: Cinética de degradação de 17 β-estradiol em Na_2SO_4 0,1mol/L em pH 3. *i* = 36 mA/cm^2.

Conforme pode se observar na figura acima, a concentração de E2 apresenta um decaimento exponencial. Para determinar ordem cinética da reação de degradação do E2, aplicou-se a lei das velocidades integradas, conforme verificado na equação abaixo:

$$- d[E2]/dt = k[E2] \Rightarrow d[E2]/[E2] = - k\, dt \Rightarrow \ln([E2]t/[E2]_0) = -kt$$

Dessa forma, ao plotar um gráfico do tipo $\ln([E2]t/[E2]_0)$ em função tempo, espera-se que um comportamento linear ocorra para reações de 1ª ordem. A FIGURA 14 mostra a construção deste gráfico.

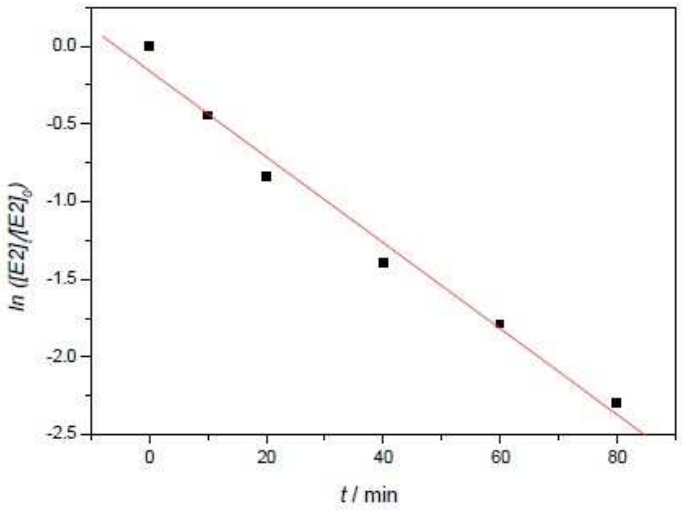


FIGURA 14: ln ($[E2]_t/[E2]_0$) em função do tempo de eletrólise.

Conforme observado pela FIGURA 14, há um comportamento linear entre o $\ln([E2]_t/[E2]_0)$ com o tempo e, portanto, isso evidencia que a reação é de 1ª ordem com relação ao E2, o que este é um comportamento típico de processos controlados por transporte de massa. O valor da constante de velocidade foi obtido a partir do coeficiente angular desse gráfico, resultando em k = 0,0276 min^{-1}.

Nas eletrólises em pH 7 e 10 não foi possível realizar estudo cinético de degradação do E2 devido à formação de intermediários reacionais os quais ocasionaram um aumento no valor da corrente registrada com o tempo. Em outras palavras, como o método FIA não é seletivo o sinal eletroquímico destes intermediários sobrepunha-se ao sinal do E2 resultando no aumento do pico.

Desta forma, as eletrólises foram interrompidas imediatamente e, no sentido de confirmar a presença destes intermediários voltametrias cíclicas foram realizadas e a FIGURA 15 mostra o resultado de uma voltametria cíclica referente à uma alíquota de eletrólise realizada em pH 10.

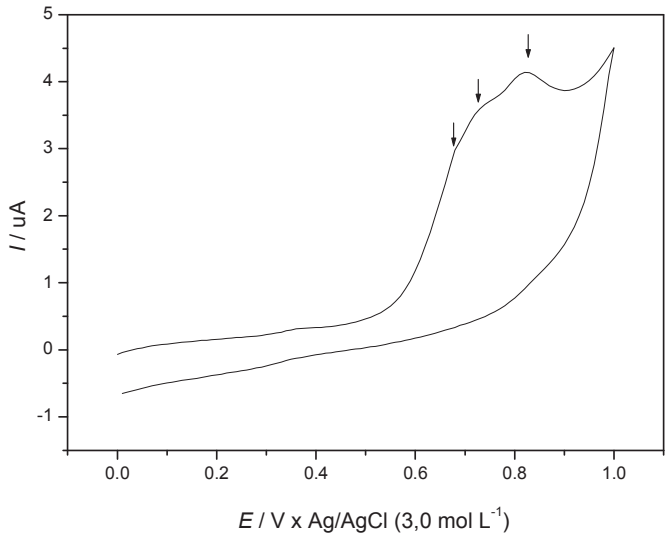


FIGURA 15: Voltamograma cíclico E2, em Na_2SO_4 0,1 mol/L em pH = 10.

Conforme verificado no voltamograma cíclico acima, observa-se claramente a presença de 3 picos de oxidação (marcado com setas na figura) o que é consistente com afirmações previamente colocadas. O pico em 0,65 V refere-se ao próprio E2 enquanto os outros 2 picos à possíveis intermediários, que, por sua vez, oxidam-se juntamente com o E2 na medida por FIA resultando no aumento de corrente já explicitado. Portanto, para que a cinética de degradação do E2 em pH 7 e 10 possa ser monitorada se faz necessário o emprego de uma técnica que separe os compostos presentes na mistura e a técnica que torna isso possível é cromatografia líquida de alta eficiência.

É importante ressaltar que estas medidas por CLAE foram rigorosamente testadas utilizando-se como fase móvel tampão fosfato e metanol. Em todos estes testes não foi detectado nenhum pico de cromatograma resultante do E2. Somente

recentemente outra fase móvel foi testada, trocando-se o solvente metanol por acetonitrila (quando então foi adquirida) e os resultados foram bastante satisfatórios tendo, inclusive, uma curva de calibração já realizada. Desta forma, nos próximos dias estes experimentos serão realizados e os resultados seguramente estarão disponíveis para a apresentação do trabalho no X CONPEEX.

5. Conclusão:

No presente trabalho, foi possível realizar estudo cinético de degradação eletroquímica do 17 β-estradiol por detecção eletroquímica apenas em pH 3, o que permitiu concluir que o eletrodo de diamante dopado com boro apresenta excelente eficiência para a degradação eletroquímica do hormônio E2, resultante de uma cinética de 1ª ordem. A investigação do efeito do pH (7 e 10) nas eletrólises do E2 não foi possível de ser obtida devido a não seletividade da técnica de detecção eletroquímica por FIA. Para estudar a cinética de degradação deste hormônio em diferentes pHs se fez necessário o emprego da técnica de CLAE, o qual já está em andamento. Além disso, no que diz respeito aos estudos de detecção eletroquímica por FIA, o sistema apresentou ótima reprodutibilidade com limites de detecção extremamente baixos e curvas de calibração satisfatórias.

6. Referências Bibliográficas:

1. Murugananthan, M.; Yoshihara, S.;Rakuma, T.; Uehara, N.; Shirakashi, T.; Electrochemical degradation of 17 b-estradiol (E2) at boron-doped diamond (Si/BDD) thin film electrode**. Electrochimica Acta 52**. Japan, 9 November 2006. © 2006 Elsevier Ltd. 3242-3249 pg.;

2. Yoshihara, S.; Murugananthan, M.; Decomposition of various endocrine-disrupting chemicals at boron-doped diamond electrode. **Electrochimica Acta 54**. Japan, 11 July 2008. © 2008 Elsevier Ltd. 2031-2038 pg.;

3. Guedes, M. M. F.; Dezotti, M. W. C.; **Remoção da atividade estrogênica de 17β-estradiol e de 17α-etinilestradiol pelos processos de ozonização e O3/H2O2.** 2008,

192 pg. Tese de doutorado em Engenharia Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de janeiro, 2008;

4. Oliveira, R. P.; Daniel, L. A.; **Formação de subprodutos do estrona e 17bestradiol na oxidação utilizando cloro e ozônio em água.** 2011,192 pg. Tese de doutorado em Ciências (Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2011;

5. Cordeiro, D.; Vieira, E. M.; **Uso de bioindicador de efeito endócrino e validação do método para determinação de hormônios na água da Represa Municipal de São José do Rio Preto, SP.** 2009, 90 pg. Tese de mestrado em Química Analítica, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2009;

6. Evaristo, A. C.; Rocha-Filho, R. C.; **Caracterização eletroquímica de eletrodos de diamante dopado com boro em função de seu pré-tratamento.** 2007, 150 pg. Tese de doutorado em Ciências (Físico-química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007;

7. Pereira, G. F.; Rocha-Filho, R. C.; **Detecção e degradação eletroquímica do Bisfenol A utilizando eletrodos de diamante dopado com boro.** 2011, 91 pg. Tese de mestrado em Química (Físico-química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011;

8. Santos, W. T. P.; Richter, E. M.; **Desenvolvimento de metodologias de análise em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos.** 2009, 126 pg. Tese de doutorado em Química (Química Analítica), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009;

RELATÓRIO FINAL PIBIC/2012-2013[1]

A transmissão do conhecimento feminista dentro de grupos e ONGs no Centro-Oeste brasileiro

Orientadora: Profª Dra. Eliane Gonçalves (elianego@uol.com.br)

Orientanda: Lays B. Vieira Morais (lahbvm@gmail.com)

Faculdade de Ciências Sociais – Universidade Federal de Goiás

Resumo

As organizações feministas há décadas vêm trabalhando em prol dos direitos da mulher e agora, na era das tecnologias de comunicação, emerge uma nova ferramenta de mobilização e produção de conhecimento para o feminismo. Buscando entender como se constrói e se transmite esses ensinamentos dentro das instituições feministas goianas e como estas estão usando para tal fim as redes sociais, a presente pesquisa foi realizada.

PALAVRAS-CHAVE: organizações, feminismo, transmissão, redes sociais.

Frequentemente as análises ignoram que os principais atores nos movimentos populares eram, de fato, atrizes

Elizabeth Souza- Lobo

Introdução

Com apoio do CNPq, o projeto *Estratégias de transmissão intergeracional no feminismo brasileiro*, vinculado, desde 2011, ao Núcleo de Estudos e Pesquisas em Gênero e Sexualidade (SER-TÃO) da Faculdade de Ciências Sociais da UFG, contempla como plano de trabalho, na modalidade PIBIC *Transmissão intergeracional no feminismo brasileiro – mapeamento e caracterização das organizações, grupos e núcleos de estudos de 1980-2010.* Para a consecução deste recorte da pesquisa foi realizado um estudo das organizações feministas do estado de Goiás e Distrito Federal, na tentativa de melhor entender como vem ocorrendo a transmissão do conhecimento feminista.

[1] Texto corrigido pela orientadora.

De acordo com Gonçalves e Pinto (2011), citando Dominique Fougeryrollas-Schwebel (2002) e Dietz (2003), o feminismo pode ser definido como uma luta que se apoia no reconhecimento de que as mulheres são oprimidas específica e sistematicamente e que essa opressão não é intrínseca a natureza, colocando a possibilidade política de sua transformação, e é ainda um movimento político e social, local e global, historicamente constituído, de proposta emancipatória que afirma um sujeito (as mulheres), identifica um problema (a sujeição e objetificação das mulheres), e expressa princípios específicos: igualdade, direitos, liberdade, autonomia, dignidade, auto-realização, reconhecimento, respeito, justiça.

A professora da Unicamp, pós-doutora em Sociologia e secretaria executiva do *Research Committee "Social Movements and Social Classes"*(da Associação Internacional de Sociologia), Maria da Glória Gohn, nos oferece uma boa síntese histórica e didática do feminismo:

> O feminismo no mundo ocidental tem sido classificado em três grandes ondas ou fases. A primeira corresponde à luta pelo reconhecimento legal da igualdade de direitos – voto, trabalho etc. – nos séculos XVIII e XIX e inicio do século XX. A segunda onda corresponde às lutas desenvolvidas pelas feministas entre 1960 e 1980, quando a preocupação com a igualdade se estendeu das leis aos costumes, focalizando temas como sexualidade, violência, mercado de trabalho etc. A categoria gênero surge nesse período. A terceira onda começou em 1990, quando as estratégias foram repensadas e ganhou "ênfase a crítica à construção da imagem feminina pelos meios de comunicação de massa" (Knibiehler 2007, p. 10) [...] As mulheres conduzem e sustentam as transformações culturais atuais (Touraine 2006b) [...] (GOHN, 2008, p. 136)

Apesar da existência de criticas a essa divisão, a manteremos para o melhor entendimento das diferentes épocas, espaços e linguagens presentes na distribuição desigual do pensamento deste movimento. Além da consideração das gerações como marcadores socialmente relevantes no feminismo na transmissão do conhecimento (GONÇALVES E PINTO, 2011).

Por sua vez, o movimento feminista brasileiro pode ser dividido, segundo Novellino (2008), em cinco momentos: feminismo cívico, populista, revolucionário, acadêmico e institucional. Sendo que a presença mais em voga de um ou outro não exclui os demais. Assim, buscando entender essas transformações inerentes ao movimento, a presente pesquisa investiga as vozes deste âmbito no Estado de Goiás e no Distrito Federal, com destaque para as chamadas "jovens feministas", mulheres que estão se inserindo neste universo e buscando se manifestar para além do meio institucional (tais como as redes virtuais ou não).

Objetivo

O plano de trabalho tem como objetivo analisar, a partir da tabela e de questionários resultantes do mapeamento e caracterização das organizações feministas, feita anteriormente, como ocorre a transmissão do conhecimento feminista (técnicas utilizadas, novas formas adotadas etc.) e a partir de referencial teórico tentaremos refletir os mecanismos pelos quais isso se dá.

Metodologia

Na primeira parte da pesquisa, na época realizada pela orientanda de PIBIC Dayse Novais da Silva, foi construído um quadro totalizando 59 ONGs feministas, de diversas localidades no país, obtidas através de buscas no *Google* e no site de busca da ABONG (Associação Brasileira de Organizações Não-Governamentais).

Posteriormente a esse levantamento iniciou-se uma aplicação de questionários (via email) a essas instituições. Inicialmente com 44 questões, o questionário foi reformulado a partir de aplicação de pilotos em Goiânia, no intuito de ser menos cansativo, passando a ter 23 questões que abarcam desde dados históricos (fundação, sede física, equipe, tipos de vínculos de trabalho, tipos de projetos de sustentabilidade etc.), até informações mais específicas sobre transmissão intergeracional, por exemplo, as principais ações estratégicas dirigidas a mulheres jovens.

À primeira vista, a ideia se mostrou ótima (entrevistas via questionário por email), já que o planejamento seria de que as respostas ao serem enviadas de volta seriam computadas automaticamente em uma tabela pré-montada pelas pesquisadoras no *Google docs*[2]. Mas foi justamente isso que se mostrou um problema. Nem todas no grupo entendem a lógica do funcionamento técnico dessa metodologia, consequentemente não sabíamos como operar caso houvesse algum tipo de problema, o que ocorreu, visto que na transmissão dos dados para tabulação alguns pontos ficaram confusos, se duplicaram etc.

Devido a essas dificuldades de cunho técnico, adicionando o fato de que muitas das ONGs para as quais enviamos as perguntas nunca nos retornaram e o pouco tempo que restava de iniciação científica (PIBIC), optamos por escolher, dentre as instituições

[2] É possível criar formulários usando o Google Docs (um serviço gratuito do Google), enviá-los como um link aos grupos ou pessoas e converter as respostas do questionário automaticamente em uma planilha do Excel sem ter de redigitá-las uma a uma.

levantadas, uma de Goiás, uma do Distrito Federal (DF) e confrontar suas formas de ação política com as de um grupo recente e não institucionalizado sobre o qual falaremos.

Inicialmente a pesquisa de cunho quantitativo, através dos questionários, visava recolher informações sobre as organizações envolvidas na analise. Mas em decorrência dos problemas acima descritos, optamos pela técnica da entrevista. Sem respostas por parte do Coturno de Vênus, procuramos algumas das participantes via Facebook. Assim, com base em dados coletados na internet e análise da entrevista da ex-diretora-executiva do Coturno, conseguimos traçar um breve perfil da instituição.

Foi, também, através da análise quantitativa advinda da entrevista, que obtivemos dados concretos sobre a Coletiva. Até mesmo por sua recente constituição, optamos por recolher dados por meio da análise de conteúdo de textos e fotos postados na página do grupo, além da entrevista concedida por uma participante que está no grupo desde sua fundação.

Resultados e Discussões

As organizações mantêm articulações com algum tipo de rede de abordagem mais especifica, como violência e saúde, ou essas redes acabam por aglutinar grupos por todo Brasil (como a Articulação de Mulheres Brasileiras-AMB e a Marcha Mundial das Mulheres-MMM). Mas cada organização mantém sua identidade, suas especificidades, suas demandas e a forma de trabalhar junto às mulheres.

A escolhida para do DF foi a Associação Lésbica Feminista de Brasília-Coturno de Vênus. Fundada em 2005, A Casa Roxa, como é popularmente conhecida sua sede, era palco de encontros e reuniões para se discutir sexualidade, família, direitos, desigualdade, preconceito etc. Nesses momentos era estimulada a problematização, desconstrução e reconstrução de padrões socioculturais como forma combativa. O local também servia para a promoção de oficinas, tais como a de serigrafia. O grupo dava especial enfoque às políticas públicas de combate à lesbofobia e à homofobia.

De acordo com o ELAS - Fundo de Investimento Social, o Coturno recebeu investimento de R$17.000 para projeto de duração de dois anos. Em 2010 lançaram blog e, posteriormente, adquiriram perfis no Facebook e no Twitter (com o desenvolvimento atual dos meios de comunicação, em especial a internet, uma imensa massa de organizações feministas passou a frequentar o ciberespaço e a utilizá-lo como meio de divulgação e de debates, assunto que abordaremos posteriormente). No entanto, apesar da existência de

informações do grupo em blogs, o não reenvio do questionário da pesquisa fez-me questionar se a organização ainda existia, visto que diversas dessas ONGs, por falta de recursos financeiros com o decorrer do tempo, infelizmente, acabam por se findar.

> [...] Por outro lado, são os financiamentos das agências e o apoio do Estado que garantem a atuação das ONGs feministas, cujos projetos são as iniciativas mais efetivas para o empoderamento das mulheres e o consequente fortalecimento do movimento feminista brasileiro (NOVELLINO, 2008).

Sem evidências concretas, parti para um novo meio de investigação: iria tentar achar integrantes do Coturno, via Fecebook. Tentei três participantes (Joelma Cezário, Melissa Navarro e Kaká Verdade), mas apenas a diretora-executiva (ou, no caso, ex-diretora) Joelma me respondeu. Em conversa, informal via Facebook, ela afirma: "a coturno de vênus está de recesso, reformulando ideias e atuações, infelizmente não estou em Brasília mas existem por ai muitas coturneiras" (CEZÁRIO, *texto literal*) .

Com a desatualização das informações em diversos sites e a conversa com Joelma, decidimos passar a outros grupos. A nova estratégia a ser seguida era verificar de que forma Dandara - uma instituição feminista, aqui de Goiânia, que poderíamos leigamente chamar de 'mais tradicional', pelo fato de ser uma ONG, ou seja, ser institucionalizada – e a Coletiva - um grupo de jovens feministas criado em 2012 - que promove ações para a transmissão de conhecimento utilizando as redes sociais como meio de mobilização para atrair novas participantes no estado de Goiás.

Indo de antemão a Novellino, temos O Grupo de Mulheres Negras Dandara no Cerrado. Instituição feminista, com foco na questão de raça/gênero, criado em 2002, na cidade de Goiânia, Goiás. O grupo não possui sede própria, sendo o espaço utilizado por elas alugado, também não recebem apoio nem da iniciativa privada nem da pública. O grupo busca "Transformar o mundo pelo feminismo" promovendo um amplo espaço de debate e reflexões sobre questões de gênero, sexualidade, direitos entre outros com destacado enfoque a categoria raça.

Assim como o Coturno (no passado recente), Dandara promove encontros, palestras, seminários, realiza atividades voltadas a áreas de pesquisas, assessorias, formação temática e articulação política, como a recente Pré-Conferência Municipal de Promoção da Igualdade Racial – Jardim Cerrado VII. Em seu blog, a instituição escreve: *"Convidamos você para participar deste momento de reflexão sobre as políticas públicas de igualdade racial dando a sua contribuição neste processo coletivo"*, o que nos permite perceber um caráter horizontal de construção.

> Diferentemente de outros espaços de organização nos movimentos sociais, o movimento feminista privilegiou uma metodologia que considera a distribuição horizontal de saber e poder entre suas integrantes. Taciana Gouveia observa, a respeito da experiência de transmissão geracional no SOS Corpo – Instituto Feminista para a Democracia (uma das mais antigas organizações feministas brasileiras, ainda atuante) –, que essa distribuição horizontal é fundamental para a transmissão (GONÇALVES E PINTO, 2011).

Mas, apesar da presença do Dandara nas redes sociais, a função destas se restringe mais à divulgação, sendo os debates, reuniões e afins feitos ainda de forma presencial. Em uma outra linha temos a Coletiva Feminista.

Surgido no fim de 2012, em consequência do curso de formação feminista "tramas e redes para mudar o mundo", o intuito era de não se perder os vínculos adquiridos entre as/os participantes das duas edições do curso. Na Coletiva ocorre um misto entre a participação em reuniões presenciais periódicas e a participação virtual. Se por um lado, há diversas discussões abertas no Facebook, por outro, é nas reuniões que se busca a tomada e concretização de decisões mais efetivas, visto que o "grupo presencial" (composto por cerca de 20 pessoas, não fixas) não é o mesmo do Facebook, já que, apesar da divulgação, grande parte dos membros que participam das discussões virtualmente não aparecem nas presenciais.

A Coletiva organiza, entre outras coisas, eventos, oficinas, e defende essa ideia de "ir pra rua" (com panfletagens, por exemplo). Essas ocupações acabam por preencher as pautas das reuniões presenciais. Inevitavelmente, as participantes mais acostumadas à militância acabam encabeçando essas tarefas, privando, em certos casos, algumas participantes e sobrecarregando outras. Mas elas veem isso como parte da formação e da aprendizagem (e não uma hierarquização, o que, na verdade, o grupo prima por evitar), até por que na Coletiva há pessoas de Brasília, Trindade e Anápolis que não podem estar frequentemente em Goiânia devido ao trabalho, aos estudos, etc. Diferentemente do Coturno e do Dandara, a Coletiva é um grupo informal, que ocupa espaços não institucionais.

Atualmente o debate e a produção teórica das feministas formam um campo do processo de conhecimento com múltiplos recortes (Gohn, 2009), além da presença de uma crítica à dominância das mulheres ditas "adultas" no movimento, de um academicismo extremado e da assimetria de capital simbólico.

> As jovens feministas brasileiras, de acordo com as recentes pesquisas com alguns segmentos (Zanetti, 2009, Melo, 2008), não recusam os princípios ou

> bandeiras feministas em si – até porque muitas delas ainda nem foram conquistadas, como é o caso do direito ao aborto legal e seguro –, mas recusam certa forma de organização política, pouco sensível à mudança geracional.A Articulação Brasileira de Jovens Feministas, marcando uma crítica à dominância das mulheres "adultas" no movimento, se define como uma rede constituída por mulheres jovens independentes, de organizações e movimentos: negras, lésbicas, indígenas, quilombolas, rurais, da periferia, sindicalistas e de populações tradicionais e provenientes de diferentes regiões do Brasil. Tem um caráter democrático, suprapartidário, anti-capitalista, anti-racista, anti-patriarcal, anti-lesbofóbico, não sexista, não adultocêntrica, não confessional, não hierárquico e não governamental. É interessante que essa clivagem de geração se dê no interior do movimento feminista, justamente por se mostrar historicamente preocupado com as exclusões [...] (GONÇALVES E PINTO, 2011).

A Coletiva, até mesmo por ter se formado recentemente, está dentro desses grupos que buscam novas formas de transmissão e agregação, encabeçados por jovens.

O momento pelo qual a sociedade capitalista passa, privilegia a tecnologia e os novos meios de comunicação advindos desta. Cheios de prós e contras, esses meios comunicacionais serão abordados aqui apenas como mecanismos facilitadores (imediatismo e encurtamento espacial e temporal, principalmente) da construção e divulgação de ações e práticas feministas. As novas tecnologias de comunicação possibilitam um redimensionamento dos modos de organização de inúmeros movimentos sociais como, por exemplo, o feminismo [...] (LEMOS, 2009).

A Coletiva Feminista utiliza, basicamente, dois mecanismos na internet: grupo de email e um grupo aberto (não possui perfil) para quem se interessar, no Facebook. Com 194 membros, até a formulação do presente texto, entre mulheres e homens (“caráter não sexista”). Nesses grupos, cada membro pode postar o que julgar pertinente, sendo o *post* visível a todos os demais membros e passivo a comentários dos mesmos. Desde o caso Shabana Basij-Rasikh que administra uma escola para meninas no Afeganistão, passando por discussões sobre os estereótipos midiáticos femininos, Marcha das Vadias, divulgação de eventos (como as manifestações anti-Marcone), ensaios fotográficos com temas pertinentes, etc. podem ser encontrados no decorrer da *page* da Coletiva. “A [sic.]co-habitação entre as tecnologias e os movimentos sociais é um fato que marca a contemporaneidade, como por exemplo, o hacktivismo, as rádios comunitárias, dentre outras manifestações” (LEMOS, 2009, p. 8).

Esse ciberfeminismo, destacadamente via Facebook no caso da organização estudada, promove, para além de sua construção identitária e afirmativa, um intenso intercâmbio social

e de ideias que geram um conhecimento emancipatório. Para Szabó (2006) o ciberespaço apresenta três modelos processuais de conhecimento: mecanicista, idealista e ativista. O autor defende o modelo ativista (prática social do sujeito, tanto o sujeito como o objeto mantêm a sua existência objetiva e real, ao mesmo tempo em que atuam um sobre o outro), embasado pelos princípios marxistas de que o humano é um conjunto das relações sociais; o conhecimento é uma atividade prática, sensível e concreta e a ideia de que o conhecimento verdadeiro advém de um processo infinito, visando a verdade absoluta através da acumulação das verdades relativas, o que faz Szabó concluir que o conhecimento não é um produto ou um resultado, mas sim um processo construtivo infinito baseado na interação humana.

Isso cai feito uma luva para o momento atual, visto que o princípio aceito como norteador da internet, e mais marcadamente nas redes sociais, é a interação humana mediada por computador.

> Lévy (2001) destaca que quanto mais o ciberespaço se universaliza, isto é, quanto mais interconectado e interativo, menos totalizável ele se torna, uma vez que cada conexão suplementar e cada indivíduo agregado à rede lhe conferem mais heterogeneidade, mais diversidade de opiniões, e portanto maior possibilidade de construção de conhecimento [...] As interações sociais entre os atores caracterizam as comunidades, e passaram a desempenhar papel importante na produção de conhecimento. De acordo com Recuero (2002), Rheingold foi um dos pioneiros na utilização do termo "comunidade virtual" para os grupos humanos que mantêm relações no ciberespaço, definindo o termo da seguinte forma: as comunidades virtuais são agregados sociais que surgem da Rede [Internet], quando uma quantidade suficiente de gente leva adiante essas discussões públicas durante um tempo suficiente, com suficientes sentimentos humanos, para formar redes de relações pessoais no espaço cibernético. (RHEINGOLD, 1996, apud RECUERO, 2002, p. 6) (SZABÓ, 2006, p. 11).

E complementa:

> Capra (2002) afirma que, graças à internet, as Organizações Não-Governamentais (ONG) têm conseguido se organizar em redes, trocar dados relevantes e mobilizar seus membros com uma rapidez antes inconcebível. O autor destaca que a primeira demonstração do poder de mobilização das ONG pelo ciberespaço se deu por ocasião da preparação das ações conjuntas contra a reunião da Organização Mundial do Comércio (OMC) em Seattle em 1999 (SZABÓ, 2006, p. 13).

Quanto à questão da legitimidade, visto que diversas vezes nos deparamos com criticas sobre o conhecimento via rede mundial de computadores, ela se dá, particularmente, já que este (A coletiva) é um grupo especifico, com ideias e demandas especificas.

Considerações Finais

Antonio Gramsci, já apontava a importância da educação, do adquirir conhecimento, para a formação dos intelectuais orgânicos de cada grupo social frente a tentativa de superar a hegemonia das classes superiores, ou em certos casos para mantê-la. Esses "intelectuais" são, assim, peça importante no processo de tomada de consciência, visto que essa não nasce com o individuo. E estes devem atuar não apenas no discurso, mas também na ação humana (GRAMSCI, 1979). Exemplificado aqui claramente pela Coletiva Feminista, que se apoderou das redes sociais para produzir um discurso de cunho emancipatório, produtor de "novos" intelectuais e que atua não só no nível do discurso, mas também com intervenções no próprio cotidiano de suas (e também seus) integrantes, como vemos em reuniões e oficinas de cartazes, por exemplo.

Não pretendemos aqui, de forma alguma, defender um ou outro dos lugares de produção do conhecimento (via internet ou via presencial), visto a importância que cada um tem dentro de suas especificidades. No decorrer dos nossos estudos, percebemos que, no que se refere à interação humana, construção e transmissão do conhecimento, o ciberespaço se mostra, não como um substituto, mas sim como um parceiro a diversos movimentos sociais.

A emergência das novas tecnologias de comunicação e das chamadas "jovens feministas" tem firmado cada vez mais a presença do feminismo brasileiro nas redes sociais, e contribuído para sua divulgação e disseminação, principalmente por facilitar a formação de grupos informais em um espaço também informal.

A produção acadêmica, militância nas ruas e o ciberativismo são partes importantes dessa nova conjuntura em que se encontra os movimentos sociais na contemporaneidade. Mais do que separá-los, o correto seria (e em muitos casos isso já existe), trabalhar de forma conjunta. E o movimento feminista, focadamente o goiano, vem mostrando os bons resultados possíveis dessa combinação.

Referências

GOHN, Maria da Glória. *Novas Teorias dos Movimentos Sociais*. São Paulo, Ed. Loyola, 2009.

GONÇALVES, Eliane e PINTO, Joana Plaza. *Reflexões e problemas da transmissão intergeracional no feminismo brasileiro.* Cadernos Pagu no.36 Campinas Jan./June 2011. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-83332011000100003&script=sci_arttext

GRAMSCI, Antonio. A formação dos intelectuais. In: *Os intelectuais e a organização da cultura*. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira,1979, p.3-23.

LEMOS, Marina Gazire. *Ciberfeminismo: Novos discursos do feminismo em redes eletrônicas.* São Paulo, 2009 (dissertação de mestrado em Comunicação). Disponível em: http://tecnos.cienciassociais.ufg.br/uploads/410/original_Disserta%C3%A7%C3%A3o_-_Ciberfeminismo__novos_discursos_do_feminino_em_redes_eletr%C3%B4nicas.pdf

SOUZA-LOBO, Elisabeth. O gênero no trabalho: perspectivas teóricas e metodológicas. In: ___ *A classe operária tem dois sexos: trabalho, dominação e resistência*. São Paulo: Fundação Perseu Abramo, 2011.

NOVELLINO, Maria Salet F. *As organizações não-governamentais (ONGs) feministas brasileiras.* Anais do XV Encontro nacional de Estudos Populacionais. Caxambu, MG. Disponível em:

http://201.86.212.89.static.gvt.net.br/destaques/dh/subsidios/dher05/Texto%202%20-%20Novellino%20-%20ONGs%20Feministas%20Brasileiras.pdf

SZABÓ, Inácio. *A construção de conhecimento nas comunidades virtuais do ciberespaç.* Revista da Associação Nacional dos Programas de Pós-Graduação em Comunicação, Dezembro de 2006. Disponível em: https://desenvrepositorio.ufba.br/ri/bitstream/123456789/3851/1/115.pdf

ANÁLISE CITOGENÉTICA-MOLECULAR DOS CASOS DE RETARDO MENTAL AUTOSSÔMICO ATENDIDOS NO LABORATÓRIO DE GENÉTICA DA SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DE GOIÁS

Oliveira, Andrea Santana de (orientada); Silva, Daniela Melo e (orientadora); Cruz, Aparecido Divino da; Melo, Aldaires Vieira de;
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás
silvadanielamelo@gmail.com

RESUMO

O retardo mental (RM) é um dos transtornos neuropsiquiátricos mais comuns em crianças e adolescentes. Cerca de 5% das gestações resultam no nascimento de uma criança com algum tipo de anomalia congênita, deficiência ou doença genética que comprometerá seu desenvolvimento e/ou qualidade de vida. Sua etiologia é heterogênea e as anomalias cromossômicas têm importante contribuição. A aplicação de técnicas de citogenética clássica e de citogenética molecular tem permitido o diagnóstico preciso em muitos casos, proporcionando melhor acompanhamento clínico e aconselhamento genético. O objetivo deste trabalho foi avaliar as principais causas genéticas do retardo mental autossômico, através da investigação de rearranjos cromossômicos pela técnica de cariótipo convencional com bandeamento G (GTG).

Palavras-chave: retardo mental autossômico, Síndrome de Down, citogenética.

REVISADO PELO ORIENTADOR

1. INTRODUÇÃO

O retardo mental (RM) é um dos transtornos neuropsiquiátricos mais comuns em crianças e adolescentes[1]. É definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) por um quociente de inteligencia (QI) menor que 70, e caracterizado por comprometimento de habilidades manifestadas durante o período de desenvolvimento e que contribuem para o nível global de inteligência, ou seja, habilidades cognitivas, de linguagem, motora e sociais (Classificação Internacional de Doenças, CID-10, versão 2007). O RM manifesta-se antes dos 18 anos e não pode ser diagnosticado antes de a criança completar 5 anos, quando as medidas de inteligencia são confiáveis para se aplicar o teste de QI. Para crianças com menos de 5 anos, o termo atraso de desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM) é usualmente utilizado[2].

Condições geneticamente determinadas acometem milhões de famílias em todo o mundo. A taxa de prevalência de deficiência mental é de 2% a 3% da população geral[3]. Cerca de 5% das gestações resultam no nascimento de uma criança com algum tipo de anomalia congênita, deficiência ou doença genética que comprometerá seu desenvolvimento e/ou qualidade de vida. Mais de 40% dos casos de retardo mental grave são causados por doenças monogênicas ou anomalias cromossômicas[4].

Estudos genéticos envolvendo RM constituem uma área promissora na genética médica, devido à elevada heterogeneidade clínica e alélica dos casos, e graças há complexidade das bases genéticas e moleculares associadas a esse fenótipo. De acordo com as manifestações clínicas, o RM pode ser dividido em duas categorias: RM sindrômico (associa-se a manifestações clínicas, radiológicas, metabólicas ou biológicas) e o RM não sindrômico ou inespecífico, no qual o RM é o único achado clínico evidente na patologia em questão[5].

Como já mencionado, entre as causas de retardo mental mais frequentes estão as anomalias cromossômicas, nas quais se observa uma grande proporção de portadores de RM grave e um fenótipo com múltiplas malformações. São detectadas em 4% a 28% dos casos, dependendo da seleção dos pacientes e da sensibilidade das técnicas empregadas. Algumas anomalias cromossômicas conhecidas também podem ser identificadas em pacientes com RM, mas com um fenótipo dismórfico mínimo[6].

Mais de 50% dos casos de RM ainda são considerados idiopáticos[7]. Entretanto, o uso de metodologias mais recentes evidenciaram que 10% a 25% dos casos de RM envolvem rearranjos muito pequenos, subteloméricos ou intersticiais[8]. Rearranjos crípticos envolvendo as regiões subteloméricas são provavelmente as causas mais frequentes de RM idiopático, detectados em aproximadamente 5% destes indivíduos[7].

REVISADO PELO ORIENTADOR

Atualmente, sabe-se que o cariótipo com bandeamento G é o exame citogenético inicial indicado para pacientes com suspeita de rearranjos cromossômicos[9]. Os cromossomos metafásicos dos pacientes são analisados com resolução de 400 a 550 bandas. No entanto, alterações cromossômicas que afetam segmentos menores que 5 Mb, não são detectadas nesse nível de resolução. Alem disso, alterações maiores podem passar despercebidas dependendo do padrão de bandas das regiões afetadas. Técnicas mais específicas, como FISH (*Fluorescente in situ Hybridization*), permitem avaliar pequenas perdas e ganhos de material genético, com uma elevada resolução[10].

Este trabalho tem como objetivo analisar as possíveis causas genéticas do retardo mental, através da investigação de rearranjos cromossômicos pela técnica de cariótipo convencional com bandeamento G (GTG), como também relacionar a incidência de RM com as síndromes mais comuns diagnosticadas pelo Laboratório de Genética da Secretaria da Saúde do Estado de Goiás.

2. METODOLOGIA

2.1.Grupo amostral

O presente estudo foi conduzido no Núcleo de Pesquisas Replicon (NPR/PUCGO) e no LaGene–SES/GO (Secretaria Estadual de Saúde). Foram analisados 45 pacientes, de ambos os sexos, com indicação clínica de RM autossômico idiopático, conforme encaminhamento médico dos pacientes por médicos credenciados nas redes municipal e estadual do Estado de Goiás.

2.2. Seleção de pacientes

Os pacientes com indicação clínica de RM, foram encaminhados ao LaGene-SES/GO por médicos assistentes das redes municipal e estadual de Goiás. Após esclarecimentos sobre o projeto, os pacientes foram convidados a participar e aqueles que concordarem assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), além de questionários contendo dados clínicos dos pacientes.

2.3. Obtenção das Amostras Biológicas

Foram coletados no Núcleo de Pesquisas Replicon – Departamento de Biologia – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 10 mL de sangue periférico heparinizado, por punção venosa de cada participante e de seus pais biológicos. Após a coleta, 2 mL de sangue dos pacientes foram encaminhados para o Laboratório de Citogenética para a realização do cariótipo com bandamento GTG. Os demais 8 mL de sangue (e os 10 mL totais coletados dos pais) foram centrifugados para a obtenção do anel leucocitário e armazenado em microtubos de criopreservação à temperatura de –

20ºC para posterior extração de DNA.

2.4. Estudo Cromossômico por Bandamento GTG (Cariótipo Convencional)

Foram realizadas culturas de linfócitos T do sangue periférico em curto prazo (48 horas), conforme os protocolos convencionais para a obtenção de cromossomos metafásicos, para a avaliação cariotípica. As amostras de sangue periférico foram cultivadas em meio de cultura *RPMI–1640*® com L–glutamina (*GIBCO*) suplementado com 10% de soro fetal bovino® (*GIBCO*), fitohemaglutinina® (*GIBCO*) e antibióticos por 48 horas. As culturas celulares foram bloqueadas pela adição de colcemid® (*SIGMA*) à 16µg/mL, seguida pela hipotonização por KCl (*MERCK*) à 0,075M e fixadas em solução álcool–ácida de Carnoy.

Utilizando lâminas limpas, as amostras foram gotejadas, secas e envelhecidas para a realização do bandamento GTG e posteriormente tratadas em solução de tripsina (*INVITROGEN*) diluída em tampão PBS (*INVITROGEN*, *GIBCO*) a 0,25% e coradas em solução Giemsa (*GIBCO*) a 4%.

Para cada paciente com retardo mental idiopático foram analisadas 25 metáfases, utilizando microscopia *AxioImage*2® (*CARL ZEISS*, Alemanha) com platina motorizada, controlada pelo sistema de escaneamento de lâminas *Metafer4*® (*METASYSTEMS*, USA). A análise cromossômica e o pareamento dos cromossomos foram realizados utilizando o software *IKAROS*® (*METASYSTEMS*, EUA). Após a análise, todas as amostras e lâminas foram arquivadas no Laboratório de Citogenética e Genética Molecular Humana (LaGene-SES/GO). Os resultados obtidos, incluindo o registro cariotípico dos pacientes, foram anexadas à ficha dos mesmos, e consultadas para a realização do presente trabalho.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a realização deste trabalho, foram selecionados 45 pacientes com indicação clínica de retardo mental, atendidos pelo LaGene/SESGO no período de Agosto de 2012 à Julho de 2013. As variáveis escolhidas para serem analisadas neste artigo foram: sexo, idade, indicação clínica e registro cariotípico dos pacientes, discutidas e listadas nos gráficos e tabelas a seguir.

Do grupo amostral composto por 45 pacientes, 27 (60%) eram do sexo feminino e 18 (40%) do sexo masculino, conforme demonstrado na Figura 1. A idade dos pacientes atendidos variou de 6 dias à 80 anos, concentrando-se na faixa etária de crianças de até 2 anos de idade, responsável por 56,7% dos pacientes analisados (tabela 1). A principal indicação clinica para a realização do cariótipo foi a suspeita de Síndrome de Down, com 40% do total das indicações clínicas, seguido de Síndrome de Turner, Síndrome 'a esclarecer', baixa estatura, geração de filho

com Síndrome de Freeman Sheldan, ADNPM (Atraso do Desenvolvimento neuropsicomotor), face sugestiva de síndrome genética, geração de filho com síndrome de Down, genitália ambígua, síndrome mielodisplásica e malformações diversas (tabela 2).

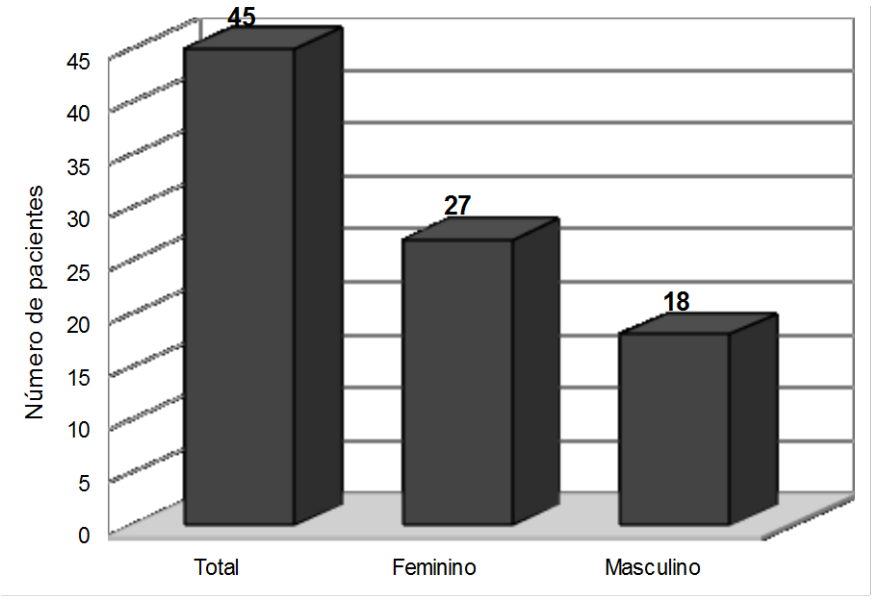


Figura 1. Número de pacientes com indicação clínica relacionada ao retardo mental atendidos pelo Laboratório de Genética da Secretaria da Saúde do Estado de Goiás, no período de Agosto de 2012 à Julho de 2013, de acordo com o sexo.

Através de técnicas de citogenética clássica (cariótipo convencional com bandeamento G), o cariótipo de grande parte dos pacientes analisados neste estudo foi elucidado. Mais da metade dos pacientes, ou seja 51,1%, apresentaram registro cariotípico referentes à síndrome de Down, 20% não tiveram o seu cariótipo determinado, 17,7 % apresentaram cariótipo normal, e o restante apresentou outras alterações cromossômicas, como as encontradas na síndrome de Turner, na síndrome de Patau e na síndrome do Duplo Y (ver tabela 3).

Esses resultados são condizentes com outras pesquisas já realizadas. De acordo com Rittey[11], a síndrome de Down ou trissomia do 21 é a causa mais comum de RM, e sua incidência aproximada é de 1:800 nascidos vivos. Mais de 90% dos casos decorrem da não-disjunção de origem materna, mas alguns originam-se de translocação ou mosaicismo. Outros estudos já mencionam que até 20% do total de crianças com RM têm síndrome de Down[12].

REVISADO PELO ORIENTADOR

Tabela 1. Faixa etária dos 45 pacientes com indicação clínica relacionada ao retardo mental atendidos pelo Laboratório de Genética da Secretaria da Saúde do Estado de Goiás.

Faixa etária	Número de pacientes	Percentual
Até 2 anos de idade	26	57,8%
Idade entre 2 e 15 anos	9	20%
Acima de 15 anos de idade	9	20%
Idade não informada	1	2,2%

Tabela 2. Indicação clínica dos pacientes com retardo mental, atendidos pelo Laboratório de Genética da Secretaria da Saúde do Estado de Goiás.

Indicação clínica	Número de pacientes	Percentual
Síndrome de Down	18	40%
Síndrome de Turner	9	20%
Síndrome 'a esclarecer'	5	11,11%
Baixa estatura	3	6,66%
Filho com Síndrome de Freeman Sheldan	2	4,44%
ADNPM*	2	4,44%
Facie sugestiva de síndrome	2	4,44%
Filho com síndrome de Down	1	2,22%
Genitália ambígua	1	2,22%
Síndrome mielodisplásica	1	2,22%
Malformações diversas + fenda palatina	1	2,22%

*ADNPM= atraso no desenvolvimento neuropsicomotor

Tabela 3. Registro cariotípico dos 45 pacientes com indicação clínica relacionada ao retardo mental atendidos pelo Laboratório de Genética da Secretaria da Saúde do Estado de Goiás.

Registro Cariotípico	Número de Pacientes	Percentual
Síndrome de Down	23	51,11%
Cariótipo indeterminado	9	20%
Cariótipo normal	8	17,77%
Outras anomalias cromossômicas	2	4,44%
Síndrome de Turner	1	2,22%
Síndrome de Patau	1	2,22%
Síndrome do Duplo Y	1	2,22%

REVISADO PELO ORIENTADOR

A prevalência do Retardo Mental no Brasil é apenas uma estimativa. De acordo com um censo realizado pela Organização das Nações Unidas & Confederação Nacional dos Bispos do Brasil[13], cerca de 5% da população brasileira em 1987 apresentava algum tipo de RM, porém a grande heterogeneidade etiológica do RM, diante da limitação da algumas ferramentas diagnósticas, por exemplo, muitas vezes dificulta o planejamento familiar e aconselhamento genético[14].

Alterações cromossômicas que afetam segmentos menores que 5 Mb, denominadas crípticas, não são detectadas ao nível de resolução fornecida pela citogenética clássica[15], o que limita a sua utilização exclusiva no diagnóstico de retardo mental, sendo necessária assim a utilização de ferramentas complementares que maximizem a análise em nível cromossômico, e que facilitem cada dia mais a elucidação das causas deste transtorno psiquiátrico. Essa dificuldade é perfeitamente observada no presente estudo, quando se verifica que 20% dos pacientes não tiveram o seu cariótipo determinado (tabela 3), o que é justificada pela baixa sensibilidade da citogenética clássica diante aos diversos mecanismos de alterações cromossômicas encontradas no retardo mental.

A seguir, encontra-se a Tabela 4, apresentando um resumo das principais características epidemiológicas e cariotípicas de cada um dos 45 pacientes avaliados neste estudo.

Tabela 4 – Resumo das características epidemiológicas e cariotípicas dos 45 pacientes com indicação clínica relacionada ao retardo mental, atendidos no Laboratório de Genética da Secretaria da Saúde do Estado de Goiás.

Paciente	Indicação Clínica	Idade	Sexo	Registro Cariotípico
A.M.L.S	Síndrome de Turner	25 anos	F	45,X (Síndrome de Turner)
B.C.C.C	Síndrome 'a esclarecer'	2 meses	F	47,XY,+13 (Síndrome de Patau)
F.V.M.	Síndrome de Down	6 meses	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
P.H.B.S	Síndrome de Down	6 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
J.L.S.S.	Filho com Síndrome de Down	30 anos	F	Necessita melhor julgamento clínico
N.A.S	ADNPM*	10 anos	M	47,XYY (Síndrome do Duplo Y)
K.G.S.P.	Síndrome de Down	2 meses	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
H.F.S	Síndrome de Down	4 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
S.A.G.M.B	Síndrome de Down	2 meses	F	47,XX,+21 (Síndrome de

REVISADO PELO ORIENTADOR

				Down)
D.B.G.	Baixa Estatura	8 anos	F	46,XX (cariótipo normal para o sexo feminino)
E.S.V	Filho com Síndrome de Freeman Sheldan	25 anos	F	46,XX (cariótipo normal para o sexo feminino)
J.N.X.G.	Filho com Síndrome de Freeman Sheldan	28 anos	M	46,XY (cariótipo normal para o sexo masculino)
K.P.A.	Síndrome de Turner	7 anos	F	Necessita melhor julgamento clínico
B.F.O.	Síndrome de Turner	14 anos	F	Necessita melhor julgamento clínico
Rn de D.G.GL	Genitália ambígua	3 meses	F	Necessita melhor julgamento clínico
Rn de L.S.C.	Síndrome de Down	1 mês	F	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
J.V.U.	Síndrome de Down	2 meses	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
L.P.P.	Síndrome de Down	1 mês	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
D.V.	Síndrome mielodisplásica	80 anos	M	46,XY (cariótipo normal para sexo masculino)
P.G.C.S.	Síndrome de Down	6 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down
I.R.M.	Síndrome de Down	3 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
Rn de J.R.L.G	Síndrome de Down	2 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
E.C.T.	Síndrome 'a esclarecer'	1 ano	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
P.L.C.S.	Síndrome 'a esclarecer'	13 anos	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
Rn de A.B.P.	Síndrome de Down	6 dias	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
I.M.A	Facie sugestiva de síndrome	2 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
S.D.	Síndrome de Turner	17 anos	F	46,XX, inv (9) (p21;q31); i(xq)
Rn de K.S.L	Mal formações diversas + fenda palatina	1 mês	F	Necessita melhor julgamento clínico
Y.R.O.	Síndrome de Turner	9 anos	F	Necessita melhor julgamento clínico

REVISADO PELO ORIENTADOR

Rn de R.A.P.	Síndrome 'a esclarecer'	N/a	M	Necessita melhor julgamento clínico
R.R.A.	Baixa estatura	5 anos	F	Necessita melhor julgamento clínico
F.B.F.	Baixa estatura	16 anos	F	Necessita melhor julgamento clínico
J.V.M.S.	Facie sugestiva de síndrome	3 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
A.V.P.S.	Síndrome de Down	1 ano	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
P.O.G.O.	Síndrome de Down	9 meses	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
Y.V.S.R.	Síndrome de Down	3 meses	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
L.E.F.S.	Síndrome de Down	1 mês	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
P.R.F.	Síndrome de Down	4 meses	F	47,XX,+21 (Síndrome de Down)
Rn de D.L.S.	Síndrome de Down	1 mês	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
M.A.C.	ADNPM*	2 anos	M	46,XY, t(1;13) (p21;q33)
K.P.S.	Síndrome 'a esclarecer'	12 anos	M	47,XY,+21 (Síndrome de Down)
D.D.A.R.	Síndrome de Turner	8 anos	F	(46,XX) (cariótipo normal para o sexo Feminino)
G.R.S	Síndrome de Turner	13 anos	F	46,XX (cariótipo normal para o sexo feminino)
A.L.P.M.	Síndrome de Turner	40 anos	F	46,XX (cariótipo normal para o sexo feminino)
M.R.N	Síndrome de Turner	30 anos	F	46, XX (cariótipo normal para o sexo feminino)

F= feminino M= masculino
*ADNPM= atraso no desenvolvimento neuropsicomotor
Mitógeno utilizado: fitohemaglutinina

4. CONCLUSÃO

Diante os resultados obtidos neste trabalho, verificamos que cerca de 60% dos indivíduos investigados apresentaram anomalias cromossômicas como possível causa do retardo mental. Em 20%, foi impossível detectar o cariótipo pela técnica utilizada, e em 17,7% o cariótipo foi normal. Este estudo reforça a necessidade da uma investigação citogenética-molecular mais profunda em indivíduos portadores de retardo mental e atraso psicomotor, rastreando aberrações cromossômicas

REVISADO PELO ORIENTADOR

numéricas ou estruturais através do emprego de técnicas complementares à citogenética clássica, aperfeiçoando assim o diagnóstico, prognóstico e aconselhamento genético das famílias afetadas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho faz parte de um projeto da rede Pró Centro-Oeste e envolve um estudo mais aprofundado das causas genéticas e genômicas do retardo mental autossômico, que inclui análises mais específicas das alterações cromossômicas, possivelmente encontradas em pacientes com RM, com a utilização de outras ferramentas citogenética- moleculares, tais como FISH (*Fluorescente in situ Hybridization)* e o MLPA® (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), que não entraram na presente abordagem, mas que são consideradas ferramentas de grande importância no diagnóstico diferencial do RM.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Croen LA, Grether JK, Selvin S. The epidemiology of mentalretardation of unknown cause. *Pediatrics*. 2001;107(6):e86.

2. SHAFFER, L. G. American College of Medical Genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation. *Genet Med*, v. 7, n. 9, p. 650-4, 2005.

3. ROELEVELD, N. *et al*. The prevalence of mental retardation:a critical review of recent literature. *Dev Med Child Neurol*, v. 39, n. 2, p. 125-32, 1997.

4. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Global strategies to reduce the health–care burden of craniofacial anomalies. Geneva: WHO, 2002a, 148p.

5. Chelly J, Khelfaoui M, Francis F, Chérif B, Bienvenu T. Genetics and pathophysiology of mental retardation. *Eur J Med Genet* 2006;14:701-13.

6. Guitart-Feliubadaló M; Brunet-Vega A; Villatoro-Gómez S; Baena-Diez N; Gabau-Vila E. Causas Cromosómicas que originan El retraso mental: alteraciones cromosómicas diagnosticables em El paciente. *Rev neurol.* (2006); 42 (supl 1): 821-826.

7. DE VRIES, B. B. *et al*. Telomeres: a diagnosis at the end of the chromosomes. *J Med Genet*, v. 40, n. 6, p. 385-98, 2003.

8. MILLER, D. T. *et al*. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*, v. 86, n. 5, p. 749-64,2010.

9. SHAFFER, L. G. American College of Medical Genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation. *Genet Med*, v. 7, n. 9, p. 650-4, 2005.

REVISADO PELO ORIENTADOR

10. TRASK, B. J. Fluorescence in situ hybridization: applications in cytogenetics and gene mapping. *Trends Genet*, v. 7, n. 5, p. 149-54, 1991.

11. Rittey CD. Learning difficulties: what the neurologist needs to know. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2003;74 Suppl I:30-36.

12. Schaefer GB, Bodensteiner JB. Evaluation of the child with idiopathic mental retardation. Ped Clin North Am. 1992;39(4):929-43.

13. Organização das Nações Unidas e Confederação Nacional dos Bispos no Brasil - ONU e CNBB. *Coordenadoria de Educação Especial do Estado do Rio de Janeiro*, 1994.

14. Llerena Jr JC, Cabral de Almeida JC. Cytogenetic and molecular contributions to the study of mental retardation. Genetics and Molecular Biology 1998; 21(2): 273-279.

15. XU, J.; CHEN, Z. Advances in molecular cytogenetics for the evaluation of mental retardation. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, v. 117C, n. 1, p. 15-24, 2003.

REVISADO PELO ORIENTADOR