



**UVV**

# **CONEXÕES CIENTÍFICAS MULTIDISCIPLINARES E INTERDISCIPLINARES**

*MULTIDISCIPLINARY AND INTERDISCIPLINARY  
SCIENTIFIC CONNECTIONS*

**Arquivos da Iniciação Científica e Tecnológica e da  
Pós-Graduação *Stricto Sensu***

**Volume 2**

**Carlos Eduardo Tadokoro  
Alessandro Coutinho Ramos**

**Carlos Eduardo Tadokoro  
Alessandro Coutinho Ramos**

**CONEXÕES CIENTÍFICAS  
MULTIDISCIPLINARES E  
INTERDISCIPLINARES**

**1ª edição  
Volume 2**

**Vila Velha  
2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C747 Conexões científicas multidisciplinares e interdisciplinares  
volume 2 / organização Carlos Eduardo Tadokoro,  
Alessandro Coutinho Ramos.

Vila Velha, ES : Diálogo Comunicação e Marketing, 2024.

186 p. : il. foto. color. ; 29 cm.

ISBN 978-65-6013-116-3

1. Iniciação científica - Relatórios. 2. Pesquisa científica.  
I. Tadokoro, Carlos Eduardo. II. Ramos, Alessandro  
Coutinho.

CDD – 378.0072

Bibliotecária Amanda Luiza de Souza Mattioli Aquino – CRB5 1956

# CONEXÕES CIENTÍFICAS MULTIDISCIPLINARES E INTERDISCIPLINARES

Volume 2

Uma publicação destinada a Inovação, Ciência, Política, Cultura e Conhecimento.

Editores:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Tadokoro

Prof. Dr. Alessandro Coutinho Ramos

Dezembro de 2024

## Universidade Vila Velha

Presidente da SEGEX ON – Mantenedora UVV

José Luiz Dantas

Vice-Presidente da SEGEX ON – Mantenedora UVV

Adriana Dantas

Reitora

Denise Coutinho Endringer

Vice-Reitor

Rafael S. Galveas Oliveira

Pró-reitor de Pesquisa, Pós-graduação e Extensão

Alessandro Coutinho Ramos

Pró-reitora Acadêmica

Gesiane Silveira Pereira

Pró-reitor de Educação à Distância

Cristiano Biancardi

Coordenadores de programas de Pós-Graduação *stricto sensu*

Augusto Cesar Salomão Mozine

Christiane Mileib Vasconcelos

Fabio Ribeiro Braga

Girlandia Alexandre Brasil

Marcio Fronza

Marco Aurélio Borges Costa

Melissa Ramos da Silva Oliveira



# UVV

## Membros da PRPPGE:

Dr. Alessandro Coutinho Ramos  
Pró-Reitor de Pesquisa,  
Pós-Graduação e Extensão

Dr. Carlos Eduardo Tadokoro  
Coordenador/Gestor de Iniciação Científica  
e Inovação

Dr. Pablo Silva Lira  
Coordenador/Gestor de Pesquisa

Dra. Maria Aparecida Javarini  
Coordenadora/Gestora de Extensão

Dr. Neil Palacios Albaneses Junior  
Coordenador/Gestor de Relacionamento  
Academia-Indústria

Elizabeth da Silva Galveas Oliveira Vedoato  
Gerente de Controle-Financeiro

Francielle André de Paula Vieira  
Analista Administrativa

Flávia da Costa Souza Miranda  
Analista Administrativa

Edson Rodrigues Pereira Filho  
Analista Administrativo

Pamela Fonseca de Souza  
Analista Administrativa

Daniele Sereno de Souza Ferrari  
Assistente Administrativa

Beliande Rissi Diamantino  
Assistente Administrativa

Silvia Maria Machado  
Auxiliar administrativa

## CONEXÕES CIENTÍFICAS MULTIDISCIPLINARES E INTERDISCIPLINARES

*“Inovando na Iniciação Científica, melhorando a  
formação dos nossos alunos de Graduação”*

Editoração:

Dr. Carlos Eduardo Tadokoro

Comissão Científica:

Dr. Carlos Eduardo Tadokoro

Coordenador/Gestor de Iniciação Científica  
e Inovação

Dr. Augusto Cesar Salomão Mazine

Coordenador do Programa de Pós-Graduação  
em Sociologia Política

Dra. Christiane Mileib Vasconcelos

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação  
em Biotecnologia Vegetal

Dr. Fabio Ribeiro Braga

Coordenador do Programa de Pós-Graduação  
em Ciência Animal

Dra. Girlandia Alexandre Brasil

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação  
em Assistência Farmacêutica

Dr. Marcio Fronza

Coordenador do Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Farmacêuticas

Dr. Marco Aurélio Borges Costa

Coordenador do Programa de Pós-Graduação  
em Segurança Pública

Dra. Melissa Ramos da Silva Oliveira

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação  
em Arquitetura e Cidade

## Comitê de Iniciação Científica:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Tadokoro

Coordenador/Gestor de Iniciação Científica  
e Inovação

Profa. Dra. Ana Carolina Srbek de Araújo

Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Prof. Dr. Alexandre Bessa Martins Alves

Docente do Programa de Pós-Graduação em Arquitetura e Cidade

Prof. Dr. Gabriel Augusto Marques Rossi

Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Profa. Dra. Jaqueline Oliveira Bagalho

Docente do Programa de Pós-Graduação em Segurança Pública

Profa. Dra. Melissa Ramos da Silva Oliveira

Docente do Programa de Pós-Graduação em Arquitetura e Cidade

Profa. Dra. Talita Mariana M. Raposo Ferreira

Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

### *Sobre a obra:*

*Este livro, resultado dos esforços de nossos alunos e orientadores, é uma coletânea de capítulos baseados nos relatórios de iniciação científica desenvolvidos ao longo de um ano. Os capítulos foram organizados em ordem alfabética (nomes dos primeiros autores), promovendo a leitura de temas de diferentes áreas do conhecimento, o que fomenta a interdisciplinaridade e a multidisciplinaridade – elementos indispensáveis para a ciência contemporânea.*

*Os quatro primeiros volumes compreendem relatórios completos, com os resultados obtidos durante o período da Iniciação Científica. Já o quinto volume reúne os relatórios de alunos que publicaram suas pesquisas em revistas ou demais mídias, que submeteram seus resultados para publicação, ou ainda, que estão prestes a submissão. Em todos volumes, os resultados apresentados, em sua forma, quantidade, qualidade e conteúdo, são de inteira responsabilidade dos autores de cada capítulo.*

*Espero que esta obra inspire outros alunos a se aventurarem na iniciação científica, compreendendo sua importância não apenas para a formação acadêmica, mas também para o desenvolvimento de uma carreira profissional mais sólida e inovadora.*

Carlos E. Tadokoro

Doutor em Ciências pela Universidade de São Paulo  
Mestre em Ciências pela Universidade de São Paulo  
Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo  
Coordenador de Iniciação Científica e Pesquisa  
Universidade Vila Velha

*Prefácio*

A iniciação científica representa uma experiência transformadora, constituindo-se em um componente fundamental para a formação acadêmica de estudantes e para o desenvolvimento de futuros pesquisadores e cientistas. Por meio dela, os estudantes têm a oportunidade de imersão no universo da pesquisa, participando de investigações que vão além do aprendizado teórico, explorando problemas reais e contribuindo para o desenvolvimento de conhecimentos que impactam diretamente o ambiente e a sociedade.

Ao participar de projetos de iniciação científica, os alunos não apenas adquirem conhecimentos técnicos e metodológicos, mas também desenvolvem competências, como pensamento crítico, análise de dados, escrita acadêmica e comunicação científica. Além disso, a iniciação científica estimula a curiosidade intelectual e a criatividade dos estudantes, incentivando-os a questionar, investigar e buscar soluções inovadoras para questões relevantes em suas áreas de estudo. Este processo é essencial para a formação de profissionais capazes de enfrentar os desafios complexos do mundo contemporâneo.

A presente publicação se dedica à apresentação dos resultados dos projetos de iniciação científica realizados por nossos alunos de graduação durante o ciclo 2023/2024. Os projetos aqui apresentados refletem a diversidade de áreas do conhecimento que são trabalhadas na Universidade Vila Velha, abrangendo ciências da saúde, agrárias, humanas e tecnológicas. Essa pluralidade é reflexo da riqueza intelectual e da interdisciplinaridade que caracterizam a nossa instituição. Mais do que um produto, cada manuscrito representa o fruto do empenho e da dedicação dos estudantes e de seus orientadores. Com a divulgação dos resultados dos projetos, reafirmamos o compromisso da Universidade Vila Velha com a promoção da pesquisa científica enquanto uma dimensão essencial da formação acadêmica, bem como com o desenvolvimento de futuros pesquisadores.

Convidamos os leitores a explorar esta coletânea, que não apenas evidencia o potencial dos nossos alunos, mas também reforça a importância da iniciação científica como um instrumento de transformação profissional e pessoal. Que estas páginas sejam um convite à reflexão, à inovação e à construção de um futuro fundamentado na ciência e no conhecimento. Esperamos também que esta publicação inspire outros estudantes a se envolverem com a pesquisa científica e com o contínuo processo de desenvolvimento do conhecimento.

Agradecemos a participação crucial dos orientadores e da comunidade acadêmica como um todo, que, com sua dedicação e experiência, inspiram e guiam as novas gerações de cientistas. Agradecemos também aos alunos por seu empenho e entusiasmo, que são o verdadeiro impulsionador das atividades de iniciação científica realizadas em nossa instituição.

Boa leitura a todos!

Ana Carolina Srbek de Araujo

Doutora em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre (UFMG)

Mestre em Zoologia de Vertebrados (PUC Minas Gerais)

Bacharel Licenciada em Ciências Biológicas (PUC Minas Gerais)

## Sumário (volume 2)

<b>CAPÍTULO 1: “EXPLORANDO AS FRONTEIRAS DO ENSINAR E APRENDER: UMA CARTOGRAFIA DAS PRÁTICAS EDUCATIVAS NA EDUCAÇÃO INFANTIL</b> .....	1
<b>CAPÍTULO 2: “AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE FEZES DE CÃES DE ABRIGO NA CIDADE DE VILA VELHA/ES”</b> .....	11
<b>CAPÍTULO 3: “TOLERÂNCIA DE PLANTAS DE AROEIRA (SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI) INOCULADAS COM O FUNGO SERENDIPITA INDICA A ALTAS CONCENTRAÇÕES DE MATERIAL SÓLIDO PARTICULADO DE FERRO”</b> .....	19
<b>CAPÍTULO 4: “ANÁLISE DO INDÍCE DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS TRATADOS COM SCAFFOLD BIODEGRADÁVEL DE GELATINA”</b> .....	37
<b>CAPÍTULO 5: “TENDÊNCIA E MOTIVAÇÕES POR TRÁS DA REDUÇÃO NA TAXA DA VACINAÇÃO: UMA ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA”</b> .....	44
<b>CAPÍTULO 6: “AS PARADAS LGBT NO CONTEXTO DE ASCENSÃO DO CONSERVADORISMO NO BRASIL (2015 - 2022)”</b> .....	52
<b>CAPÍTULO 7: “AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DE IMUNOMARCAÇÃO DAS HISTONAS ACETILADAS H3 E H4 E DAS ENZIMAS HISTONAS DESACETILASES EM TECIDOS MAMÁRIOS NEOPLÁSICOS E NÃO NEOPLÁSICOS”</b> .....	58
<b>CAPÍTULO 8: “EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EUTERPE EDULIS NO PARÂMETRO PSICOMOTOR DE REAÇÃO SIMPLES E DE ESCOLHA”</b> .....	69
<b>CAPÍTULO 9: “PIOMETRA: ESTUDO DE CORRELAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS, IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA”</b> .....	74
<b>CAPÍTULO 10: “AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO DE UM ANTI-INFLAMATÓRIO NÃO ESTEROIDAL EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A LESÃO RENAL AGUDA TRATADOS COM MOMORDICA CHARANTIA L.”</b> .....	81
<b>CAPÍTULO 11: “ADOÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE ALIMENTOS EM RESIDÊNCIAS FAMILIARES BRASILEIRAS”</b> .....	90
<b>CAPÍTULO 12: “OS EFEITOS DO PROGRAMA DE REABILITAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA GRUPAL APLICADO EM IDOSOS NÃO-INSTITUCIONALIZADOS COM DÉFICIT COGNITIVO LEVE”</b> .....	97
<b>CAPÍTULO 13: “PRAÇA COSTA PEREIRA, VITÓRIA/ES E OS ATRADORES VISUAIS DA PAISAGEM URBANA”</b> .....	107
<b>CAPÍTULO 14: “AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE FEZES DE GATOS DE ABRIGOS NA CIDADE DE VILA VELHA/ES”</b> .....	116
<b>CAPÍTULO 15: “MEMÓRIAS DAS MULHERES POMERANAS DA OASE DE SANTA MARIA DE JETIBÁ”</b> .....	122
<b>CAPÍTULO 16: “EFEITO DO PROBIÓTICO KEFIR SOBRE OS SINAIS CLÍNICOS E PERMEABILIDADE INTESTINAL EM MODELO EXPERIMENTAL DE COLITE ULCERATIVA”</b> .....	129
<b>CAPÍTULO 17: “FERRAMENTA “QUALIFICAURB”: DESENVOLVIMENTO DE UMA VERSÃO MOBILE”</b> .....	137
<b>CAPÍTULO 18: “ANÁLISE DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE POLPA E DE CASCA DE JABUTICABA EM BACTÉRIAS DO GÊNERO ESCHERICHIA COLI, LISTERIA, STAPHYLOCOCCUS E ENTEROCOCCUS ”</b> .....	147
<b>CAPÍTULO 19: “AVALIAÇÃO DA RESPOSTA À AMEAÇA EM FELINOS SAUDÁVEIS PRÉ E PÓS-SEDAÇÃO”</b> .....	153
<b>CAPÍTULO 20: “AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOATIVAS DO EXTRATO ETANÓLICO DE PLINIA CAULIFLORA (MART.) KAUSEL”</b> .....	163
<b>CAPÍTULO 21: “IMPACTO DA DISBIOSE INTESTINAL NAS CRISES CONVULSIVAS INDUZIDAS POR PENTILENOTETRAZOL”</b> .....	169
<b>CAPÍTULO 22: “MONITORAÇÃO DO IMPACTO DA ARQUITETURA URBANA NA VIDA DA AVIFAUNA NA REGIÃO DA GRANDE VITÓRIA, ESPÍRITO SANTO”</b> .....	180

## Capítulo 1

# “EXPLORANDO AS FRONTEIRAS DO ENSINAR E APRENDER: UMA CARTOGRAFIA DAS PRÁTICAS EDUCATIVAS NA EDUCAÇÃO INFANTIL”

### Autores

Érica do Carmo Fernandes<sup>1</sup>, Maria Riziane Costa Prates<sup>2\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Pedagogia, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Curso de Pedagogia; Programa de Pós-Graduação em Segurança Pública (PPGSEG), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: maria.prates@uvv.br

Telefone: +55 27 99945-2799

### Resumo

Este estudo investiga a aplicação da cartografia das práticas educativas na Educação Infantil, fundamentada nos conceitos de Deleuze e Guattari, visando enriquecer o ambiente escolar. A cartografia mapeia as práticas pedagógicas de forma dinâmica e interdisciplinar, refletindo a complexidade educativa. No CMEI Bem-me-quer, a metodologia observou e registrou interações entre crianças, professores e o ambiente. Atividades como exploração musical, contato com a natureza e literatura revelaram a importância de respeitar as singularidades infantis. A pesquisa relatou que a abordagem cartográfica promove um ensino inclusivo e adaptável, alinhado à visão rizomática de Deleuze e Guattari, enriquecendo a aprendizagem infantil.

### Abstract

This study investigates the application of cartography of educational practices in Early Childhood Education, based on the concepts of Deleuze and Guattari, aiming to enrich the school environment. Cartography maps pedagogical practices in a dynamic and interdisciplinary way, reflecting the complexity of education. At CMEI Bem-me-quer, the methodology observed and recorded interactions between children, teachers, and the environment. Activities such as musical exploration, contact with nature, and literature highlighted the importance of respecting children's individualities. The research reported that the cartographic approach promotes inclusive and adaptable teaching, aligned with Deleuze and Guattari's rhizomatic vision, enriching children's learning.

**Palavras-chave:** cartografia; práticas educativas; mapeamento; educação infantil.

## 1. Introdução

Na Educação Infantil, a busca por métodos de ensino inovadores e experiências enriquecedoras é fundamental para a construção de ambientes de aprendizagem que promovam o desenvolvimento integral das crianças. Nesse contexto, a pesquisa investigou de que maneira a criação de uma cartografia das práticas educativas na Educação Infantil influencia a construção de ambientes mais colaborativos, interdisciplinares e voltados para o desenvolvimento das múltiplas linguagens. A cartografia, enquanto metodologia de pesquisa, foi fundamentada nos conceitos desenvolvidos por Gilles Deleuze e Félix Guattari a partir do texto *Rizoma*, introdução do livro "Mil Platôs: Capitalismo e Esquizofrenia" (1980), onde destacaram a importância de mapear processos e relações dinâmicas, indo além de representações estáticas e lineares (Deleuze; Guattari, 1980, p. 10).

A cartografia, segundo Barros e Passos (2009), consiste no acompanhamento do traçado de um plano ou das linhas que o compuseram, de forma transversal, vertical e horizontal, refletindo a complexidade das práticas educativas. A aplicação dessa metodologia na Educação Infantil envolve o mapeamento e análise das diferentes abordagens e estratégias pedagógicas, onde os dados são produzidos a partir das relações e interações entre as crianças, professores e o ambiente escolar (Kastrup, 2009). O objetivo é explorar os processos investigativos presentes nas experiências das crianças, valorizando as fabulações de ideias e promovendo uma compreensão mais ampla das potencialidades das práticas educativas.

A justificativa para o desenvolvimento deste estudo encontrou-se na necessidade de aprofundar a compreensão dos processos educacionais na Educação Infantil, transcendendo os limites tradicionais do ambiente escolar. A escolha pela cartografia, como método central, foi fundamentada nas concepções de Deleuze e Guattari, que enfatizaram a importância de mapear as interações e fluxos subjacentes que moldaram a dinâmica educacional. Ao adotar essa abordagem, buscou-se valorizar a singularidade das crianças como protagonistas de seu próprio aprendizado, compreendendo as práticas pedagógicas que se desdobraram em espaços onde as fronteiras entre conhecimento formal e experiências vivenciais foram exploradas e ampliadas.

O estudo teve como objetivo geral investigar e compreender o processo de produção de experimentações curriculares realizadas pelas professoras da Educação Infantil, direcionadas para o desenvolvimento das múltiplas linguagens. Para alcançar esse objetivo, foram delineados os seguintes objetivos específicos: (I) identificar e registrar as práticas educativas desenvolvidas pelas crianças e professoras, mapeando as experiências investigativas realizadas no contexto escolar; (II) analisar as interações entre as crianças, professoras e o ambiente educacional, compreendendo os processos de aprendizagem, estratégias pedagógicas e recursos didáticos adotados; e (III) propor melhorias nas práticas educativas com base nos resultados da cartografia, visando fortalecer a qualidade do ensino e promover uma educação mais inclusiva e participativa.

O trabalho dialogou com pesquisas anteriores que exploraram metodologias semelhantes e que buscaram confirmar hipóteses próximas às abordadas aqui. Por exemplo, o artigo de Silva (2021), que discutiu a "educação molar-molecular" a partir das observações dos cotidianos escolares e currículos inovadores, trouxe uma reflexão sobre a complexidade dos processos de aprendizagem e a crítica à padronização curricular. Lopes (2021), em "Infância e Currículo," enfatizou a importância da brincadeira livre na construção de currículos que valorizem a experiência infantil. Já Sampaio (2021) apresentou a metodologia inovadora denominada "dançarilhar", propondo um currículo dinâmico e inclusivo, que celebra a diversidade. Por fim, Caffagni (2021) revisou a influência das filosofias de Deleuze e Guattari nas pesquisas dedicadas ao estudo do governo das subjetividades no campo do currículo.

Através dessa análise, foi possível compreender como a abordagem cartográfica contribuiu para uma educação infantil mais adaptável, inclusiva e autêntica, enriquecendo as práticas pedagógicas e potencializando a formação das crianças. Ao construir um quadro teórico a partir dessas perspectivas, o estudo aprofundou a compreensão das dinâmicas educacionais na Educação Infantil, direcionando a próxima fase da pesquisa para explorar as transformações nos modos de ensinar e aprender.

## 2. Material e Métodos

Considerado a cartografia como uma experimentação de acompanhamento do desejo, em suas relações de produção de novas paisagens existenciais e sociais. Realizamos o acompanhamento das linhas de vida sendo elas: a linha de segmentar idade dura (que se refere às leis, normas, regulamentações institucionais), as linhas flexíveis que atravessam as linhas duras produzindo oscilações (possíveis para novas configurações de sentido) e as linhas de fuga (desterritorializações). Assim, buscou-se acompanhar as transformações nos modos de dar sentido às produções curriculares na Educação Infantil.

As práticas educacionais com crianças da Educação Infantil desempenham um papel fundamental na promoção da aprendizagem e do desenvolvimento integral nessa fase do desenvolvimento. Conforme destacado pelo Ministério da Educação (2010).

O currículo da Educação Infantil é concebido como um conjunto de práticas que buscam articular as experiências e os saberes das crianças com os conhecimentos que fazem parte do patrimônio cultural, artístico, científico e tecnológico. Tais práticas são efetivadas por meio de relações sociais que as crianças desde bem pequenas estabelecem com os professores e as outras crianças, e afetam a construção de suas identidades (Brasil, 2010).

Partindo deste sentido, cartografar práticas educativas com crianças da Educação Infantil envolveu o mapeamento e a análise das diferentes abordagens, estratégias e atividades utilizadas no contexto educacional. Ao contrário de uma concepção de coleta de dados, na cartografia, pressupomos que os dados são produzidos a partir das relações, interações e interseções entre os sujeitos pesquisados, objeto e pesquisador (Kastrup, 2009).

Nesta pesquisa, foi adotado o método de pesquisa-intervenção da cartografia desenvolvido por Passos, Kastrup e Escóssia (2009) e Escóssia e Tedesco (2015). Essa abordagem envolveu a participação ativa do pesquisador, por meio de diálogos, entrevistas e atividades práticas, visando compreender as experiências e perspectivas dos participantes da pesquisa. Conforme afirmam Barros e Barros (2013), essa abordagem pressupõe a inexistência de uma realidade pré-estabelecida que forneça dados prontos. Pelo contrário, os dados são construídos, identificados e cultivados ao longo do processo de pesquisa.

A produção de dados e investigação das práticas educativas foram realizadas em encontros com crianças do Grupo 4 da Educação Infantil, localizado em um Centro Municipal de Educação Infantil (CMEI) na cidade de Serra- ES. Para a produção desses dados, foram observadas as práticas educacionais, atividades e situações de aprendizagem que promovam uma abordagem colaborativa, flexível, aberta e transversal entre as crianças, a pesquisadora e a professora. Foram utilizados também diários de bordo, os quais, de acordo com Bogdan e Biklen (1994, p. 150) “são o relato escrito daquilo que o investigador ouve, vê, junto com a experiência.”

Além disso, foram feitas conversas informais coletivas com os alunos, a fim de cartografar e registrar as narrativas produzidas pelas crianças em suas fabulações. Conforme destacam Kastrup e Barros (2009), a conversa desempenha um papel fundamental para o pesquisador cartógrafo. Dessa forma, essa prática teve como objetivo registrar e dar visibilidade às narrativas, explorando suas características, temas, estruturas e significados nos diferentes contextos educacionais.

A análise na pesquisa cartográfica, segundo Barros e Barros (2013, p. 388), é a análise de processos que se coloca ao lado das experiências, nem sempre óbvias ou instantaneamente acessíveis. É necessário um grau crescente de contato com a experiência para tomar as evidências. Na cartografia, a análise é um processo

contínuo que ocorre em todos os momentos da pesquisa, não se limitando apenas à etapa posterior de ter o material em mãos.

Deste modo, a análise dos dados foi realizada com base nos movimentos de atenção propostos pelo método cartográfico de Passos, Kastrup e Escóssia (2009), que inclui o rastreo, o toque, o pouso e o reconhecimento atento. Essa análise ocorreu ao longo de todo o processo de pesquisa, não se restringindo a uma etapa específica. Além disso, forneceu subsídios para a elaboração de materiais de apoio, como um artigo que foi publicado na Revista Espaço do Currículo, qualis A3, portfólio físico e virtual das produções realizadas pelas crianças e a criação de produtos em colaboração com as crianças, ampliando as possibilidades de expressão e compartilhamento de suas aprendizagens, conforme ilustrado na Figura 1.



**Figura 1.** Portfólio das Produções Realizadas pelas Crianças. Fonte: arquivo pessoal (2024)

O sentido da cartografia, portanto, está no acompanhamento de percursos, nas implicações em processos de produção e na conexão de redes ou rizomas (Passos; Kastrup; Escóssia, 2009). Almeja-se contribuir para a construção de novos conhecimentos sobre as formas de ensinar e aprender, especialmente ao explorarmos os processos investigativos presentes nas experiências das crianças, onde a intersecção entre ciência, arte, filosofia e imaginação desempenha um papel fundamental. Através dessa abordagem, pretende-se desvendar e valorizar as fabulações de ideias que emergem nesse contexto, promovendo uma compreensão mais ampla das potencialidades das práticas educativas na Educação Infantil.

### 3. Relato de Caso

#### ABORDAGEM CARTOGRÁFICA NA EDUCAÇÃO INFANTIL

Entre o período de março a agosto de 2024, a pesquisadora esteve no CMEI Bem-me-quer, em encontros com as crianças do grupo 4C, sobre a orientação e acompanhamento da sua orientadora para participar do projeto “Experiências de Si: O Som do Coração”. Esta pesquisa, fundamentada nos conceitos de cartografia propostos por Gilles Deleuze e Félix Guattari, tem como objetivo principal proporcionar experiências educativas enriquecedoras para crianças da Educação Infantil. O intuito é expandir a compreensão das crianças sobre o espaço, promovendo uma abordagem que valoriza as práticas de infância, curiosidades e fabulações, integrando-as aos processos de aprendizagem em áreas como ciência, linguagens, tecnologia e artes. Os encontros relatados a seguir fazem parte dessa pesquisa e representam uma exploração prática desse conceito,

permitindo que as crianças participantes mapeiem suas próprias experiências e conexões com o ambiente e com os materiais, enquanto a pesquisadora acompanha e registra essas jornadas de aprendizado.

### 3.1. Produção de dados: encontros

Importantes componentes desta pesquisa na máquina escola consistiram em uma imersão na experiência de campo, entendida como encontros de potências (Deleuze, 2002) territorializados. Essa imersão se desdobrou na escrita de um diário, no qual as memórias foram construídas a partir de registros fotográficos (Figura 2) e outros materiais de documentação.

Esse diário, contudo, não se limita a uma representação icônica dos acontecimentos daqueles momentos únicos; ele captura a profundidade temporal dos devaneios da pesquisadora: a cidade, o bairro, a escola ressoando dentro dela. Não são simples imagens gravadas na memória, mas reflexos mnemônicos<sup>1</sup>, padrões recorrentes e ressignificações existenciais (Guattari, 1980).



**Figura 2.** Encontro com os meios. Fonte: arquivo pessoal (2024)

A pesquisadora cria um corpo de dados que atravessa memória, história e presente, enquanto o devir-pesquisador produz ressonâncias entre o inesperado e o atemporal. Assim como nossos pensamentos encontram base nas teorias que fundamentam a pesquisa, a construção dos nossos dados empíricos se apoia em experiências “passadas”.

A cartografia do Corpo-Sem-Órgãos é atravessada por instantes de caos, erupções empíricas registradas no diário de bordo, que, como no sinal invertido de uma reação química-sensível, foi criada mesclando conceitos inspiradores. Aqui, reconhecemos a impossibilidade do dado “puro”, da experiência “em si”, e sim a possibilidade da escrita e da experimentação como simulacros (Axt et al, 2008).

#### 3.1.1. Primeiro Encontro: O Ukulele

Era uma tarde de março ensolarada, e as crianças observavam a chegada de uma nova figura na sala. O ambiente estava calmo e agradável, e as interações aconteciam de forma orgânica. Nesse cenário, a pesquisadora apresentou um Ukulele, um instrumento musical simples, mas que despertou grande curiosidade ao ser tocado. As crianças nomearam de “um violão pequeno”. Durante o encontro, elas foram convidadas a ouvir diferentes sons e ritmos. Desse primeiro encontro, surgiu um lindo registro fotográfico (Figura 3).

<sup>1</sup>Refere-se às memórias que não apenas registram eventos passados, mas que emergem de forma viva e ativa, influenciando continuamente as percepções e interpretações da pesquisadora durante o processo de pesquisa.



Figura 3. Primeiro Encontro: março. Fonte: arquivo pessoal (2024).



Figura 4. Chapéu. Fonte: arquivo pessoal (2024).

O ambiente se encheu de entusiasmo. As crianças, fascinadas pelo som suave e melódico do instrumento, começaram a explorar suas possibilidades. Algumas se aproximaram timidamente, enquanto outras, não hesitaram em tocar as cordas, rindo e se maravilhando com os sons que produziam. A pesquisadora, percebendo o interesse, incentivou cada uma a experimentar, criando uma atmosfera de descoberta e aprendizado coletivo.

A matéria não é mero suporte passivo de um movimento de produção por parte do pesquisador. Ela não se submete ao domínio, mas expõe veios que devem ser seguidos e oferece resistência à ação humana. Mais que domínio, o conhecimento surge como composição. (Kastrup, 2009, p. 49).

### 3.1.2. Encontros

Nos meses seguintes, novos encontros foram realizados, permitindo uma maior imersão nas práticas pedagógicas. Trabalhamos com as crianças o livro *Chapéu*, de Joana Herkenhoff. A obra é inspirada na tradição sobre o Mestre Álvaro, um importante monte que caracteriza a paisagem da cidade da Serra, onde o CMEI está localizado e onde as crianças residem. Com base no livro, construímos um cartaz coletivo, no qual as crianças participaram de todo o processo de construção (Figura 4). Segundo Kastrup (2009, p. 49) “a construção do conhecimento se distingue de um progressivo domínio do campo de investigação e dos materiais que nele circulam”. Dessa forma a abordagem promoveu uma ligação profunda entre a narrativa literária e o ambiente físico, incentivando as crianças a explorar e interpretar o mundo ao seu redor de maneira mais consciente e sensível.

O projeto "Experiências de Si: O Som do Coração" foi incorporado às atividades pedagógicas, destacando-se a importância de escutar não apenas os sons externos, mas também o "som do coração", uma prática que visa aprimorar a sensibilidade auditiva e emocional das crianças. Diversas brincadeiras, como o "sopro" e o "avião", foram utilizadas para desenvolver essa escuta.

A brincadeira do "sopro" foi uma atividade colaborativa que envolveu as crianças em uma dinâmica de equipe (Figura 5). Elas tinham uma pista e uma bolinha, que precisavam soprar até um copo posicionado do outro lado da mesa, sem usar as mãos. Essa atividade incentivou a consciência fonológica, fundamental para o desenvolvimento da linguagem, além de reforçar a coordenação motora fina e a capacidade de concentração.

[...] nas relações entre crianças e professoras e crianças [...] as dobras e redobras são produzidas, onde mundos possíveis contagiam as singularidades dos indivíduos e criam outros trajetos pelas dobras do labirinto. Não há, assim, a pretensão de pensar que todos aprendem de um modo e se afetam pelos currículos da mesma maneira. Há um labirinto de possibilidades, e cada criança percorrerá o seu à sua maneira (Gonçalves, 2019, p. 74).



**Figura 5.** O sopro. Fonte: arquivo pessoal (2024).



**Figura 6.** O avião. Fonte: arquivo pessoal (2024).

Na brincadeira do "avião", um quadrado foi desenhado no quadro, e as crianças foram desafiadas a lançar um avião de papel para acertar o alvo. Essa atividade proporcionou a prática da coordenação motora fina e a noção espacial, pois as crianças precisavam calcular a força e a direção do lançamento. Elas também exercitaram a paciência e a perseverança, ajustando suas tentativas para melhorar a precisão a cada lançamento. A interação entre elas foi notável: compartilhavam estratégias e comemoravam juntas os acertos, como podemos ver na Figura 6.

Nesse sentido, as atividades propostas no projeto permitem que cada criança explore e descubra seu próprio caminho dentro desse "labirinto de possibilidades", respeitando suas singularidades e promovendo um aprendizado personalizado e significativo.

Em mais um encontro agora no pátio do CMEI, em meio às árvores, uma criança encontrou um abacate caído no chão, o que gerou uma grande empolgação entre as outras. As crianças se reuniram ao redor do fruto. Aproveitando esse momento espontâneo, a professora acolheu a curiosidade delas, abrindo o abacate e permitindo que experimentassem o fruto (Figura 7). A pesquisadora rastreou o momento, entendendo o conceito de "rastrear" como o ato de acompanhar mudanças de posição, velocidade, aceleração e ritmo, sem que isso se identificasse como a uma busca de informação (Kastrup, 2009, p. 40). Esse encontro se transformou em uma oportunidade de investigação e expressão, utilizando o abacate como uma ferramenta pedagógica para explorar múltiplas formas de conhecimento.

Em outro encontro no pátio, integrando o ambiente natural à literatura, utilizamos o livro *Os Animais do Mundinho*. As crianças foram incentivadas a explorar o pátio, prestando atenção aos sons ao seu redor, como o vento, as folhas balançando, o "som do silêncio". Em seguida, o livro foi apresentado, conectando as experiências auditivas das crianças com as descrições dos animais na obra. Conseguimos capturar a interação das crianças com o ambiente e os sons naturais por meio da fotografia (Figura 8), entrelaçando essa experiência com a narrativa do livro, criando um momento sensorial rico em significados.



**Figura 7.** O Abacateiro do pátio. Fonte: arquivo pessoal (2024)



**Figura 8.** Os Sons da Natureza e a Literatura Infantil. Fonte: arquivo pessoal (2024)

Música e parlendas também foram trabalhadas, como parte de um projeto institucional que explorava sonoridades. Uma das primeiras parlendas trabalhadas foi *A Casinha da Vovó*. As crianças recitaram os versos e, em seguida, criaram uma representação visual da casinha utilizando tinta feita de pó de café, como podemos verificar na Figura 9. Essa atividade integrou diferentes linguagens e sensações, permitindo que as crianças explorassem o cheiro, a textura, e as possibilidades de expressão através da pintura.



**Figura 9.** A Casinha da Vovó. Fonte: arquivo pessoal (2024)

**Figura 10.** Lata de biscoito. Fonte: arquivo pessoal (2024)

Outro momento envolveu a parlenda “Fui na lata de Biscoito”, onde as crianças cantaram junto ao som do violão. Posteriormente, essa parlenda foi conectada a uma atividade culinária, na qual as crianças fizeram biscoitos na cozinha do CMEI. Esse momento incrível foi registrado por meio de fotos (Figura 10). Após a degustação, elas refletiram sobre a experiência, revisitando o que haviam experimentado através da música e da culinária. Essa combinação de música, arte e culinária demonstrou como a prática educacional sensível pode ser desenvolvida por meio de atividades que engajam múltiplos sentidos e formas de expressão.

Como Deleuze e Guattari (1995, p. 17) afirmam, “um agenciamento é precisamente este crescimento das dimensões numa multiplicidade que muda necessariamente de natureza à medida que ela aumenta suas conexões.” Nesse sentido, a atividade não só reforçou o domínio das parlendas, mas também permitiu que as crianças expandissem suas formas de expressão e compreensão, transformando a experiência de aprendizagem em algo mais rico e multidimensional.

#### 4. Conclusões

O estudo realizado no CMEI Bem-me-quer demonstrou que a cartografia, enquanto metodologia de pesquisa, oferece uma abordagem inovadora e eficaz para transformar a prática pedagógica na Educação Infantil. A partir da análise das práticas educativas e das experiências vivenciais das crianças, foi possível observar como a cartografia contribui para a construção de ambientes de aprendizagem mais dinâmicos, colaborativos e sensíveis.

Os encontros promovidos, desde a exploração de novos instrumentos musicais até a interação com elementos naturais e atividades lúdicas, evidenciam a importância de valorizar as fabulações e curiosidades das crianças. A metodologia cartográfica permitiu mapear detalhadamente essas práticas, revelando como as crianças se apropriam e reinterpretam suas experiências de maneira singular.

Baseada nos conceitos de Deleuze e Guattari, a pesquisa reforçou a visão de que a aprendizagem na Educação Infantil não segue um caminho linear, mas se desenvolve através de um rizoma de múltiplas conexões e possibilidades. As atividades realizadas, como o uso do ukulele, a exploração do abacate e a integração da literatura com o ambiente natural, ilustram como a educação pode ser enriquecida por práticas que respeitam e valorizam a individualidade dos alunos.

A análise dos dados e a aplicação da cartografia contribuíram para a compreensão aprofundada das práticas pedagógicas, destacando a importância de uma abordagem que respeite a complexidade e a dinâmica das experiências educativas. Assim, a pesquisa não só confirmou a eficácia da cartografia na Educação Infantil, como também abriu novas perspectivas para o desenvolvimento de práticas pedagógicas mais inclusivas e adaptáveis, fortalecendo o processo de ensino e aprendizagem.

A conclusão deste estudo reforça a necessidade de continuar explorando metodologias que promovam uma educação mais sensível e conectada às experiências vivenciais das crianças, contribuindo para uma prática educativa mais rica e diversificada.

#### Agradecimentos

A realização deste trabalho só foi possível graças ao apoio e à colaboração de diversas pessoas e instituições. À Universidade Vila Velha, agradeço pelo patrocínio e pela concessão da bolsa de pesquisa da Iniciativa Científica, proporcionando os recursos necessários para a execução deste projeto. À Prefeitura da Serra e à Secretaria Municipal de Educação e Subsecretaria Pedagógica do município da Serra, por confiar em meu potencial e permitir que esta pesquisa fosse realizada em suas escolas, ampliando o impacto do estudo na comunidade.

Ao Centro Municipal de Educação Infantil (CMEI) Bem-Me-Quer, minha gratidão pelo acolhimento e pela parceria durante todo o período de pesquisa. Agradeço também à Revista Espaço do Currículo, que publicou meu artigo sobre a pesquisa, contribuindo para a disseminação dos resultados e para o avanço do conhecimento na área. À minha orientadora, Professora doutora Maria Riziane Costa Prates, agradeço pela orientação precisa, paciência, e pelos valiosos ensinamentos que me guiaram ao longo deste processo.

A diretora, a pedagoga, as professoras e os funcionários do CMEI, pelo apoio e facilitação da pesquisa, e especialmente às crianças que participaram, cujo entusiasmo e colaboração foram essenciais para o desenvolvimento deste estudo.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho, reafirmando que o sucesso desta pesquisa é fruto de um esforço coletivo e do compromisso com a educação e a ciência.

#### Referências

- AXT, M. et al. Cidades virtuais: tecnologias para aprendizagem e simulação. In IV Seminário Jogos eletrônicos, 2008.
- BARROS, M. R. de; BARROS, M. E. B. de. O problema da análise em pesquisa cartográfica. *Fractal, Revista de Psicologia*, v. 25, n. 2, 2013, p. 373-390
- BARROS, R. D. B.; PASSOS, E. A Cartografia como método de pesquisa-intervenção. In: PASSOS, E.; KASTRUP V.; ESCÓSSIA L. da. *Pistas do método da cartografia: Pesquisa-intervenção e produção de subjetividade*. Porto Alegre: Sulina, 2009, p. 207.
- BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Básica. Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação Infantil / Secretaria de Educação Básica. – Brasília : MEC, SEB, 2010.
- BOGDAN, R. C.; BIKLEN, S. K. *Investigação qualitativa em educação*. Portugal: Porto Editora, 1994.
- CAFFAGNI, L. G. L. A crítica ao currículo: entre Deleuze, Guattari e Foucault. *Revista Pro-Posições*, v. 32, e20180136, 2021. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/pp/a/HsyswCSzTWDBNg8P6cDvXMg/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 24 de ago. de 2023.
- DELEUZE, G. *Espinosa, uma filosofia prática*. São Paulo: Editora Escuta, 2002.
- DELEUZE, G.; GUATTARI, F. *Mil Platôs: Capitalismo e esquizofrenia*. São Paulo: Editora 34, 1980.
- DELEUZE, G.; GUATTARI, F. *Mil Platôs 1*. São Paulo: Editora 34, 1995.

- ESCÓSSIA, L.; TEDESCO, S. Pista 5 - o coletivo de forças como plano de experiência cartográfica. In E. Passos, V. Kastrup, & L. Escóssia (Orgs.) *Pistas do método da cartografia: Pesquisa-intervenção e produção de subjetividade*. Porto Alegre: Sulina, 2015, p. 92-108.
- GONÇALVES, Camilla Borini Vazzoler. *As fabuloinvenções das crianças nos agenciamentos dos currículos*. Dissertação (Mestrado em Educação) - Programa de Pós-Graduação em Educação, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2019.
- GUATTARI, F. *Revolução molecular: pulsações políticas do desejo*. São Paulo: Editora Brasiliense, 1980.
- KASTRUP, V. Pista 2 - O funcionamento da atenção no trabalho do cartógrafo. In E. Passos, V. Kastrup; L. Escóssia (Orgs.) *Pistas do método da cartografia: Pesquisa-intervenção e produção de subjetividade*. Porto Alegre: Sulina, 2009, p. 32-51.
- KASTRUP, V.; BARROS, R. B. Movimentos-funções do dispositivo na prática da cartografia. In: PASSOS, E.; KASTRUP, V.; ESCÓSSIA, L. (Orgs.). *Pistas do método da cartografia: Pesquisa-intervenção e produção de subjetividade*. Porto Alegre: Sulina, 2009. p. 76-91.
- LOPES, S. W. Infância E Currículo. In: 40a Reunião Nacional da ANPEd, 2021, Pará. Anais da 40a Reunião Nacional da ANPEd, GT12 - Currículo. ISSN 2447-2808. Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ. Disponível em: <[http://anais.anped.org.br/sites/default/files/arquivos\\_29\\_18](http://anais.anped.org.br/sites/default/files/arquivos_29_18)>. Acesso em: 20 de ago. de 2023.
- PASSOS, E.; KASTRUP, V.; ESCÓSSIA, L. da. *Pistas do método da Cartografia: Pesquisa-intervenção e produção de subjetividade / Orgs.* – Porto Alegre: Sulina, 2009, p. 207.
- SAMPAIO, C. C M. Dançando Entre Um Currículo-Maior E Um Currículo-Menor: A Criação De Um Currículo-Dançante. In: 40a Reunião Nacional da ANPEd, 2021, Pará. Anais da 40a Reunião Nacional da ANPEd, GT12 - Currículo. ISSN 2447-2808. FAE - Faculdade de Educação da UFMG. Disponível em: <[http://anais.anped.org.br/sites/default/files/arquivos\\_18\\_26](http://anais.anped.org.br/sites/default/files/arquivos_18_26)>. Acesso em: 18 de jun. de 2023.
- SILVA, T. M. da. Entre Linhas Molares e Moleculares De Uma Educação Cotidiana. In: 40a Reunião Nacional da ANPEd, 2021, Pará. Anais da 40a Reunião Nacional da ANPEd, GT12 - Currículo. ISSN 2447-2808. UFES - Universidade Federal do Espírito Santo. Disponível em: <[http://anais.anped.org.br/sites/default/files/arquivos\\_22\\_28](http://anais.anped.org.br/sites/default/files/arquivos_22_28)> Acesso em: 15 de ago. de 2023.

## Capítulo 2

### “AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE FEZES DE CÃES DE ABRIGO NA CIDADE DE VILA VELHA/ES”

#### Autores

Fernanda Albani Rodrigues<sup>1</sup>, Helena Reingard Leão de Melo<sup>1</sup>, Layla Barboza Machado<sup>2</sup>, Emy Hiura<sup>3</sup>, Paulo Henrique Puphal Küster<sup>2</sup>, Fabio Porto Sena<sup>2</sup>, Cristiane dos Santos Honsho<sup>4\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Vila Velha (UVV), Vila Velha, ES

<sup>3</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha (UVV), Vila Velha, ES

<sup>4</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária; Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: cristiane.honsho@uvv.br

Telefone: +55 27 99204-6535

#### Resumo

O convívio animal/homem traz inúmeros benefícios à saúde humana, desde que cuidados higiênico-sanitários sejam adequadamente realizados, visto várias doenças possuírem caráter zoonótico. Esse trabalho teve o objetivo de estudar alterações no exame coproparasitológico, hemograma e bioquímico em cães de abrigo localizado no Município de Vila Velha, Espírito Santo. Foram coletadas amostras sanguíneas de 43 cães e 30 amostras de fezes. Os exames sanguíneos apresentaram alterações no hemograma e bioquímico, o coproparasitológico apresentou somente a presença de ovos de *Ancylostoma* spp. Esse estudo mostrou que a estadia de cães em abrigos não significa que serão animais saudáveis e livre de doenças.

#### Abstract

The coexistence of animals and humans brings numerous health benefits, provided that hygienic and sanitary measures are properly taken, as many diseases have zoonotic characteristics. This study aimed to investigate changes in the coprological, hematological, and biochemical exams of shelter dogs located in the municipality of Vila Velha, Espírito Santo. Blood samples were collected from 43 dogs, and 30 stool samples were analyzed. The blood tests showed changes in the hematological and biochemical parameters, while the coprological exam revealed only the presence of *Ancylostoma* spp. eggs. This study demonstrated that sheltering dogs does not guarantee they will be healthy or free from diseases.

**Palavras-chave:** parasitoses; alterações hematológicas; zoonoses

## 1. Introdução

A quantidade de animais errantes está em constante crescimento, assim como o crescimento urbano. Animais podem se tornar fontes de microrganismos e causarem doenças zoonóticas, oriundas de parasitos gastrointestinais, bactérias, vírus e fungos, além de promoverem contaminação do meio ambiente, quando manejados inadequadamente (CAPUANO et al., 2006).

A estada de animais em abrigos não garante sempre o bem-estar animal, visto que muitas vezes a superlotação de animais, pode interferir no adequado manejo sanitário, somado às falhas no processo de quarentena para introdução de novos animais e na prevenção de doenças, seja por vacinação ou vermifugação (FERNANDES, 2013).

Os cães possuem papel importante como hospedeiro definitivo de parasitoses gastrointestinais com caráter zoonótico, como o *Ancylostoma* spp., *Cryptosporidium* spp., *Dipylidium caninum*, *Giardia* spp. e *Toxocara* spp. Quando se abordam doenças parasitárias em humanos, é comum associá-las às crianças, principalmente, às de classes socioeconômicas baixas, em função da falta de saneamento básico e de conhecimento acerca dos hábitos adequados de higiene ou manuseio incorreto de alimentos (SILVA, 2010; NETTO et al., 2016). Entretanto, pouco se aborda quanto à facilidade de transmissão via pets. Além disso, muitos tutores por desconhecimento, não realizam protocolo antiparasitário em seus animais ou realizam de forma inadequada, o que se reflete no aumento da resistência anti-helmíntica, e a não eliminação adequada das verminoses (LOPES et al., 2021).

O hemograma é importante na clínica de cães, podendo ser um exame de triagem, diagnóstico, prognóstico ou até monitoramento de doenças (LOPES et al., 2021). No caso de parasitoses gastrointestinais, ele pode servir como sinalizador do déficit orgânico gerado pela presença de parasitas intestinais (SILVA et al., 2010; ANTUNES et al., 2019). A análise bioquímica do sangue fornece informação sobre o estado nutricional, imunológico, auxiliando no tratamento e acompanhamento de doenças, e ainda, auxilia na identificação de alterações em fígado e rins (FINSTERBISH, 2018). O exame coproparasitológico, por outro lado, possibilita o diagnóstico de muitas enfermidades causadas por endoparasitos, pois permite detectar nas amostras, o agente em suas diferentes fases (ovos ou larvas de helmintos, cistos ou oocistos no caso de protozoários) (TORRES et al. 2020; LOPES et al., 2021; FERRAZ et al., 2022).

## 2. Material e Métodos

Foram coletadas amostras de sangue e fezes de cães de abrigo chamado Animais Carentes, localizado no bairro Chacaras Kajo, município de Vila Velha, Espírito Santo, que possui o total de 230 cães e 30 gatos, as amostras foram coletadas durante o período de outubro de 2023 a abril de 2024. Os cães estavam alojados em baias que abrigam de 4 a 9 animais de variadas faixas etárias e ambos os sexos e que possuíam contato direto entre cães de variadas baias. Foram coletadas e analisadas 30 amostras de fezes frescas, sendo 5 amostras coletadas por baia, totalizando 6 baias, nessas baias foram coletados sangue de todos os cães totalizando 43 animais.

Todas as amostras coletadas, fezes e sangue, foram transportadas em caixa com gelo, processadas e analisadas no laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário UVV no mesmo dia de coleta.

As fezes foram obtidas manualmente, diretamente do piso das baias, com a utilização de luvas de procedimento, e armazenadas em frascos coletores de fezes, identificadas e transportadas. No laboratório essas amostras foram processadas e analisadas, por meio do exame parasitológico de flutuação fecal pela técnica de Willis-Mollay. Foram obtidas 30 lâminas, as quais foram analisadas em microscópio óptico com objetiva de 10 aumentos, para a identificação morfológica dos ovos e oocistos nas lâminas.

As amostras de sangue foram coletadas com auxílio de seringa de 3 ml e agulha hipodérmica 25 mm x 0,7 mm por venopunção jugular ou da veia cefálica anterior, após a antissepsia do local com álcool e gaze. O conteúdo

retirado foi acondicionado em tubos com EDTA ou com ativador de coágulo, e as amostras transportadas sob refrigeração, após sua identificação. O sangue armazenado em tubos com EDTA foram homogeneizados e passados por processamento automatizado de hematologia. Além disso, lâminas foram confeccionadas para a contagem diferencial do leucograma, e capilares sanguíneos contendo amostras sanguíneas foram centrifugados a fim de se obter dados relativos ao volume globular. O sangue armazenado em tubo com ativador de coágulo passou por centrifugação ao chegar no laboratório para a remoção do soro e análise bioquímica sérica, por meio de espectrofotometria, obtendo-se os valores séricos de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina, proteínas, albumina e globulinas em máquina de processamento automático.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Resultados

No exame coproparasitológico das amostras coletadas das baías, evidenciou-se somente presença de ovos de *Ancylostoma* spp. Na baía 1 havia 8 cães, de idade variada, tabela 1, nas amostras de fezes foram presença de ovos em 80% (4/5) das amostras, observado na tabela 2. A baía 2 apresentava 6 cães, de variadas idades, tabela 3, as amostras de fezes dessa baía apresentaram presença de ovos *Ancylostoma* spp. em 100% (5/5) das amostras, mostrado na tabela 4. A baía 3 apresentava 8 cães, com idade variando de 3 a 6 aos, tabela 5, o exame coproparasitológico apresentou presença de endoparasitas em 60% (3/5) das amostras, observado na tabela 6. Na Baía 4 que apresentava 9 cães, de variadas idades, tabela 7, apresentou presença de ovos de *Ancylostoma* spp. em 60% (3/5) das amostras fecais, como mostrado na tabela 8. Na baía 5 estavam presentes 8 cães, com idade variando até 6 anos, tabela 9, nas amostras de fezes coletadas foram encontrados ovos endoparasitas em 80% (4/5) das amostras, observado na tabela 10. A baía 6 apresentava 4 cães, com idades de 3 a 6 anos, tabela 11, o exame coproparasitológico apresentou ovos *Ancylostoma* spp. em 60% (3/5) das amostras, tabela 12.

**Tabela 1.** Variação de idade dos cães da Baía 1.

Faixa etária	Nº de cães	Porcentagem (%)
Até 2 anos	3	37,5
3 a 6 anos	4	50
Acima de 7 anos	1	12,5
-	8	100

**Tabela 2.** Frequência de ovos de endoparasitas nas amostras fecais da Baía 1.

Contaminado	Nº de amostras	Porcentagem (%)	Parasito
Sim	4	80	<i>Ancylostoma</i> spp.
Não	1	20	-
-	5	100	-

**Tabela 3.** Variação de idade dos cães da Baía 2.

Faixa etária	N° de cães	Porcentagem (%)
Até 2 anos	1	16,7
3 a 6 anos	4	66,7
Acima de 7 anos	1	16,7
-	6	100,1

**Tabela 4.** Frequência de ovos de endoparasitas nas amostras fecais da Baía 2.

Contaminado	N° de amostras	Porcentagem (%)	Parasito
Sim	5	100	<i>Ancylostoma spp.</i>
Não	-	-	-
-	5	100	-

**Tabela 5.** Variação de idade dos cães da Baía 3.

Faixa etária	N° de cães	Porcentagem (%)
Até 2 anos	-	-
3 a 6 anos	8	100
Acima de 7 anos	-	-
-	8	100

**Tabela 6.** Frequência de ovos de endoparasitas nas amostras fecais da Baía 3.

Contaminado	N° de amostras	Porcentagem (%)	Parasito
Sim	3	60	<i>Ancylostoma spp.</i>
Não	2	40	-
-	5	100	-

**Tabela 7.** Variação de idade dos cães da Baía 4.

Faixa etária	N° de cães	Porcentagem (%)
Até 2 anos	1	11,1
3 a 6 anos	6	66,7
Acima de 7 anos	2	22,2
-	9	100

**Tabela 8.** Frequência de ovos de endoparasitas nas amostras fecais da Baía 4.

Contaminado	N° de amostras	Porcentagem (%)	Parasito
Sim	3	60	<i>Ancylostoma spp.</i>
Não	2	40	-
-	5	100	-

**Tabela 9.** Variação de idade dos cães da Baía 5.

Faixa etária	N° de cães	Porcentagem (%)
Até 2 anos	7	87,5
3 a 6 anos	1	12,5
Acima de 7 anos	-	-
-	8	100

**Tabela 10.** Frequência de ovos de endoparasitas nas amostras fecais da Baía 5.

Contaminado	N° de amostras	Porcentagem (%)	Parasito
Sim	4	80	<i>Ancylostoma spp.</i>
Não	1	20	-
-	5	100	-

**Tabela 11.** Variação de idade dos cães da Baía 6.

Faixa etária	N° de cães	Porcentagem (%)
Até 2 anos	-	-
3 a 6 anos	4	100
Acima de 7 anos	-	-
-	4	100

**Tabela 12.** Frequência de ovos de endoparasitas nas amostras fecais da Baía 6.

Contaminado	N° de amostras	Porcentagem (%)	Parasito
Sim	3	60	<i>Ancylostoma spp.</i>
Não	2	40	-
-	5	100	-

A avaliação hematológica desses animais apresentou grande variação de valores no hemograma e análise sérica bioquímica que são mostradas na tabela 13. Na análise do hemograma desses animais foram encontrados valores abaixo dos de referência para hemácias em 27,9% (12/43), hemoglobina em 25,6% (11/43), volume globular em 20,9% (9/43), plaquetas em 37,2% (16/43), leucócitos em 18,6% (8/43), segmentados em 11,6% (5/43), linfócitos em 4,7% (2/43), eosinófilos em 9,3% (4/43) e monócitos em 20,9% (9/43) dos animais, foram encontrados valores acima da referência de hemoglobina em 2,33% (1/43), leucócitos em 6,98% (3/43), segmentados em 4,65% (2/43), linfócitos em 18,6% (8/43) e eosinófilos em 39,5% (17/43).

**Tabela 13.** Média, desvio padrão e amplitude de variação dos valores dos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos 43 cães analisados.

Parâmetros avaliados	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Valores de referência*
Hemácias (milhões/ $\mu$ L)	6,25	1,2	3,51	8,33	5,5 a 8,5
Hemoglobina (g/dL)	13,62	2,7	7,7	18,5	12 a 18
Volume Globular (%)	41,8	7,2	24	53	37 a 55
Leucócitos (mil/ $\mu$ L)	10,8	5,3	3,9	30,7	6,0 a 17,0
Bastonetes (/ $\mu$ L)	2	11	0	73	0 a 300
Segmentados (/ $\mu$ L)	5.745	2.995	1.973	16.271	3.000 a 11.500
Linfócitos (/ $\mu$ L)	3.222	1.708	585	7.840	1.000 a 4.800
Eosinófilos (/ $\mu$ L)	1.381	1.141	0	6.447	100 a 1.250
Monócitos (/ $\mu$ L)	11	344	0	1.287	150 a 1.350
Plaquetas (mil/ $\mu$ L)	235	90	80	420	200 a 500
Ureia (mg/dL)	48,9	55,5	17	328	21 a 59,9
Creatinina (mg/dL)	0,98	0,66	0,5	4,63	0,5 a 1,5
ALT (UI/L)	27,8	23,6	10	165	21 a 102
Fosfatase alcalina (UI/L)	55,4	25,7	19	131	20 a 156
Proteínas (g/dL)	7,84	1,63	5,4	12,2	5,4 a 7,1
Albumina (g/dL)	2,79	0,4	1,8	3,4	2,6 a 3,3
Globulinas (g/dL)	5,05	1,71	2,9	9,5	2,7 a 4,4

\* Meinkoth e Clinkenbeard (2000); Kaneko (2008).

Na avaliação bioquímica foram encontrados valores abaixo dos de referência para ureia em 9,3% (4/43), ALT em 39,5% (17/43), fosfatase alcalina em 2,33% (1/43) e albumina em 16,6% (7/43) dos cães, além de valores aumentados de ureia em 11,6% (5/43), creatinina em 6,98% (3/43), ALT em 2,33% (1/43), proteínas 60,6% (26/43), albumina em 4,65% (2/43) e globulinas em 58,1% (25/43) dos animais, dos animais que apresentaram aumento dos valores de proteínas somente um caos não apresentou aumento no valor de globulinas.

### 3.2 Discussão

A ocorrência da ovos de *Ancylostoma* spp. nas amostras fecais dos cães desse abrigo se mostrou bem elevada e a presença desse parasito gastrointestinal nesses corrobora com o estudo feito por De Paula (2021), onde foi visto que maior prevalência de *Ancylostoma* spp. nas amostras que foram analisadas no seu estudo, tanto em filhotes quanto em animais adultos. O *Ancylostoma* spp. é um parasito que causa anemia hemorrágica, crônica ou aguda, dependente do estado nutricional do hospedeiro. O quadro anêmico costuma ser mais grave em filhotes e dificilmente identificado em adultos (TAYLOR, 2017). Assim, possivelmente, a anemia observada nos cães deste estudo, decorra da infestação por *Ancylostoma* spp. Além disso, esse parasito gastrointestinal tem grande relevância para a Saúde Única, uma vez que é a principal zoonose causadora da larva migras cutânea ou 'bicho geográfico' no Brasil, além de apresentar grande risco de contaminação de crianças em áreas com presença de areia que possuem animais errantes (PERUCA, 2009; TAYLOR, 2017). A presença desse parasito nesses cães do abrigo analisado, pode representar os animais ainda errantes no município de Vila Velha no Espírito Santo, visto que a maioria dos animais do abrigo em algum momento da sua vida eram animais errantes e isso podem indicar que as areias de lazer publicas desse município podem estar contaminadas com ovos de *Ancylostoma* spp.

No exame de hemograma dos cães analisados foi detectado que muitos apresentavam valores fora da faixa de referência, muitos apresentavam anemia que pode ter como causa déficits nutricionais, anemia hemolítica, hemoparasitoses, doença renal crônica e verminoses (CARDOZO, 2013). Alguns cães apresentavam leucocitose, que para ser ter uma interpretação mais fidedigna do exame é necessário saber qual tipo específico celular está em quantidade elevada, foi encontrado exames com aumento de neutrófilos segmentados que na maioria das vezes ocorre por causa de processo inflamatório, outros animais apresentavam neutropenia que pode ocorrer por causa de consumo por patologia aguda no organismo do animal, por causa de destruição dos neutrófilos, baixa produção na medula óssea e processos infecciosos (WEISER, 2006; NELSON, 2010; GARCIA-NAVARRO, 2005). Em relação aos linfócitos alguns animais apresentavam linfocitose que ocorre em casos de processos infecciosos crônicos, em resposta a excitação e doenças virais, outros apresentavam linfopenia que pode ser causada por infecções virais agudas (WEISER, 2015).

Os valores de eosinófilos foram encontrados aumentados em alguns animais, contudo se for levado em consideração os exames coproparasitológicos, a quantidade de animais apresentando eosinofilia deveria ser maior, visto que os eosinófilos aumentam devido à resposta inespecífica que ocorre ao parasitismo (WEISER, 2015), contudo essa baixa quantidade animais com eosinofilia corrobora com pesquisa feita por Lopes (2021), onde foram vistos que muito dos animais com presença de verminose não apresentavam aumento de eosinófilos. A eosinopenia normalmente está relacionada com o leucograma de estresse e possui pouca relevância clínica dos animais (NELSON, 2006). As plaquetas estavam com valores abaixo da referência em alguns animais, a trombocitopenia pode ser causada pela diminuição da produção, doenças imunomediadas, aumento do consumo, microrganismos infecciosos e doenças neoplásicas. A principal causa de trombocitopenia em cães de origem infecciosa é a erliquiose, que pode ser a causa dessa alteração nos animais do abrigo, por estarem alojados em área endêmica da doença (BAKER, 2015).

No exame bioquímico foi visto o aumento de creatinina e ureia em alguns animais, esses aumentos podem ser devido a desidratação, insuficiência renal aguda, doença renal crônica e doenças infecciosas, além disso o aumento de ureia isolado pode estar relacionado a hemorragia gastrointestinal (MEUTEN, 2015), além disso alguns animais apresentaram concentração sérica de ureia diminuída que pode ocorrer em casos de insuficiência hepática e casos de baixa ingestão de proteínas (DIAZ GONZALEZ, 2022). Foi encontrado também o aumento de ALT em alguns animais, a atividade sérica de ALT pode aumentar em caso de hiporexia, alterações metabólicas, inflamação uso de medicamentos e toxinas bacterianas (ALISSON, 2015a), também houve cães que apresentaram a diminuição da sua atividade que pode ocorrer em casos de lesões hepáticas crônicas e nutrição inadequada (DIAZ GONZALEZ, 2022).

Os valores séricos de proteínas estavam aumentados em alguns cães, esse aumento ocorre devido ao maior teor de albumina ou globulinas ou de ambas. O aumento de albumina pode ter ocorrido por causa de desidratação, sendo a principal causa de hiperalbuminemia, já a hiperglobulinemia pode ter sido causada por processo inflamatório agudo ou crônico, doença hepática e erliquiose (ALISSON, 2015b). A redução dos valores séricos de albumina pode decorrer de lesões intestinais, insuficiência hepática, caquexia, parasitismo gastrointestinal e processos inflamatórios (ALISSON, 2015b).

#### 4. Conclusões

Evidenciou-se alterações no hemograma e exames bioquímicos desses animais, bem como a prevalência de ovos de *Ancylostoma* spp. no exame coproparasitológico. Neste estudo, observou-se que o controle parasitário em cães durante sua estada em abrigos, apesar da adoção de protocolos higiênicos-sanitários e preventivos para doenças, representa grande desafio. Com isso, os interessados na adoção, devem ser alertados e esclarecidos sobre os cuidados a serem adotados na interação homem/animal e na necessidade de acompanhamento médico veterinário no acompanhamento da desverminação desses animais, principalmente, quando o convívio envolver idosos, crianças e pessoas imunossuprimidas.

### Agradecimentos

Agradeço a UVV pela oportunidade de pesquisa, agradeço ao abrigo Animais Carentes, ao laboratório Clínico do Hospital Veterinário UVV, os técnicos e professoras que me auxiliaram durante o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço em especial a minha orientadora, por todo o apoio, ensino e empenho durante todo o processo de desenvolvimento da pesquisa.

### Referências

- ALLISON, R. W. Avaliação laboratorial da função hepática. In: THRALL M. A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. São Paulo: Roca Ltda, 2015. Cap. 26. p. 853-903, 2015a.
- ANTUNES, R. S.; MORAIS, A. F. Correlação de alterações hematológicas em doenças parasitárias Rev. Bras. An. Clin., v. 51, n. 3, p. 191-195, 2019.
- BAKER, D. C. Diagnóstico das anormalidades de hemostasia. In: THRALL, M. A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. São Paulo: Roca Ltda, 2015. Cap. 16. p. 399-439, 2015.
- CAPUANO, D. M., & ROCHA, G. D. M. Ocorrência de parasitas com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em áreas públicas do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 9, p. 81-86, 2006.
- CARDOZO, R. M. et al. Avaliação hematológica em cães errantes da região urbana de Maringá-PR. Pubvet, v. 7, p. 2678-2755, 2013.
- DE PAULA, M. M. A. et al. Avaliação das endoparasitoses intestinais que acometem cães e gatos mantidos em um abrigo. Ars Veterinaria, v. 37, n. 4, p. 273-278, 2021.
- DIAZ GONZALEZ, F. H.; SILVA, S. C. da. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Editora da UFRGS, 2022.
- FERNANDES, K. M.E; FILHO, J. D. R.; FILONI, C. Avaliação de suscetibilidade à cinomose em cães institucionalizados no município de Taubaté-SP. J Health Sci Inst. V. 31, n. 2, p. 210-213, 2013.
- FERRAZ, A.; LIMA, C. M; BARWALDT, E. T.; CASTRO, T. A.; SANTOS, E. M.; ANTUNES, T. A; NOBRE, M. O.; NIZOLI, L. Q. Contaminação das praias do município de Pelotas, por ovos, cistos e oocistos de parasitos gastrintestinais de cães. Ciência Animal, v.32, n.1, p.62-70, 2022.
- FINSTERBUCH, A. et al. Avaliação das alterações de exames bioquímicos indicativos de função renal e hepática em cães seniors e geriátricos. Pubvet, v. 12, p. 133, 2018.
- GARCIA-NAVARRO, C. E. K. Manual de Hematologia Veterinária. 2ª Ed. São Paulo, 2005. p. 62-70.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (eds.) Clinical biochemistry of domestic animals. 6th Ed., San Diego: Academic Press, 2008. 916p.
- LOPES, T.V. et al. Análise de perfil hematológico e exame coproparasitológico de cães em relação ao indicativo da presença de verminoses em um canil em Porto Velho–RO. Research, Society and Development, v. 10, n. 10, p. e78101018016-e78101018016, 2021.
- MEINKOTH, J H & CLINKENBEARD, K D. 2000. Normal hematology of the dog. In: Feldman, B F, Zinkel, J G & Jain, NC. (eds.). Schalm's veterinary hematology. 5ta Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- MEUTEN D. Avaliação e interpretação laboratorial do sistema urinário. In: THRALL M. A et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2 Ed. Roca, 2015. Cap. 23. p. 668-806.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Medicina interna de pequenos animais. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- NETTO, A. M.; BRITO, M. G. S.; PAVANELLI, M. F. Relação entre enteroparasitoses e alterações hematológicas em crianças da região centro-oeste do Paraná. Rev. Bras. An. Clín. v. 48, n. 1, p. 78-84, 2016.
- PERUCA, L. C. B.; LANGONI, H.; LUCHEIS, S. B. Larva migrans visceral e cutânea como zoonoses: revisão de literatura. Veterinária e Zootecnia, v. 16, n. 4, p. 601-616, 2009.
- SILVA, B. J. A. et al. Avaliação das alterações hematológicas nas infecções por helmintos e protozoários em cães (*Canis lupus familiaris*, Linnaeus, 1758). Neotropical Helminthology, v. 4, n. 1, p. 37-48, 2010.
- TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. Parasitologia Veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- TORRES, B. A.; SOUZA, L. Z.; CANDEIAS, A.P. M.; FERNANDES, N. L. M. Ocorrência de parasitas gastrointestinais em cães e gatos atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná Setor Palotina. Archives of Veterinary Science, v.25, n.5 p.25, 2020.
- WEISER, G. Interpretação da Resposta Leucocitária nas Doenças. In: THRALL, M. A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. São Paulo: Roca Ltda, 2015. Cap. 12. p. 276-305.

### Capítulo 3

## “TOLERÂNCIA DE PLANTAS DE AROEIRA (*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI) INOCULADAS COM O FUNGO *SERENDIPITA INDICA* A ALTAS CONCENTRAÇÕES DE MATERIAL SÓLIDO PARTICULADO DE FERRO”

### Autores

Flavio Alves da Silva<sup>1</sup>, Júlia Morais Gimenez Germano<sup>2</sup>, Amanda Azevedo Bertolazi<sup>3</sup>, Alessandro Coutinho Ramos<sup>4\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Bióloga, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES.

<sup>3</sup>Pós-Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal (PPGBV), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>4</sup>Docente do Curso de Ciências Biológicas; Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal (PPGBV), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: alessandro.ramos@uvv.br

Telefone: +55 027 98152-5655

### Resumo

O Material Sólido Particulado de Ferro (MSPFe) é um poluente do solo em áreas de mineração que pode afetar plantas como a aroeira. Este estudo avaliou o impacto da inoculação do fungo *Serendipita indica* em mudas de aroeira sob diferentes concentrações de MSPFe. O fungo não teve seu crescimento in vitro afetado pelo MSPFe, mas foi inibido em pH baixo (4,0). In vivo, o fungo melhorou o crescimento e absorção de macronutrientes, especialmente em altas concentrações de MSPFe, apesar de reduzir a absorção de micronutrientes. O estudo sugere que a inoculação pode ajudar na restauração de áreas contaminadas.

### Abstract

Particulate Solid Iron Material (MSPFe) is a soil pollutant in mining areas that can affect plants such as the aroeira. This study evaluated the impact of inoculating the fungus *Serendipita indica* on aroeira seedlings under different concentrations of MSPFe. The fungus was not affected in vitro by MSPFe but was inhibited at low pH (4.0). In vivo, the fungus improved growth and macronutrient absorption, particularly at high concentrations of MSPFe, despite reducing micronutrient absorption. The study suggests that inoculation may aid in the restoration of contaminated areas.

**Palavras-chave:** mineração; toxidez; fungos endofíticos; análise nutricional.

## 1. Introdução

O Brasil é considerado um dos maiores produtores mundiais de minério de ferro (Fe) (USGS, 2017), sendo o Material Sólido Particulado de Ferro (MSPFe) o principal poluente do ar e do solo nas áreas onde ocorre mineração subterrânea ou a céu aberto (Kuki et al. 2009). O Fe é considerado um nutriente essencial para as plantas, no entanto, em solos de pH ácido, é comum ocorrer reações de redução deste metal, o qual passa de  $Fe^{3+}$  (insolúvel) para  $Fe^{2+}$  (solúvel), potencializando sua solubilização e fitotoxicidade (Sahrawat, 2004; Kuki et al., 2008). Quando depositado no solo ou nas folhas, o MSPFe pode desequilibrar o funcionamento fisiológico e bioquímico das plantas (Krohling et al., 2016), causando o bloqueio da radiação luminosa, aquecimento foliar, alteração da fotossíntese e transpiração, mudanças no pH e no estado nutricional das plantas (Pereira et al., 2009).

A ausência da cobertura vegetal nas áreas impactadas pela mineração aliado ao excesso de Fe no ambiente pode acelerar o processo de degradação ambiental e dificultar os programas de recuperação dessas áreas. Diversos estudos apontam que associar plantas e microrganismos degradadores de metais no solo pode ser uma alternativa sustentável para recuperar áreas contaminadas, principalmente em ambientes com plantas nativas (Weyens et al., 2009).

Entre os fungos que protegem as plantas contra os poluentes de solos como metais pesados, podemos destacar os fungos promotores do crescimento vegetal, que consistem em associações simbióticas mutualísticas, estabelecidas entre os fungos do solo e as raízes das plantas (Smith e Read, 2008). Os benefícios desta associação consistem na transferência de carboidratos fotoassimilados para os fungos e no aumento da superfície de radicular, possibilitando uma maior absorção de água e nutrientes para as plantas (Herrman et al., 2004), promovendo o crescimento vegetal, aumento da tolerância das plantas à seca, a patógenos (Martins et al., 1999) e aos metais pesados do solo (Riverabecerril et al., 2002).

O fungo *Serendipita indica*, é um basidiomiceto endofítico (Verma et al., 1998) que se associa simbioticamente a um número diversificado de plantas (Pascholati et al., 2012). Este fungo proporciona diversos benefícios ao seu hospedeiro como maior crescimento, aumento da absorção de nutrientes e tolerância a estresses bióticos e abióticos (Varma, 2013). Alguns estudos têm demonstrado a capacidade do *S. indica* em proteger as plantas contra a toxicidade de metais como cádmio (Shahabivand et al., 2017; Yashaswee et al., 2019), cobre (Nanda e Agrawal, 2018) e arsênio (Rahman et al., 2020), através da melhora do status fisiológico das plantas ou aumento da atividade antioxidante e redução da produção de espécies reativas de oxigênio.

No entanto, ainda não existem estudos sobre o efeito do MSPFe no crescimento e fisiologia do fungo *S. indica*, tanto *in vitro* quando em associação com plantas. Além disso, também são escassos os estudos envolvendo a ecofisiologia de espécies nativas importantes que se localizam em áreas de preservação e submetidas a contaminação do estresse por Fe, especialmente quando a associação de microrganismos está em consideração para recuperar o solo (Dawkins e Esiobu 2017).

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anarcadiaceae), também conhecida como aroeira-vermelha, é nativa da flora brasileira e faz parte da diversidade do estado do Espírito Santo (ES) (Valadares, 2011; Neves, 2016). Sua presença ao longo da costa do ES, associada a seus múltiplos usos como condimento e nas indústrias de cosméticos e farmacêutica, fornecem diversas possibilidades de desenvolvimento econômico e auxiliam na geração de renda de comunidades.

Porém, estudos com plantas nativas de regiões costeiras no Brasil, sob a influência da atividade de processamento de minério de Fe, mostram que as espécies como a *S. terebinthifolius* Raddi têm sensibilidade fisiológica extremamente dependente do nível de estresse Fe a que são submetidas (Lopes et al., 2000; Oliveira et al., 2007; Kuki et al., 2009).

Desta forma, a hipótese deste trabalho é de que o fungo *S. indica* irá aumentar a tolerância das plantas de aroeira a ambientes com alta incidência de MSPFe, como a região costeira do ES. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do MSPFe no crescimento e nutrição de plantas de aroeira inoculadas ou não com o fungo *S. indica*, a fim de aumentar a produtividade desta espécie de forma sustentável e contribuir para o desenvolvimento econômico e social do estado.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Preparo do meio de cultura

No preparo do meio Kaefer (KM) (Varma et al. 1999) foram adicionados os seguintes reagentes para 1 L: 2 g L<sup>-1</sup> de peptona, 1 g L<sup>-1</sup> de caseína, 1 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura, 10 g L<sup>-1</sup> de glicose, 50 mL L<sup>-1</sup> de solução de macronutrientes (12 g L<sup>-1</sup> NaNO<sub>3</sub>, 10,4 g L<sup>-1</sup> KCl, 10,4 g L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e 30,4 g L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 10 mL de solução de micronutrientes (13,3 μM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 7 μM MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 2 μM ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,5 μM CuSO<sub>4</sub>.5 H<sub>2</sub>O, 0,086 μM (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O), 1 mL L<sup>-1</sup> de Fe-EDTA, 1 mL L<sup>-1</sup> de solução de vitaminas, 20 g L<sup>-1</sup> de ágar. Em seguida regulou-se o pH para 6,5. Após autoclavagem à 121 °C por 20 minutos, verteu-se 20 mL de meio em placas de Petri (10 x 100 mm) em câmara de fluxo laminar vertical.

### 2.2. Obtenção e multiplicação do fungo

O fungo endofítico *Serendipita indica* foi gentilmente cedido pela Profa. Dra. Cristina Cruz do Centro para Ecologia, Evolução e Mudanças Ambientais, na Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal e mantido na coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia da Universidade Vila Velha (UVV), Brasil. As culturas dos isolados foram mantidas em meio de cultura sólido KM (Varma et al. 1999). No preparo das placas, adicionou-se 20 mL de meio de cultura em placas de Petri (10 x 11 mm), as quais foram incubadas na ausência de luz, à temperatura de 22±1 °C em incubadora BOD. Transferências quinzenais para meio fresco de igual composição foram realizadas.

### 2.3. Experimento in vitro (MSPFe e pH)

Para o crescimento do fungo *S. indica* em meio contendo MSPFe e diferentes pHs, foi utilizado o meio Kaefer (KM) sólido, como descrito no item 3.1. No entanto, foram utilizados três pHs (4,0, 5,5 ou 6,5), os quais foram ajustados antes da autoclavagem a 121 °C por 20 minutos.

O meio (25 mL) foi vertido em câmara de fluxo laminar vertical e então foram adicionadas em cada placa as seguintes concentrações de MSPFe: 0, 4 ou 8 g L<sup>-1</sup>. Cada placa de Petri foi inoculada com um disco (11 mm) do *S. indica* (retirados das extremidades de culturas puras) e mantidas em BOD a 28 °C. O crescimento micelial radial foi medido com auxílio de uma régua, durante 25-30 dias de crescimento.

### 2.4. Experimento in vivo: localização e delineamento experimental

O experimento foi realizado em casa de vegetação no Campus Biopráticas da Universidade Vila Velha – ES (Latitude de 20°21'03"S; Longitude de 40°18'09"W; Altitude de 10 m), sob condições de luminosidade e temperatura ambiente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído por 3 concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>) e 2 condições microbiológicas (não inoculado ou inoculado), totalizando 6 tratamentos com 8 repetições cada.

### 2.5. Obtenção das sementes, condições de crescimento e aplicação do MSPFe

As sementes *S. terebinthifolius* Raddi, 1820 (Sapindales: Anacardiaceae Lindley, 1830) foram obtidas no site da loja Sementes Caiçara, e tratadas por meio da desinfestação de superfície com hipoclorito de sódio à 2 % por 5 min, e posteriormente com álcool 70 % por 3 min.

Após a desinfestação, as sementes foram semeadas em placas de Petri (150 x 25 mm) contendo duas camadas de papel germitest úmidos e autoclavados. O processo de germinação das sementes foi realizado em câmara de crescimento com temperatura de  $28 \pm 1$  °C durante 15 dias. Após 15 dias de germinação, as mudas foram transplantadas para sementeiras, contendo areia previamente autoclavada por duas vezes e em seguida colocadas em casa de vegetação. Após 20 dias de crescimento, foi realizada a inoculação com os microrganismos.

A inoculação das plantas com o fungo endofítico foi realizada no momento do transplântio, por meio da utilização de discos de meio de cultura de 11 mm, contendo micélio dos fungos endofíticos. As raízes foram retiradas das sementeiras e envolvidas com 3 discos de meio de cultura com o microrganismo, em seguida, transplantadas para vasos de 600 mL contendo o substrato areia:terra vegetal (2:1). Três meses após o transplântio iniciou-se a aplicação do MSPFe.

O MSPFe utilizado neste experimento foi o minério de ferro em pó, proveniente da indústria de mineração SAMARCO. O minério apresenta 279,0 mg dm<sup>-3</sup> de Fe e é composto por diversos outros elementos e matéria orgânica, conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1.** Análise dos componentes do MSPFe.

pH	P	K	Ca	Mg	Al	Na	C	MO	Fe	Cu	Zn	Mn	S	B
	mg dm <sup>-3</sup>	cmolcdm <sup>-3</sup>				—%			mg dm <sup>-3</sup>					
8,9	71	50	2,9	0,2	0	1,92	0,55	8,47	279	2,7	2,4	311,2	69,1	0,5

90 dias após a inoculação (dai) as plantas foram submetidas a uma aplicação semanal de MSPFe via pulverização. A aplicação do MSPFe seguiu o modelo de Hirano et al. (1995), sendo realizada dentro de uma câmara, para maximizar a eficiência do nível de particulado fornecido neste experimento.

Todas as plantas foram submetidas à irrigação uniforme de água destilada (diariamente) em pH ideal (5,5-6,5) mantendo o substrato próximo a capacidade campo, porém nos mesmos dias que foram realizadas as aplicações do MSPFe, as plantas foram submetidas a pH 4,0 via água ácida utilizando um pulverizador costal (83 mL min<sup>-1</sup> sob 4,0 kg cm<sup>-2</sup> de pressão). Duas vezes por semana, cada vaso foi regado com solução Clark a 1/4 da força iônica (Clark, 1975). O MSPFe, juntamente com a água ácida, foram aplicados durante 60 dias e em seguida foram realizadas as demais análises.

### 2.6. Parâmetros de crescimento

Para avaliar os parâmetros de crescimento, foi medida a altura das plantas utilizando uma régua e o volume de raiz por meio do deslocamento da água em uma proveta. Posteriormente foi realizada a repartição da parte aérea e das raízes e em seguida foi feita a pesagem em balança analítica para a obtenção da massa fresca da parte aérea e da raiz.

Após a coleta e repartição o material foi seco à 70 °C em estufa de circulação forçada de ar, por 96 h, tempo suficiente para estabilizar o peso das amostras. Em seguida foi efetuada a pesagem em balança analítica para a obtenção da massa seca da parte aérea e da raiz.

### 2.7. Determinação da taxa de colonização fúngica

A avaliação da colonização fúngica foi realizada conforme descrito por Phillips e Hayman (1970), com algumas modificações. As raízes foram lavadas em água deionizada e clareadas em KOH 10 % em banho maria a 60 °C por 7 dias e em HCl 1% por 10 min. Após o clareamento, as raízes foram lavadas novamente em água deionizada, coradas em azul de tripano 0,02 % por 20 min e descoradas com água deionizada. 20 segmentos de raízes, com aproximadamente 1 cm de comprimento foram escolhidos aleatoriamente e examinados em microscópio óptico. A distribuição dos esporos dentro do córtex radicular foi utilizada como índice de colonização. A porcentagem de colonização foi determinada a partir da seguinte fórmula:

$$PCR = \left( \frac{NSC}{NTSC} \right) \times 100$$

Sendo:

PCR: Porcentagem de colonização da raiz

NSC: número de segmentos colonizados

NTSC: número total de segmentos analisados

A eficiência fúngica foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$EC (\%) = \left[ \frac{(PSTPI - PSTPNI)}{PSTPNI} \right] \times 100$$

Sendo:

EC: Efetividade de colonização

PSTPI: Peso seco total da parte aérea das plantas inoculadas

PSTPNI: Peso seco total da parte aérea das plantas não inoculadas

### 2.8. Acumulação de nutrientes na parte aérea e na raiz

As amostras da parte aérea e das raízes das plantas dos respectivos tratamentos foram lavadas em água corrente e água deionizada, e em seguida, secas em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C, por um período de 72 h.

Após secagem as amostras foram moídas e o material resultante foi acondicionado em recipientes de plástico hermético, visando um melhor acondicionamento do mesmo para as posteriores análises químicas.

Os teores de P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Zn, Mn, Cu, Mo e Ni foram quantificados por ICP-OES, após digestão com HNO<sub>3</sub> concentrado e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em sistema de digestão aberta. Condições do ICP: gás plasma 8,0 L min<sup>-1</sup>, gás auxiliar 0,70 L min<sup>-1</sup> e gás carreador 0,55 L min<sup>-1</sup> (Peters 2005).

### 2.9. Análise Estatística

Os dados foram analisados estatisticamente por two-way ANOVA. Quando verificado que houve diferença significativa entre os tratamentos, os valores médios foram comparados pelo teste de Tukey em p≤0,05. Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 7.0, com um nível de significância de 5 % para testar as hipóteses.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Efeito de diferentes concentrações de MSPFe e diferentes pHs no crescimento in vitro do fungo *Serendipita indica*

A partir da avaliação de crescimento micelial radial do fungo *S. indica*, em meio KM sólido contendo três concentrações de MSPFe (0; 4 ou 8 g L<sup>-1</sup>) em três pHs (6,5; 5,5 ou 4,0), foram obtidas as médias do diâmetro do crescimento micelial do fungo (Figura 1).

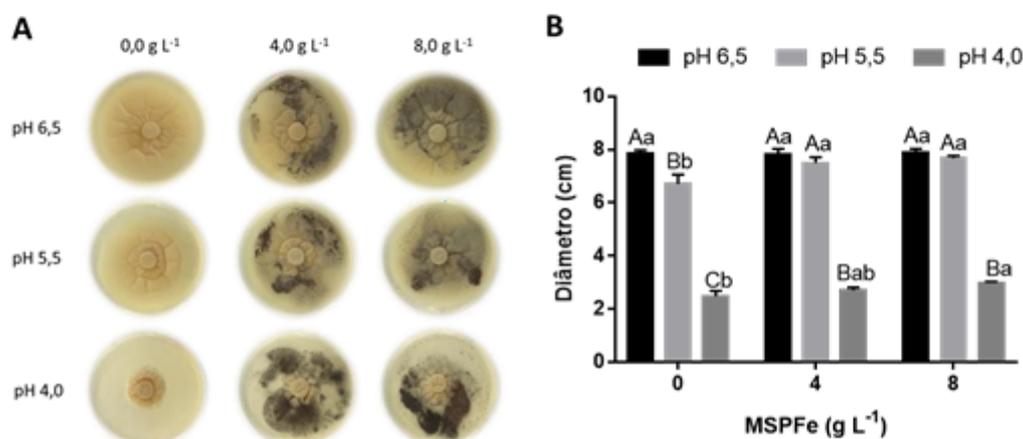


Figura 1. (A) Visão geral do crescimento do fungo *Serendipita indica* em meio KM sólido contendo três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g L<sup>-1</sup>) em três pHs (6,5; 5,5 ou 4,0). (B) Médias do diâmetro do crescimento micelial do fungo *Serendipita indica* em meio KM sólido contendo três concentrações de MSPFe em três pHs. Os dados foram analisados através de two-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g L<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes pHs (6,5; 5,5 ou 4,0), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao  $p \leq 0,05$ . Para cada pH (6,5; 5,5 ou 4,0), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g L<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao  $p \leq 0,05$  ( $n = 4$ ).

Não foram observadas diferenças significativas no crescimento médio do micélio entre os pHs 6,5 e 5,5 em todas as concentrações de MSPFe, exceto na concentração de 0 g L<sup>-1</sup>, em que houve uma inibição significativa do diâmetro do micélio no pH 5,5 em relação ao pH 6,5 (Figura 1). O maior crescimento do fungo foi observado no pH 6,5 (pH ideal de crescimento deste fungo) sem diferenças entre as concentrações de MSPFe (Figura 1). Já no pH 5,5 houve um aumento significativo do diâmetro do micélio nas concentrações de 4 ou 8 g L<sup>-1</sup> em relação a concentração controle (Figura 1). O pH 4,0 inibiu de maneira significativa o crescimento do fungo em relação aos outros tratamentos (pHs 5,5 ou 6,5) em todas as concentrações de MSPFe (Figura 1). O processo de biorremediação de metais realizado por fungos ocorre predominantemente por meio da adsorção, que se dá através das membranas celulares dos fungos, as quais possuem carga negativa e, assim, se ligam aos íons metálicos na estrutura celular (Malik, 2004). Esses grupos químicos carregados negativamente estão presentes ao longo de toda a estrutura do micélio (Horisberger & Clerc, 1988). A adsorção é um processo dependente de carga, ela é influenciada por fatores como pH, temperatura, características dos íons metálicos, como tamanho e carga, além do próprio metabolismo do fungo. No presente estudo, foram obtidos resultados promissores com ambas as doses de MSPFe (4 e 8 g/L) em diferentes faixas de pH, sugerindo que o fungo *Serendipita indica* possui a capacidade de se adaptar às variações de pH no ambiente. Isso indica um potencial para a

sobrevivência do fungo em condições de campo, embora sua eficácia possa ser limitada em solos altamente acidificados.

3.2. Parâmetros de crescimento das plantas de aroeira inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob altas concentrações de MSPFe

A inoculação com fungo endofítico *S. indica* causou um aumento significativo na altura das plantas de aroeira nas concentrações de 4 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe em relação ao tratamento 0 g planta<sup>-1</sup> inoculado (Figura 2). Também foi observado um aumento significativo na altura das plantas na presença de 4 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe sem inoculação, em relação ao tratamento 0 g planta<sup>-1</sup> não inoculado (Figura 2). Quando comparados os tratamentos não inoculados e inoculados em cada concentração de MSPFe, a presença do fungo *S. indica* causou um aumento significativo na altura das plantas somente na concentração de 4 g planta<sup>-1</sup> MSPFe (sendo esta a maior altura observada entre todos os tratamentos, correspondente a 40 cm), e nas demais concentrações não foram observadas diferenças significativas (Figura 2).

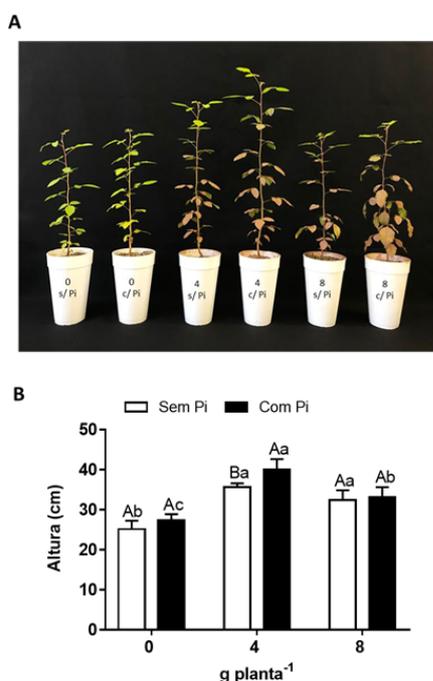


Figura 2. (A) Visualização do crescimento da parte aérea e (B) altura das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>) em pH 4,0. Pi = *Serendipita indica*. Os dados foram analisados através de two-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes condições de inoculação (Sem ou Com Pi), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao  $p \leq 0.05$ . Para cada condições de inoculação (Sem ou Com Pi), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao  $p \leq 0.05$  (n = 4).

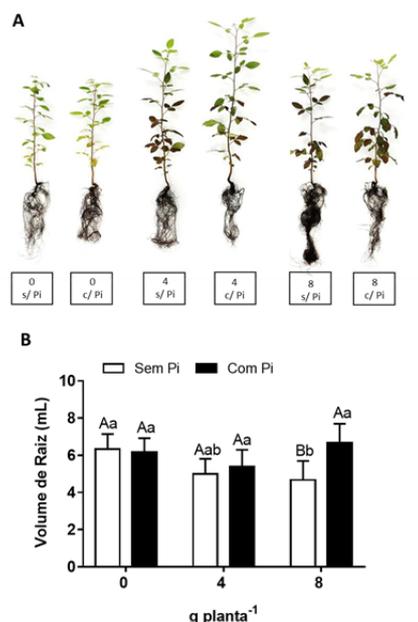


Figura 3. (A) Visualização do crescimento da parte aérea e da raiz e (B) volume da raiz das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>) em pH 4,0. Pi = *Serendipita indica*. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes condições de inoculação (Sem ou Com Pi), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao  $p \leq 0.05$ . Para cada condições de inoculação (Sem ou Com Pi), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao  $p \leq 0.05$  (n = 4).

Não houve diferença significativa no volume da raiz nas plantas inoculadas em relação as plantas não inoculadas em cada concentração de MSPFe, exceto na concentração de 8 g planta<sup>-1</sup>, em que foi observado um aumento do volume da raiz nas plantas inoculadas em relação as plantas não inoculadas (Figura 3). A presença do MSPFe causou uma inibição do volume da raiz nas plantas não inoculadas em relação ao tratamento sem Fe, porém nas plantas inoculadas não foram observados efeitos negativos do MSPFe (4 e 8 g planta<sup>-1</sup>) em relação ao tratamento de 0 g planta<sup>-1</sup> (Figura 3).

A melhoria do crescimento das plantas inoculadas, sob os diversos aspectos, pode estar relacionada ao fato das plantas inoculadas liberarem moléculas complexadoras de metal como tióis livres e ácido oxálico, que agem na regulação e desintoxicação de metais, dessa maneira, reduzindo os efeitos da toxidez do ferro provocada pelas concentrações de MSPFe (Jourand et al., 2014).

A inoculação do fungo endofítico *S. indica* aumentou de forma significativa o peso fresco da parte aérea das plantas de aroeira, nas concentrações de 4 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe, em relação aos seus respectivos controles não inoculados e em relação ao tratamento de 0 g planta<sup>-1</sup> inoculado (Figura 4A). O maior peso fresco da parte aérea (5,86 g) foi observado na concentração de 4 g planta<sup>-1</sup> na presença do fungo. Em relação as plantas não inoculadas, foi observada uma redução significativa do peso fresco da parte aérea na presença de 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe em relação as plantas crescidas em 0 e 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 4A).

Foi observada uma redução gradativa no peso seco da parte aérea das plantas não inoculadas com o aumento das concentrações de MSPFe (Figura 4B). Porém, nas plantas inoculadas só foi observada uma redução significativa do peso seco na presença de 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe, em relação as plantas crescidas em 0 e 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (sem diferença significativa entre estes tratamentos). A presença do fungo *S. indica* causou um aumento significativo do peso seco da parte aérea nas plantas crescidas com 4 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe em relação aos seus respectivos controles, no entanto não houve diferença significativa no peso seco entre as plantas não inoculadas e inoculadas sem MSPFe (Figura 4B).

Nas plantas inoculadas com o fungo *S. indica* crescidas sob 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe houve uma redução significativa do peso fresco da raiz quando comparado as plantas inoculadas com 0 ou 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (sem diferença significativa entre estes tratamentos) (Figura 4C). No entanto, nas plantas inoculadas só foi observada uma redução significativa do peso fresco da raiz na presença de 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe em relação as plantas crescidas em 0 e 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (sem diferença significativa entre estes tratamentos) (Figura 4C). Em cada concentração de MSPFe, a inoculação fúngica causou um aumento significativo do peso fresco da raiz nas plantas crescidas com 0 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe, em relação as plantas não inoculadas destas respectivas concentrações. Não houve diferença significativa no peso seco da raiz entre as plantas não inoculadas e inoculadas crescidas sob 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 4C).

A presença do MSPFe (4 e 8 g planta<sup>-1</sup>) reduziu significativamente o peso seco da raiz das plantas de aroeira inoculadas com *S. indica* em relação as plantas inoculadas crescidas na ausência de MSPFe (Figura 4D). Já nas plantas não inoculadas, só foi observada uma redução significativa do peso seco da raiz na presença de 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe em relação as plantas crescidas em 0 e 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (sem diferença significativa entre estes tratamentos) (Figura 4D). A presença do fungo *S. indica* causou um aumento significativo do peso seco da raiz nas plantas crescidas com 0 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe em relação aos seus respectivos controles, no entanto, não houve diferença significativa no peso seco entre as plantas não inoculadas e inoculadas crescidas com 4 g planta<sup>-1</sup> MSPFe (Figura 4D).

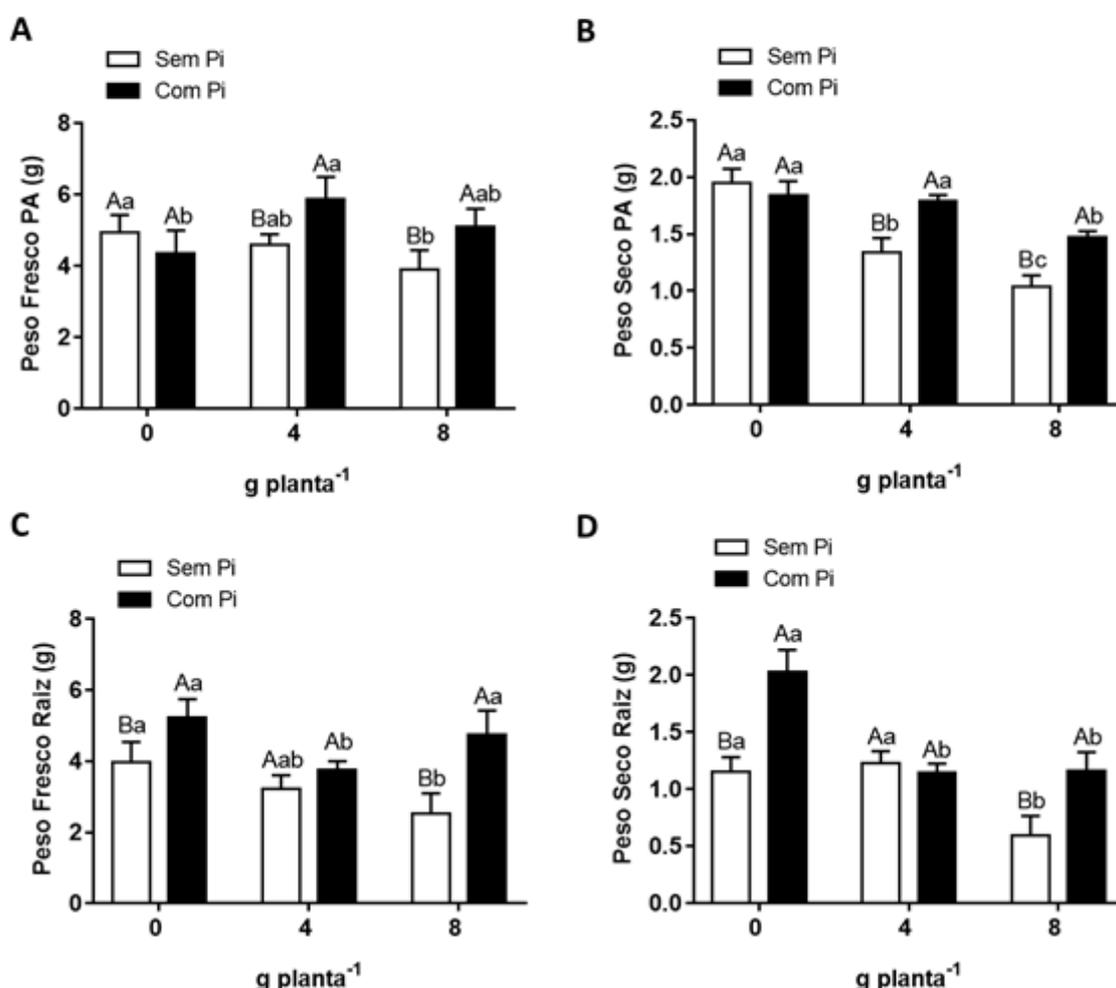


Figura 4. (A) Peso fresco da parte aérea, (B) peso seco da parte aérea, (C) peso fresco da raiz e (D) peso seco da raiz das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>) em pH 4,0. Pi = *Serendipita indica* e PA = parte aérea. Os dados foram analisados através de two-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes condições de inoculação (Sem ou Com Pi), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p ≤ 0.05. Para cada condições de inoculação (Sem ou Com Pi), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p ≤ 0.05 (n = 4).

O incremento na altura, peso seco da parte aérea e peso seco da raiz, realizados pela simbiose, podem estar associados a aperfeiçoamentos na absorção de água e nutrientes fomentada pelo endófito que é um microrganismo promotor do crescimento vegetal (Ruscitti et al., 2011). Em relação ao acréscimo de peso fresco das plantas inoculadas, entende-se que plantas que apresentam essa associação simbiótica geram maiores quantidades de biomassa vegetal, absorvem e acumulam mais metais quando comparadas a plantas não inoculadas (Silva et al., 2006).

A utilização de técnicas biotecnológicas baseadas em microrganismos e plantas para resolução de problemas ambientais, tem sido destaque nas últimas décadas. A biorremediação é um processo no qual organismos vivos (plantas ou microrganismos), são utilizados com o intuito de remover ou reduzir poluentes (orgânicos ou inorgânicos) dos ecossistemas (Pala et al., 2006).

A utilização de fungos como agente biorremediadores de áreas contaminadas tem ganhado destaque, principalmente por ser uma alternativa rápida, eficiente, relativamente barata e sustentável em relação à utilização de produtos químicos, cujos subprodutos podem impactar negativamente os ecossistemas (Soares & Soares, 2012; Martins et al., 2019). Fungos filamentosos possuem características eficientes quando utilizados para a biorremediação de áreas contaminadas, principalmente por colonizarem diferentes substratos, crescerem mais rápido, possuírem uma grande superfície de contato e necessitarem de baixas quantidades de substrato para degradarem poluentes (Bajgai et al., 2012; Harms et al., 2011; Sen & Charaya, 2012).

Além da biorremediação, os microrganismos presentes no solo possuem diferentes mecanismos para promover o crescimento de plantas, como aumento da fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes e produção de fitohormônios (Cardoso; Andreote, 2016). Os fungos filamentosos também podem atuar como promotores do crescimento vegetal e aumentar a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos, como observado neste trabalho com o MSPFe. O fungo *Serendipita indica* se destaca nesse contexto, pois, nas plantas inoculadas conforme os parâmetros de crescimento nas duas concentrações de MSPFe (4 e 8 g/L) foram semelhantes às plantas controle (0 g/L). Isso indica que o fungo *Serendipita indica* possui mecanismos biológicos que promovem a tolerância aos estresses ambientais, garantindo uma maior estabilidade das plantas em relação aos parâmetros de crescimento.

### 3.3. Efeito do MSPFe sob a colonização fúngica radicular

De acordo com as micrografias das raízes de aroeira inoculadas com o fungo *S. indica* e crescidas com 0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe, foi possível observar a presença de diversos esporos fúngicos dentro e ao redor das raízes das plantas inoculadas e crescidas sob todas as concentrações de MSPFe, indicando o sucesso da colonização deste fungo em todos os tratamentos (Figura 5).

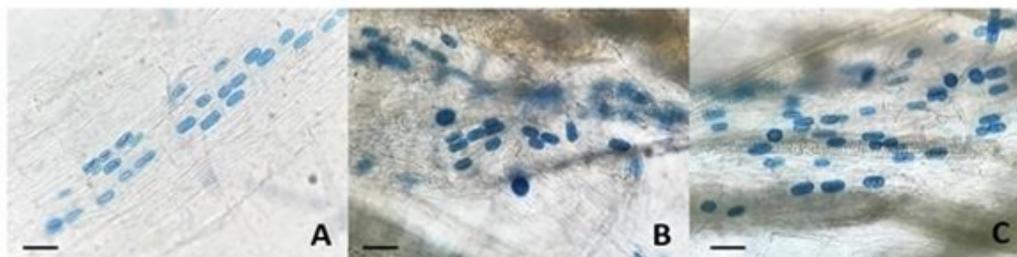


Figura 5. Micrografias representativas da colonização fúngica em raízes de aroeira inoculadas com o fungo *S. indica*, sob aplicação foliar de (A) 0 g planta<sup>-1</sup>, (B) 4 g planta<sup>-1</sup> ou (C) 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe. As barras representam 40 μm. As raízes foram coradas com azul de tripano a 0,02%.

Houve uma alta colonização fúngica nas raízes crescidas sob todas as concentrações de MSPFe, variando de 70 a 90 % (Tabela 2). Foi observado um aumento significativo na porcentagem de colonização do fungo *S. indica* nas raízes das plantas de aroeira crescidas com 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Tabela 2). Porém, a maior eficiência fúngica foi observada nas plantas crescidas sob 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Tabela 2). Andrade et al. (2010), demonstraram que doses gradativas de Cu em solo ácido, aumentaram a colonização por *G. etunicatum* nas raízes de feijoeiro de 44 para 51 %.

**Tabela 2.** Porcentagem da colonização e da eficiência do fungo *S. indica* em plantas de aroeira sob aplicação foliar de 0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe. Letras diferentes em cada coluna representam diferença estatística significativa de acordo com o teste Tukey ao  $p \leq 0.05$ . Os valores são apresentados como médias (n = 5).

Tratamento	Colonização (%)	Eficiência Fúngica (%)
0 g L <sup>-1</sup>	70,0 ± 1,04b	19,09 ± 0,92b
4 g L <sup>-1</sup>	90,0 ± 0,95a	10,18 ± 1,06c
8 g L <sup>-1</sup>	70,0 ± 0,90b	40,29 ± 1,03a

#### 3.4. Análise nutricional da parte aérea e raiz das plantas

Foi analisado o conteúdo de macro e micronutrientes da parte aérea e raiz das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>). Os macronutrientes analisados foram: Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Sódio (Na) e Enxofre (S); E os micronutrientes: Ferro (Fe), Alumínio (Al), Níquel (Ni), Manganês (Mn), Zinco (Zn) e Cobre (Cu) (Figuras 6 a 9).

Verificou-se um aumento significativo no teor de macronutrientes na parte aérea e raiz nas plantas inoculadas nas condições sem o MSPFe (0 g planta<sup>-1</sup>), com exceção para K na parte aérea e P, Mg, Na e S na raiz, quando comparadas as plantas não inoculadas nesta mesma concentração de MSPFe (Figuras 6 e 7).

Após serem submetidas ao tratamento de 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe foi observado, tanto na parte aérea quanto nas raízes, uma redução significativa do teor de macronutrientes nas plantas inoculadas quando comparadas as plantas não inoculadas crescidas sob 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe, com exceção do Ca, Mg, Na e S na parte aérea, em que não houve diferença significativa (Figuras 6 e 7).

Para a maior concentração de MSPFe (8 g planta<sup>-1</sup>), constatou-se, na parte aérea e nas raízes, um aumento significativo do teor de macronutrientes nas plantas inoculadas, exceto para K (parte aérea) que apresentou redução quando comparado ao não inoculado e para P, K, Ca e Na onde não houve diferença significativa nas plantas inoculadas em relação as plantas não inoculadas (Figura 6 e 7).

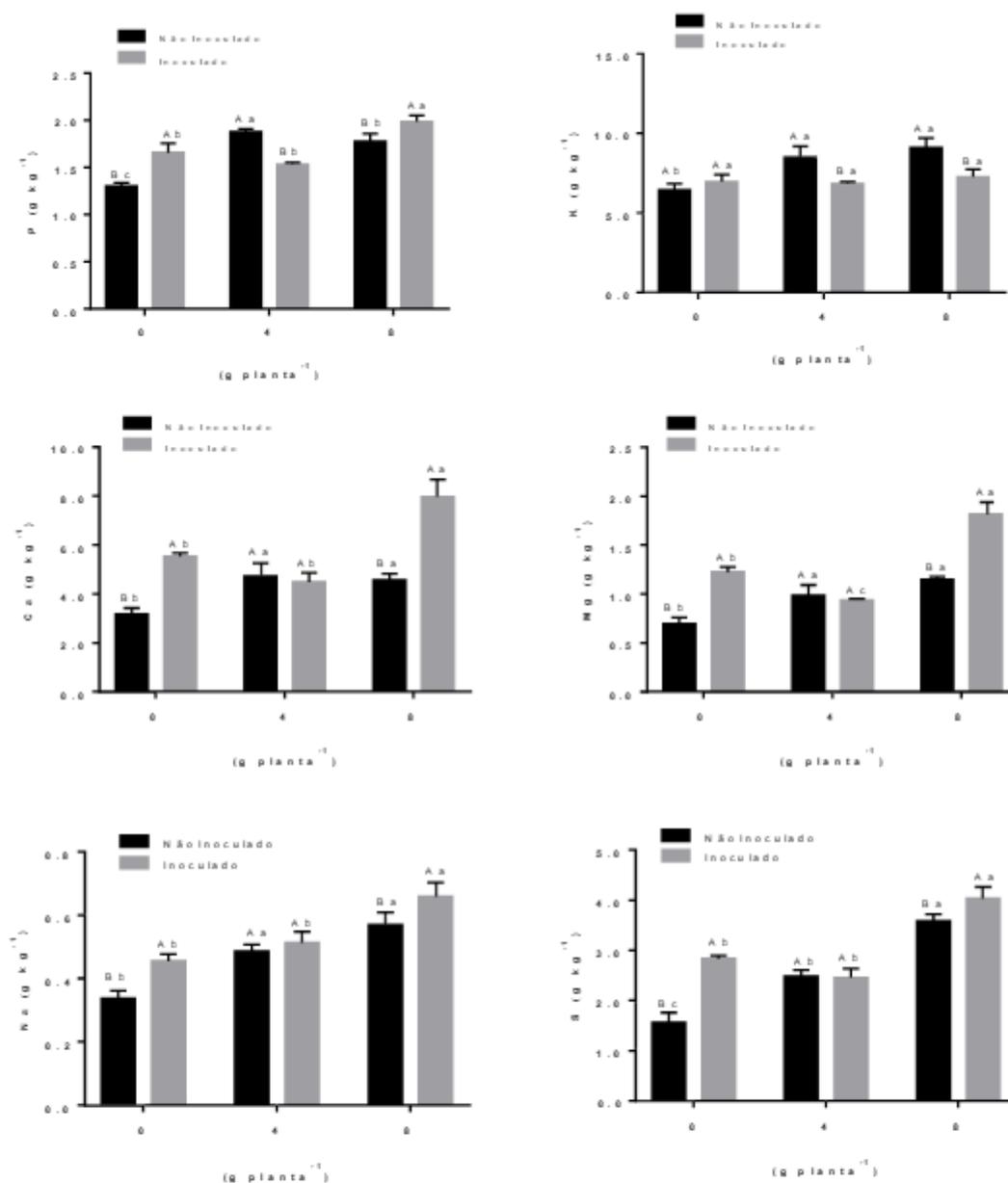


Figura 6. Teor de macronutrientes na parte aérea das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>). Pi = *Serendipita indica*. Os dados foram analisados através de two-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes condições de inoculação (Sem ou Com Pi), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p ≤ 0.05. Para cada condições de inoculação (Sem ou Com Pi), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p ≤ 0.05 (n = 4).

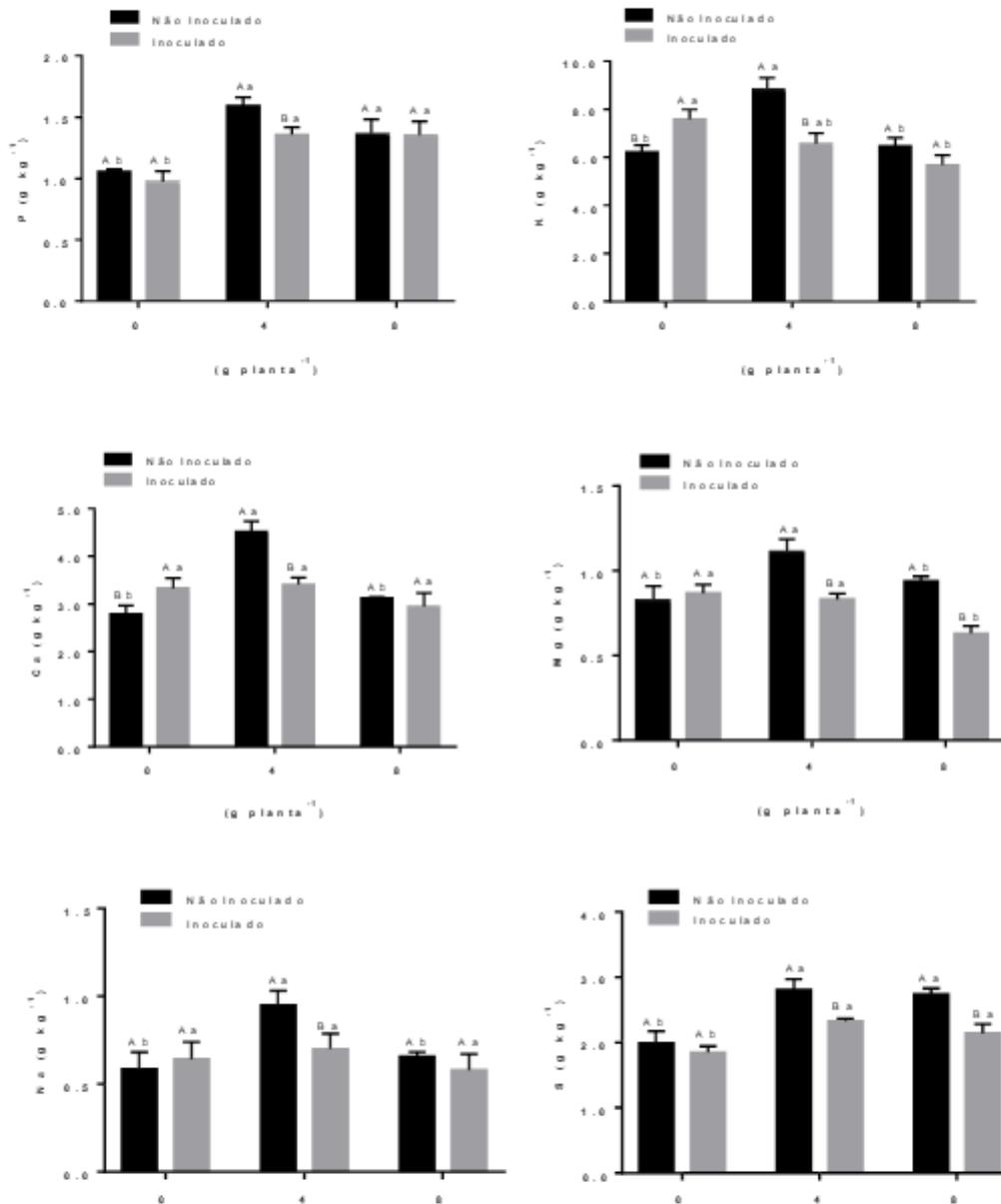


Figura 7. Teor de macronutrientes na raiz das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>). Pi = *Serendipita indica*. Os dados foram analisados através de two-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes condições de inoculação (Sem ou Com Pi), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p ≤ 0.05. Para cada condições de inoculação (Sem ou Com Pi), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p ≤ 0.05 (n = 4).

A aplicação do MSPFe nas concentrações de 0 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe causaram um aumento significativo no teor de Fe e Mn na parte aérea das plantas inoculadas quando comparadas as plantas não inoculadas (Figura 8). Não houve diferença significativa no conteúdo destes nutrientes entre as plantas não inoculadas e inoculadas crescidas sob 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 8). De forma oposta ao observado para os nutrientes Fe e Mn, foi observada uma redução significativa nos teores de Al e Ni nos tratamentos de 0 e 8 g planta<sup>-1</sup> na parte aérea das plantas inoculadas quando comparadas as plantas não inoculadas (Figura 8). Não houve diferença significativa no conteúdo de Al e Ni entre as plantas não inoculadas e inoculadas crescidas sob 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 8).

A inoculação com o fungo *S. indica* provocou uma redução significativa dos teores de Cu na parte aérea das plantas de aroeira crescidas sob 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 8). Já no tratamento de 0 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe, a inoculação fúngica causou um aumento do conteúdo de Cu na parte aérea, quando comparado as plantas não inoculadas (Figura 8). Os teores de Zn na parte aérea das plantas de aroeira tiveram uma grande variação em resposta a inoculação com o fungo *S. indica*, sendo observados um aumento e uma redução significativos no tratamento de 0 e 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe, respectivamente, em relação as plantas não inoculadas (Figura 8). Não houve diferença significativa no teor deste nutriente na parte aérea das plantas não inoculadas e inoculadas no tratamento de 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 8).

Nas raízes das plantas de aroeira inoculadas com o fungo *S. indica* sem aplicação de MSPFe houve um aumento significativo dos teores de Fe e Cu e uma redução significativa nos teores de Ni e Zn, quando comparadas as raízes das plantas não inoculadas (Figura 9). Para os teores de Mn e Al não houve diferença significativa entre as plantas não inoculadas e inoculadas crescidas sob 0 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 9). Foi observada uma redução significativa dos conteúdos de todos os micronutrientes nas raízes das plantas de aroeira crescidas sob 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe e inoculadas com *S. indica*, em relação as plantas não inoculadas deste tratamento (Figura 9).

Para a maior concentração de MSPFe (8 g planta<sup>-1</sup>), constatou-se, nas raízes, uma redução significativa do teor de Fe, Ni e Cu nas plantas inoculadas quando comparadas as plantas não inoculadas (Figura 9). Porém, para os conteúdos de Mn, Al e Zn, não houve diferença significativa entre as plantas não inoculadas e inoculadas crescidas sob 8 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe (Figura 9).

A presença de bactérias, fungos e protozoários no solo proporciona uma vasta variedade de serviços ecossistêmicos que auxiliam os processos naturais de decomposição e disponibilidade de nutrientes em um ecossistema natural ou em sistemas agrícolas. Dentre esses serviços, estão a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfatos, produção de hormônios vegetais e transferência de nutrientes do solo para as raízes das plantas (Cardoso; Andreote, 2016). Essas funções, estimulam diretamente o desenvolvimento de plantas, promovendo um maior acúmulo de nutrientes, tanto na parte aérea, quanto na raiz. Os nutrientes obtidos pelas plantas são essenciais para a constituição das moléculas orgânicas responsáveis pelo funcionamento bioquímico de seres fotoautotróficos, como as plantas (Cardoso; Andreote, 2016).

A absorção desses nutrientes para as plantas pode ocorrer com a ajuda de microrganismos presentes no solo, como *Serendipita indica*, que promoveu um acúmulo de nutrientes nas plantas inoculadas mesmo em condições de estresse metálico.

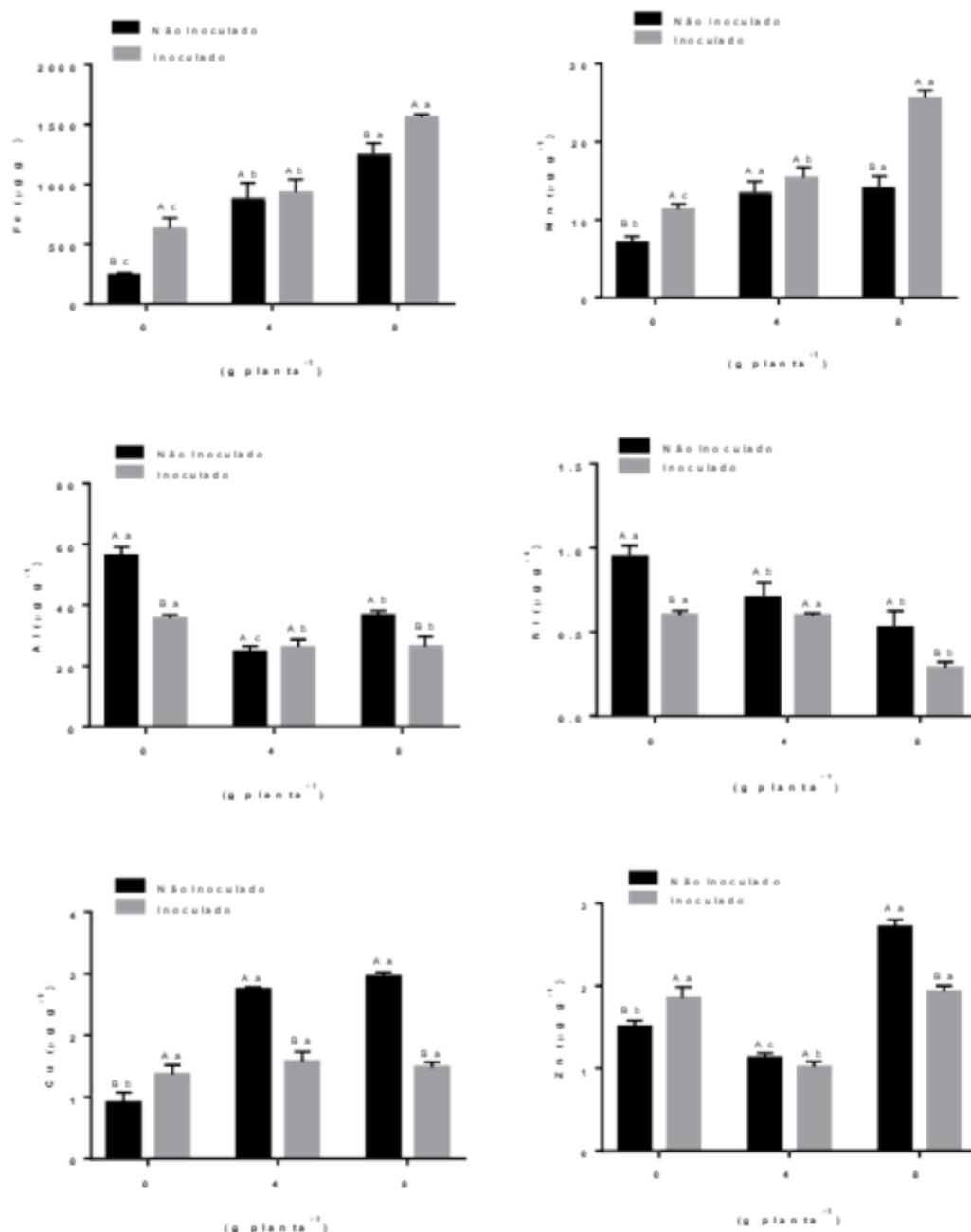


Figura 8. Teor de micronutrientes na parte aérea das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>). Pi = *Serendipita indica*. Os dados foram analisados através de two-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes condições de inoculação (Sem ou Com Pi), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p≤0.05. Para cada condições de inoculação (Sem ou Com Pi), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p≤0.05 (n = 4).

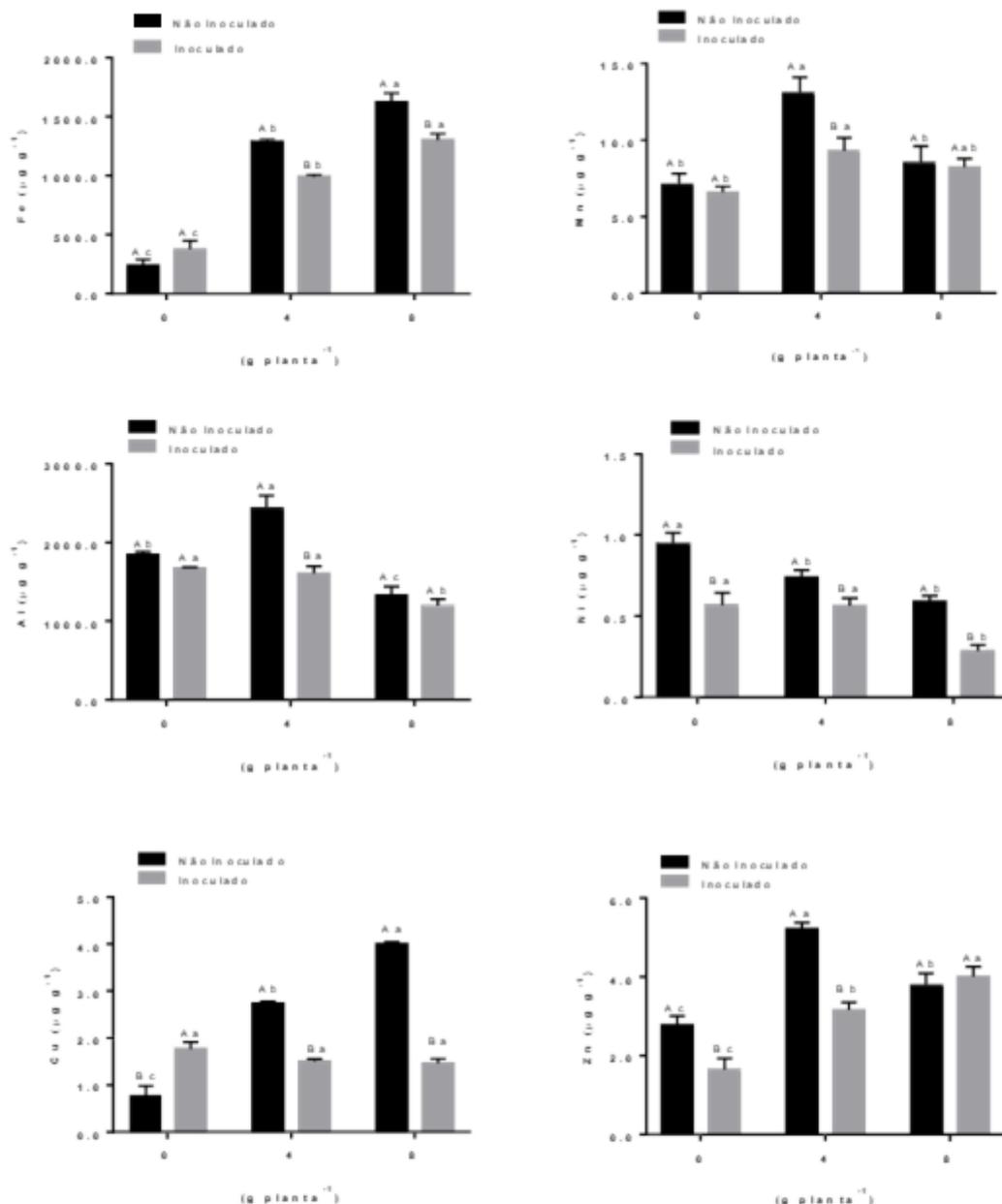


Figura 9. Teor de micronutrientes na raiz das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, crescidas sob três concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>). Pi = *Serendipita indica*. Os dados foram analisados através de two-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), as barras seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes condições de inoculação (Sem ou Com Pi), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p≤0.05. Para cada condições de inoculação (Sem ou Com Pi), as barras seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>), não possuem diferença significativa de acordo com o teste Tukey ao p≤0.05 (n = 4).

A redução do conteúdo de nutrientes observado em alguns tratamentos pode ter ocorrido devido à competição por recursos disponíveis no solo, principalmente em condições de estresse de poluentes. Os microrganismos que vivem na rizosfera podem ser maléficos ou benéficos para o desenvolvimento da planta, impactando diretamente na produção em sistemas agrícolas (Barret et al., 2011). Hallasgo et al. (2020) investigaram a influência de *Serendipita williamsii* e de uma micorriza arbuscular em plantas de tomate, e constataram que a presença desses microrganismos resultou em uma redução no acúmulo de nutrientes do vegetal.

#### 4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos neste trabalho foi possível concluir que as plantas de aroeira inoculadas com o fungo *Serendipita indica* não foram negativamente afetadas pelas altas dosagens de MSPFe aplicadas, em especial no tratamento com 4 g planta<sup>-1</sup> de MSPFe. Desta forma, este trabalho demonstra uma potencialidade no uso das mudas de *S. terebinthifolius* inoculadas com o fungo *S. indica* na restauração de áreas contaminadas com altas concentrações de MSPFe.

Ainda são poucas as informações existentes na literatura sobre os efeitos de MSPFe em plantas associadas a microrganismos promotores do crescimento vegetal, demonstrando assim a importância deste trabalho. Sugerimos como um trabalho futuro, a fim de complementar as informações obtidas neste estudo, analisar o efeito das concentrações de MSPFe (0, 4 ou 8 g planta<sup>-1</sup>) sobre a atividade das enzimas do stress oxidativo em plantas de aroeira inoculadas ou não com o fungo *S. indica*.

#### Agradecimentos

Agradeço a todos os integrantes do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB) da UVV pelo apoio e companheirismo durante a realização desta pesquisa. Em especial, gostaria de agradecer a Amanda Azevedo Bertolazi e Alessandro Coutinho Ramos pela orientação constante e valiosas contribuições. Agradeço, também, à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pela concessão da bolsa, pelo Edital N° 09/2023 - PIBICES 2023.

#### Referências

- ANDRADE, S. A.L. et al. Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. *Environmental and Experimental Botany*, v. 68, n. 2, p. 198-207, 2010.
- BARRET, M.; MORRISSEY, J. P.; O'GARA, F. Functional genomic analysis of plant growth-promoting rhizobacterial traits involved in rhizosphere competence. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v. 47, p. 729–743, 2011.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. *Microbiologia do solo*. 2. Ed. Piracicaba, Sp: ESALQ, 2016. 221 p.
- CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 23, n. 3, p. 458-460, 1975.
- DAWKINS, K.; ESIOBU, N. Arbuscular and ectomycorrhizal fungi associated with the invasive Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*) and two native plants in south Florida. *Frontiers in microbiology*, v. 8, p. 665, 2017.
- HERRMAN, S.; OELMULLER, R.; BUSCOT, F. Manipulation of the onset of ectomycorrhiza formation by indole-3-acetic acid, activated charcoal or relative humidity in the association between oak microcuttings and *Piloderma croceum* influence on plant development and photosynthesis. *J. Plant Physiol.*, v. 161, p. 509- 17, 2004.
- JOURAND, P. et al. Ectomycorrhizal *Pisolithus albus* inoculation of *Acacia spirorbis* and *Eucalyptus globulus* grown in ultramafic topsoil enhances plant growth and mineral nutrition while limits metal uptake. *Journal of plant physiology*, v. 171, n. 2, p. 164- 172, 2014.
- KROHLING C.A. et al. Ecophysiology of iron homeostasis in plants. *Soil science and plant nutrition* v. 62, p. 39–47, 2016.
- KUKI, K.; OLIVA, M. A.; COSTA, A. C. The simulated effects of iron dust and acidity during the early stages of establishment of two coastal plant species. *Water, air, and soil pollution*, v. 196, n. 1-4, p. 287-295, 2009.
- KUKI, K. et al. Iron ore industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation. *Environ*

Manage, v. 42, p. 111-121, 2008.

LOPES, S. A.; OLIVA, M. A.; MARTINEZ, C. A. Impacto das emissões de dióxido de enxofre e deposição de material particulado de ferro em espécies vegetais de restinga: avaliação ecofisiológica. *Ecotoxicologia*, p. 53-71, 2000.

NANDA, R.; AGRAWAL, V. Piriformospora indica, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in *Cassia angustifolia* Vahl under copper stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 156, p. 409-419, 2018.

NEVES, E. J. M. et al. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimenta-rosa. Embrapa Florestas-Documents (INFOTECA-E), 2016.

OLIVEIRA, C. R. M.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. Efeito do Material Particulado de Ferro no Teor de Pigmentos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, n. S2, p. 681-683, 2007.

PALA, D. M.; CARVALHO, D. D.; PINTO, J. C.; SANT'ANNA JR, G. L. A suitable model to describe bioremediation of a petroleum-contaminated soil. *Journal of International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 58, n. 6, p. 254-260, 2006.

PASCHOLATI, S. F. et al. Piriformospora indica-indutor de resistência em plantas contra patógenos. Indução de resistência em plantas a patógenos. Viçosa, UFV, p. 79-112, 2012.

PEREIRA, E.G et al. Photosynthetic changes caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees-Structure and Functions*, v. 23, p. 277, 2009.

PETERS, J.B. Wisconsin Procedures for Soil Testing, Plant Analysis and Feed & Forage Analysis: Plant Analysis. Department of Soil Science, College of Agriculture and Life Sciences, University of Wisconsin-Extension, Madison, W.I. 2005.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions British Mycological Society*, v. 55, p. 158-161, 1970.

RAHMAN, S.U.; KHALID, M.; KAYANI, S. I.; TANG, K. The ameliorative effects of exogenous inoculation of *Piriformospora indica* on molecular, biochemical and physiological parameters of *Artemisia annua* L. under arsenic stress condition. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 206, p. 111-202, 2020.

RUSCITTI, M. et al. Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annum* L.). *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 23, n. 1, p. 15-25, 2011.

SAHRAWAT, K. et al. Elemental composition of the rice plant as affected by iron toxicity under field conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 31, n. 17-18, p. 2819-2827, 2000.

SHAHABIVAND, S.; PARVANNEH, A.; ALILOO, A.A. Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 145, p. 496-502, 2017.

SILVA, S.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.. Fungos micorrízicos no crescimento e na extração de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, n. 12, p. 1749-1757, 2006.

SMITH, S. E.; READ, D. Mycorrhizal symbiosis. 3th ed. Academic Press. 2008.

SOARES, E. V.; SOARES, H. M. Biorremediação de efluentes industriais contendo metais pesados usando células cervejeiras de *Saccharomyces cerevisiae* como tecnologia verde: uma revisão. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 19, p. 1066-1083, 2012.

USGS (U.S. Geological Survey), 2017, Mineral Resources Data System: U.S. Geological Survey database available online em: <https://mrdata.usgs.gov/>.

VALADARES, R. et al. Levantamento florístico de um brejo-herbáceo localizado na restinga de Morada do Sol, município de Vila Velha, Espírito Santo, Brasil. *Rodriguésia-Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, v. 62, n. 4, 2011.

VARMA, A.; KOST, G.; OELMÜLLER, R. (Ed.). *Piriformospora indica: Sebaciales and their biotechnological applications*. Springer Science & Business Media, 2013.

VARMA, A. et al. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, p. 2741-2744, 1999.

VERMA, S. et al. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a New Root-Colonizing Fungus. *Mycologia*, v. 90, n. 5, p. 896-903, 1998.

WEYENS, N. et al. Endophytes and their potential to deal with co-contamination of organic contaminants (toluene) and toxic metals (nickel) during phytoremediation. *International journal of phytoremediation*, v. 13, n. 3, p. 244-255, 2011.

YASHASWEE, S. D. et al. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 186, pp. 109741, 2019.

## Capítulo 4

### “ANÁLISE DO INDÍCE DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS TRATADOS COM SCAFFOLD BIODEGRADÁVEL DE GELATINA”

#### Autores

Gabriel Arrigoni e Silva<sup>1</sup>, Marcio Fronza<sup>2\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Curso de Enfermagem, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: marcio.fronza@uvv.br

Telefone: +55 027 981909318

#### Resumo

O estudo teve como objetivo determinar os efeitos cicatrizantes do scaffold biodegradável à base de quitosana em feridas cutâneas de ratos Wistar, utilizando análises de imagens. Avaliou-se a redução do infiltrado inflamatório durante o reparo tecidual. Os ratos foram submetidos a excisões cirúrgicas e tratados com scaffold por 2, 7, 14 e 21 dias. As imagens das feridas foram capturadas e analisadas com o software ImageJ®. A pesquisa busca comprovar a eficácia anti-inflamatória e cicatrizante do scaffold, contribuindo para o desenvolvimento de um produto biodegradável acessível e de baixo custo para o tratamento de feridas.

#### Abstract

The study aimed to determine the healing effects of a biodegradable chitosan-based scaffold on skin wounds in Wistar rats, using image analysis. The reduction of the inflammatory infiltrate during tissue repair was evaluated. The rats underwent surgical excisions and were treated with the scaffold for 2, 7, 14, and 21 days. Images of the wounds were captured and analyzed using ImageJ® software. The research seeks to demonstrate the anti-inflammatory and healing efficacy of the scaffold, contributing to the development of an affordable, low-cost biodegradable product for wound treatment.

**Palavras-chave:** regeneração tecidual; quitosana; saúde pública; biomateriais; *Mugil cephalus*

## 1. Introdução

As úlceras cutâneas são lesões que comprometem a integridade anatômica da pele, afetando a derme e/ou epiderme, além de prejudicar sua funcionalidade normal (ANDRADE, 2012). Essas lesões frequentemente resultam de desequilíbrios fisiológicos, como insuficiência nutricional, cardíaca, arterial ou venosa, além de condições como perda de mobilidade, diabetes e imunodeficiências (KLEIN et al., 2021; SILVA et al., 2023). A classificação das úlceras como agudas ou crônicas baseia-se principalmente no tempo de cicatrização. As úlceras agudas, geralmente de origem traumática, envolvem a remoção de tecido conjuntivo frouxo e apresentam um processo de reparo organizado, que ocorre entre 5 e 10 dias, podendo se estender até 30 dias (FERREIRA et al., 2022). Em contraste, as úlceras crônicas frequentemente resultam de comprometimentos vasculares e infecções, sendo caracterizadas por um processo de cicatrização prolongado, geralmente superior a seis semanas (SOUZA et al., 2022). Com o envelhecimento populacional e o conseqüente aumento da prevalência de doenças crônicas, as úlceras cutâneas crônicas emergem como um problema de saúde pública significativo no Brasil (KLEIN et al., 2021). Neste contexto, há uma demanda crescente por pesquisas que busquem soluções terapêuticas eficazes para o tratamento dessas lesões.

A cicatrização é um processo biológico multifatorial e contínuo, comumente dividido em quatro fases inter-relacionadas: hemostasia/coagulação, inflamação, formação/proliferação tecidual e remodelagem tecidual (MANDELBAUM et al., 2003; COSTA JR. & MANSUR, 2008). Na fase de hemostasia, o extravasamento sanguíneo preenche a área lesada com plasma e elementos celulares, resultando na formação de um coágulo plaquetário que impede a perda excessiva de sangue (OLIVEIRA et al., 2022). A fase inflamatória se inicia logo após, caracterizada pela liberação de citocinas que atraem neutrófilos para o local da lesão, estabelecendo uma barreira imunológica contra patógenos invasores. Esta fase é clinicamente marcada por dor, rubor, calor e edema (SANTOS et al., 2023; FRONZA et al., 2014). A fase de formação tecidual envolve processos críticos como angiogênese, deposição de matriz extracelular provisória e reepitelização da lesão (ALMEIDA et al., 2023). Por fim, na fase de remodelagem, a matriz extracelular é reorganizada, buscando restaurar a estrutura tecidual normal com colágeno mais estável e organizado (PEREIRA et al., 2023; CAETANO et al., 2016).

Atualmente, não existem muitas opções para os cuidados das feridas. Neste sentido, a contínua busca por alternativas terapêuticas eficazes e economicamente viáveis torna-se uma prioridade. Assim, a utilização de scaffolds biodegradáveis tem-se demonstrado como uma opção promissora. A gelatina do peixe *Mugil cephalus*, um peixe marinho amplamente reconhecido por suas propriedades nutricionais, especialmente pela presença de colágeno em sua pele, o que o torna um candidato ideal para aplicações em engenharia tecidual (ENTIONE et al., 2018; ACEVEDO et al., 2019). Scaffolds são estruturas tridimensionais porosas, desenvolvidas para fornecer suporte físico e bioquímico ao crescimento de tecidos corporais, simulando a arquitetura natural do tecido sem causar efeitos adversos ao hospedeiro (ZHONG et al., 2010). A quitosana, extraída de fontes como exoesqueletos de crustáceos e parede celular de fungos, é um biopolímero de grande interesse na bioengenharia devido às suas propriedades únicas, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, capacidade de promover cicatrização e atividade antimicrobiana, o que reduz significativamente o risco de infecções durante o processo de reparo tecidual (FERNANDES et al., 2022).

Diante deste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial cicatrizante de um scaffold biodegradável à base de quitosana e da gelatina do peixe *Mugil cephalus* em feridas cutâneas em ratos Wistar, utilizando análise de imagens digitais como ferramenta para quantificação do processo.

## 2. Material e Métodos

Após a autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA-UVV), todos os procedimentos experimentais envolvendo os animais foram conduzidos em conformidade com as diretrizes éticas estabelecidas para o uso de modelos animais em pesquisa (CEUA-UVV, protocolo n° 651-2023).

### 2.1. Seleção e Manutenção dos Animais Experimentais

Foram utilizados 40 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), com peso variando entre 280-300 g, adquiridos e mantidos no biotério da Universidade Vila Velha (UVV). Os animais foram alojados em condições padrão de laboratório, com acesso irrestrito a água e ração (*ad libitum*), sob ciclos alternados de luz e escuridão (12 horas cada), a uma temperatura controlada de 22°C. Conforme o padrão estabelecido pelo biotério. Os animais foram mantidos assim até o momento da eutanásia.

### 2.2. Distribuição dos Grupos Experimentais

Os ratos foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos principais: grupo controle e grupo tratamento com scaffolds de gelatina. Cada um desses grupos foi subdividido em quatro subgrupos, de acordo com o tempo de seguimento (2, 7, 14 e 21 dias). Assim, cada subgrupo continha 10 animais, sendo 5 para o grupo controle e 5 para o grupo tratado, conforme apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Desenho experimental

Grupos <sup>1</sup>	Dias de seguimento <sup>2</sup>				Total <sup>3</sup>
	2 dias	7 dias	14 dias	21 dias	Ratos
Controle	5	5	5	5	20
<i>Scaffold</i>	5	5	5	5	20

<sup>1</sup>Grupos de animais tratados (*scaffold*), grupos de animais que apenas foram realizadas as excisões cirúrgicas (controle).

<sup>2</sup>Respectivos dias em que os animais seriam tratados e eutanasiados, assim como a quantidade de animais de cada grupos para cada dia.

<sup>3</sup>Total de animais de cada grupo e total final de animais utilizados no experimento.

### 2.3. Indução de Feridas no Dorsal dos Animais

No dia do procedimento, cada grupo experimental foi submetido à pesagem e anestesia intraperitoneal, utilizando quetamina (80 mg/kg) e xilazina (15 mg/kg). Após a anestesia, os dorsos dos ratos foram tricotomizados para exposição da pele. Com o auxílio de um punch cirúrgico de 150 mm de diâmetro, foram realizadas duas excisões cirúrgicas na região dermo-epidérmica de cada animal. Após a cirurgia, os ratos foram individualmente alojados em gaiolas sem contato direto com a maravalha para evitar contaminação das feridas. Além disso, cada animal recebeu uma dose de dipirona líquida (50 mg/kg) diluída em água para analgesia pós-operatória, conforme estudos anteriores (DOS SANTOS GRAMMA et al., 2016; GUIDONI et al., 2022; ANDRADE, 2012).

### 2.4. Tratamento das Feridas

Os animais do grupo controle foram tratados exclusivamente com solução salina imediatamente após a excisão cirúrgica. Para o grupo tratamento, foi aplicada uma camada de scaffold de gelatina de peixe (*Mugil cephalus*) enriquecida com quitosana diretamente sobre as lesões. As intervenções foram realizadas de acordo com os tempos estabelecidos (2, 7, 14 e 21 dias) para cada subgrupo, a fim de avaliar a progressão da cicatrização ao longo do tempo (ACEVEDO et al., 2019; ENRIONE et al., 2018; ANDRADE, 2012).

### 2.5. Captura e Análise das Imagens

Para monitorar a cicatrização tecidual, foram fotografadas as feridas de todos os animais ao longo do estudo. As imagens foram capturadas utilizando uma câmera digital acoplada a um suporte fixo, garantindo uma distância padronizada de 15 cm entre a câmera e a ferida. Uma régua foi posicionada ao lado da lesão em cada imagem para calibração e padronização da área da úlcera em cm<sup>2</sup>. As imagens foram processadas e analisadas no software ImageJ® para cálculo da área das úlceras (DOS SANTOS GRAMMA et al., 2016; GUIDONI et al., 2022; ANDRADE, 2012).

### 2.6. Eutanásia dos Animais

Após o período experimental, os animais foram eutanasiados utilizando-se de uma overdose de quetamina e xilazina. A morte foi confirmada pela ausência de reflexos, batimentos cardíacos e movimentos respiratórios. Todos os procedimentos de eutanásia seguiram rigorosamente as diretrizes do CEUA-UVV (DOS SANTOS GRAMMA et al., 2016; GUIDONI et al., 2022; ANDRADE, 2012).

### 2.7. Análise do Índice de Cicatrização (ICU)

As áreas das úlceras capturadas foram analisadas no software ImageJ®, com base na fórmula de Índice de Cicatrização de Úlceras ( $ICU\% = \frac{[Área\ Final \times 100]}{\div \ Área\ Inicial}$ ). Valores de ICU maiores que zero indicaram redução da área da úlcera, enquanto valores menores que zero indicaram aumento da área, e valores iguais a zero representaram cicatrização completa (DOS SANTOS GRAMMA et al., 2016; CAETANO et al., 2016; GUIDONI et al., 2022; ANDRADE, 2012).

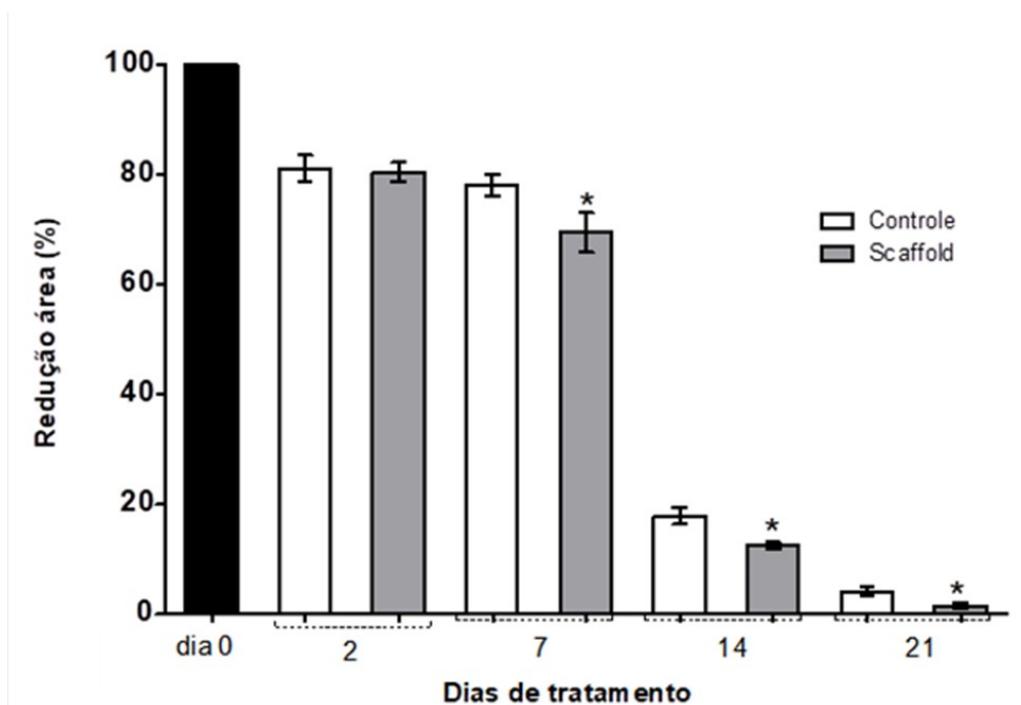
### 2.8. Análise Estatística

A análise estatística foi conduzida utilizando o software GraphPad (San Diego, CA, EUA), com os dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (DP). As diferenças entre os grupos foram avaliadas por meio de análise de variância multifatorial (ANOVA), considerando um nível de significância de  $p < 0,05$ .

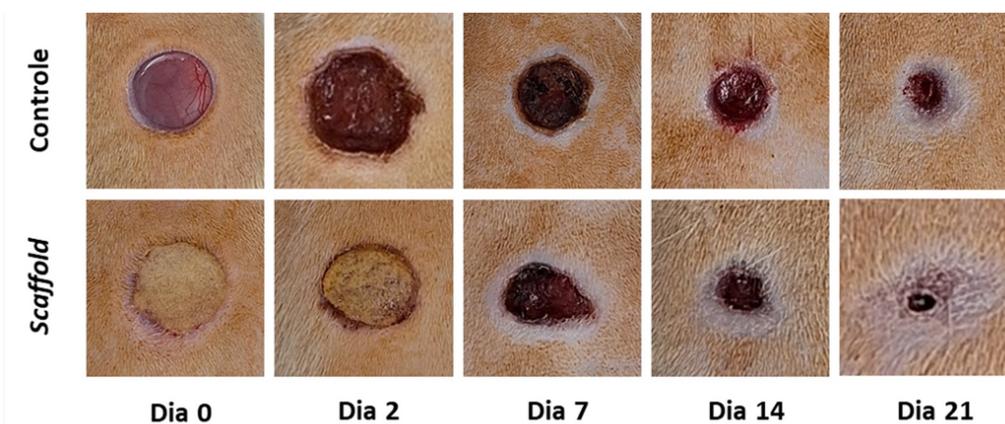
## 3. Resultados e Discussão

### 3. Resultados

Para a avaliação da reepitelização, foi calculado o Índice de Cicatrização das Úlceras (ICU%), utilizando as áreas das úlceras medidas pelo software ImageJ® nos diferentes tempos de seguimento. Esses dados foram convertidos em porcentagem para uma melhor visualização nos gráficos, facilitando a comparação entre os grupos tratados e controle. O tratamento tópico das lesões com o scaffolds à base de gelatina de peixe (Mugil cephalus) e quitosana promoveu uma regeneração tecidual eficiente e dinâmica. Essa abordagem resultou em um fechamento acelerado das feridas nos ratos do grupo tratado, quando comparado ao grupo controle, como evidenciado nas Figuras 1 e 2. Além de acelerar o fechamento das feridas cutâneas, o scaffold também facilitou a recuperação mais rápida das estruturas epidérmica e dérmica. As lesões nos grupos tratados apresentaram menor inflamação e resultaram em cicatrizes mais normotróficas. As reduções significativas nas áreas das feridas nos grupos tratados foram observadas nos tempos de 7, 14 e 21 dias, com reduções aproximadas de 11%, 30% e 51%, respectivamente, em comparação com o grupo controle. Esse resultado destaca o efeito positivo dos scaffolds no processo de cicatrização, especialmente nas fases inflamatória (dia 7) e de remodelagem tecidual (dia 21). No entanto, no dia 2, não houve diferença significativa entre os grupos, uma vez que a ferida ainda estava no pico da fase inflamatória, conforme ilustrado nas Figuras 1 e 2.



**Figura 1.** Uso de *scaffold* à base de gelatina de peixe (*Mugil cephalus*) com quitosana acelerou o fechamento de feridas excepcionais em ratos. A redução da área das feridas após o tratamento com o *scaffold* foi avaliada nos dias 7, 14 e 21 dias, com os resultados expressos como porcentagem em relação ao tamanho original da ferida (dia zero). Os valores são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (DP) (n=20 feridas/grupo).  $p < 0,05$  em comparação com o grupo controle.



**Figura 2.** Seguimento clínico das úlceras dérmicas dos respectivos grupo controle e tratado. O uso de *scaffold* à base de gelatina de peixe (*Mugil cephalus*) com quitosana acelerou o fechamento de feridas excepcionais nos ratos. A redução das feridas após o tratamento com o *scaffold* foi avaliada nos dias 2, 7, 14 e 21 dias.

#### 4. Discussão

As úlceras cutâneas representam um desafio significativo no campo da saúde pública, afetando milhões de pessoas em todo o mundo. A cronicidade dessas lesões é especialmente preocupante, pois dificulta a cicatrização e aumenta os custos de tratamento, impactando diretamente a qualidade de vida dos pacientes (LINDHOLM et al., 2016; KLEIN et al., 2021). Estima-se que cerca de seis milhões de pessoas sofram de problemas relacionados à cicatrização de úlceras, uma condição que demanda intervenções mais eficazes e acessíveis (KLEIN et al., 2021; WAIDMAN et al., 2011).

A cicatrização de feridas é um processo fisiológico complexo, envolvendo uma série de eventos celulares, moleculares e bioquímicos que ocorrem de forma sequencial. Esses eventos têm o objetivo de restaurar a integridade da pele, tanto em termos de função quanto de resistência mecânica (MANDELBAUM et al., 2003). No entanto, a cicatrização inadequada pode levar a infecções, dor crônica e até mesmo à amputação de membros, aumentando a carga sobre os sistemas de saúde (FRONZA et al., 2014).

Diante dessa realidade, a busca por alternativas terapêuticas eficazes e economicamente viáveis torna-se uma prioridade. Embora existam vários tratamentos disponíveis, muitos deles são caros e inacessíveis para a maioria da população. Nesse contexto, o desenvolvimento de scaffolds baseados em biomateriais como a quitosana e a gelatina de subprodutos de peixes surge como uma solução promissora (ENRIONE et al., 2018; ACEVEDO et al., 2019). Estudos anteriores já demonstraram a eficácia da quitosana em associação com a gelatina na aceleração do processo de cicatrização em modelos animais, como ratos (ENRIONE et al., 2018).

#### 4. Conclusões

Este estudo demonstrou que o uso de scaffolds à base de gelatina de *Mugil cephalus* e quitosana apresentou uma eficácia considerável na cicatrização de úlceras cutâneas em ratos. Os resultados apontaram uma redução significativa nas áreas das lesões ao longo do tempo, com aceleração no fechamento das feridas e melhoria na reestruturação das camadas epidérmicas e dérmicas, o que resultou em cicatrizes mais homogêneas. Esses achados evidenciam o potencial do biomaterial como uma alternativa eficaz no tratamento de lesões cutâneas, oferecendo uma nova abordagem terapêutica que pode ser implementada em diferentes cenários clínicos.

Considerando o caráter multifatorial e dinâmico do processo de cicatrização, a pesquisa reforça a importância de explorar novos materiais que associem eficácia e custo-benefício. O uso de subprodutos de *Mugil cephalus* em combinação com quitosana surge como uma solução inovadora e acessível, que pode não apenas melhorar os resultados clínicos, mas também contribuir para a sustentabilidade dos tratamentos médicos, minimizando os custos e impactos econômicos associados às úlceras crônicas.

Além disso, a presente investigação abre caminho para futuras pesquisas que poderão expandir o uso desses scaffolds para outras condições dermatológicas e lesões de diferentes etiologias, permitindo que os benefícios observados neste modelo experimental sejam potencialmente replicados em contextos clínicos diversos. Dessa forma, o estudo não apenas avança o conhecimento na área de cicatrização de feridas, mas também sugere uma aplicação prática relevante para a medicina regenerativa e a bioengenharia tecidual.

#### Agradecimentos

Quero agradecer a Universidade Vila Velha por me conceder a bolsa de iniciação científica, contribuindo para o fomento de novas pesquisas e o ingresso de graduandos a pesquisa. Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Marcio Fronza, por todo apoio, ensino e atenção durante esse um ano de pesquisa e, agradeço também a todos os demais pesquisadores do laboratório de cultura de células que de alguma forma me apoiaram.

## Referências

- Acevedo, C. A., Sánchez, E., Orellana, N., Morales, P., Olguín, Y., Brown, D. I., & Enrione, J. (2019). ReEpithelialization Appraisal of Skin Wound in a Porcine Model Using a Salmon-Gelatin Based Biomaterial as Wound Dressing. *Pharmaceutics*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS11050196>
- Andrade, T. A. M. de. (2012). Modificações teciduais e mecanismos de ação da fração F1 do látex da seringueira *Hevea brasiliensis* na cicatrização de úlceras cutâneas em ratos diabéticos. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. DOI: 10.11606/T.17.2012.tde-22022012-094819
- Caetano, G. F., et al. (2016). Comparison of collagen content in skin wounds evaluated by biochemical assay and by computer-aided histomorphometric analysis. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), 2555–2559. DOI: 10.3109/13880209.2016.1170861
- Costa Jr, E. S., & Mansur, H. S. (2008). Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. *Química Nova*, 31(66), 1460-1466. DOI: 10.1590/S0100-40422008000600008
- Dos Santos Gramma, L. S., et al. (2016). *Struthanthus vulgaris* ointment prevents an over expression of inflammatory response and accelerates the cutaneous wound healing. *Journal of Ethnopharmacology*, 190, 319–327. DOI: 10.1016/j.jep.2016.06.050
- Enrione, J., Pino, K., Pepczynska, M., Brown, D. I., Ortiz, R., Sánchez, E., & Acevedo, C. A. (2018). A novel biomaterial based on salmon-gelatin and its in vivo evaluation as sterile wound-dressing. *Materials Letters*, 212, 159–164. <https://doi.org/10.1016/J.MATLET.2017.10.049>
- Fronza, M., et al. (2014). Hyaluronidase modulates inflammatory response and accelerates the cutaneous wound healing. *PLoS One*, 9(11), e112297. DOI: 10.1371/journal.pone.0112297
- Guidoni, M., et al. (2022). Liposomal stem cell extract formulation from *Coffea canephora* shows outstanding anti-inflammatory activity, increased tissue repair, neocollagenesis and neoangiogenesis. *Archives of Dermatological Research*, 314(1), 107-117. DOI: 10.1007/s00403-022-02388-2
- Klein, T. M., et al. (2021). Social participation of people with chronic wounds: A systematic review. *International Wound Journal*, 18(3), 287–298. <https://doi.org/10.1111/IWJ.13533>.
- LINDHOLM, C. et al. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. *International Wound Journal*, v. 13, supl. 2, p. 5–15, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/IWJ.12623>.
- LV, L. C. et al. Fish gelatin: the novel potential applications. *Journal of Functional Foods*, v. 63, p. 103581, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103581>.
- Mandelbaum, S. H., Di Santis, E. P., & Mandelbaum, M. H. S. (2003). Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 78(4), 393-408. DOI: 10.1590/S0365-05962003000400006.
- WAIDMAN, M. A. P. et al. O cotidiano do indivíduo com ferida crônica e sua saúde mental. *Texto & Contexto - Enfermagem*, v. 20, n. 4, p. 691–699, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-07072011000400007>.
- ZHANG, Z. et al. Oral administration of skin gelatin isolated from Chum salmon (*Oncorhynchus keta*) enhances wound healing in diabetic rats. *Marine Drugs*, v. 9, n. 5, p. 696–711, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3390/MD9050696>.
- ZHONG, S. P. et al. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 2, n. 5, p. 510–525, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/WNAN.100>.

## Capítulo 5

# “TENDÊNCIA E MOTIVAÇÕES POR TRÁS DA REDUÇÃO NA TAXA DA VACINAÇÃO: UMA ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA”

### Autores

Gabriela Costa Souza<sup>1</sup>, João Pedro Assis De Paiva<sup>1</sup>, Caio Guzzo Farina<sup>1</sup>, Gustavo Maffioletti Dalcumune<sup>1</sup>, Tamea Aparecida Linhares Possa Oliveira<sup>2\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Medicina, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Curso de Medicina, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: [tamea.possa@uvv.br](mailto:tamea.possa@uvv.br)

Telefone: +55 027 99960-1777

### Resumo

O sistema de imunização é essencial para a prevenção de doenças infecciosas e promoção da saúde, reduzindo morbidade e mortalidade. Embora a cobertura vacinal nacional tenha se mantido acima de 70% desde os anos 2000, caiu para 59,9% em 2016 e 52,1% em 2021. Essa diminuição compromete a proteção coletiva e representa uma ameaça à saúde pública. Identificar as razões para a redução da cobertura vacinal é crucial para melhorar estratégias de conscientização e intervenção. O artigo científico visa explorar as causas da hesitação e recusa à vacinação para aprimorar abordagens de saúde pública.

### Abstract

The immunization system is essential for the prevention of infectious diseases and the promotion of health, reducing morbidity and mortality. Although the national vaccination coverage has remained above 70% since the 2000s, it fell to 59.9% in 2016 and 52.1% in 2021. This decline compromises collective protection and poses a threat to public health. Identifying the reasons for the reduction in vaccination coverage is crucial for improving awareness and intervention strategies. The scientific article aims to explore the causes of vaccine hesitancy and refusal to enhance public health approaches.

**Palavras-chave:** Imunização; Brasil; Diminuição; Causa; Intervenção;

## 1. Introdução

A história da vacinação no Brasil é uma narrativa marcada por avanços significativos, desafios persistentes e um compromisso contínuo com a proteção da saúde pública. Desde os primeiros esforços para controlar a varíola no século XIX até os desafios contemporâneos enfrentados na era da Covid-19, a trajetória da vacinação no Brasil reflete não apenas os avanços científicos e tecnológicos, mas também as complexidades sociais, políticas e econômicas que moldaram a saúde pública no país.

No início do século XIX, com a introdução da vacina contra a varíola pelo médico britânico Edward Jenner, o Brasil deu os primeiros passos na jornada rumo à imunização em massa. As campanhas de vacinação contra a varíola foram fundamentais para controlar a disseminação da doença e estabelecer as bases para futuras iniciativas de vacinação em todo o país.

Atualmente, o programa nacional de imunizações (PNI) é amplamente reconhecido no cenário internacional por suas abordagens inovadoras para garantir uma cobertura vacinal abrangente. Entre essas abordagens estão a realização de vacinas de rotina, a execução de campanhas anuais de vacinação e o estabelecimento de metas claras para a cobertura vacinal (PEREIRA DDS, et al., 2013).

O PNI também se destaca pela faixa etária atendida, abrangendo desde crianças, adolescentes, adultos, idosos, incluindo também imunossuprimidos e pessoas vivendo com HIV. Adicionalmente, o programa promove ativamente parcerias estratégicas e incentiva a modernização e expansão da produção nacional de imunobiológicos, apoiando a pesquisa e o desenvolvimento de novas vacinas e tecnologias de produção. Esta combinação de estratégias visa assegurar uma imunização eficaz e sustentável para toda a população (BRASIL, 2013).

O índice de cobertura vacinal (icv) tem sido uma medida importante para avaliar o sucesso da vacinação. Graças ao PNI, desde a década de 1980, houve um aumento gradual no icv devido ao fortalecimento das ações de vacinação, disponibilização de vacinas no sistema público de saúde e organização de campanhas de imunização. Entre as grandes conquistas do PNI, destaca-se a interrupção da transmissão do poliovírus selvagem, da rubéola, da síndrome da rubéola congênita e do tétano neonatal, além da redução significativa de outras doenças transmissíveis. (DOMINGUES et al., 2020)

No entanto, nas últimas décadas, tem havido uma preocupante queda na cobertura vacinal em diversos países, incluindo o Brasil. Esta tendência representa uma ameaça significativa para a saúde das populações e para os ganhos alcançados no controle de doenças preveníveis por vacinação, com retorno de diversas enfermidades consideradas erradicadas ou bem controladas no país. E os níveis abaixo do ideal de cobertura vacinal, aliados ao envelhecimento da população, estão causando uma substituição de indivíduos imunes por outros suscetíveis, criando um risco à saúde pública.

Essa queda é atribuída a diversos fatores, como o desconhecimento da importância da vacinação, hesitação vacinal, efeitos adversos, notícias falsas, desabastecimento parcial de produtos, problemas operacionais na execução da vacinação, como erros de registro de dados e dificuldade de acesso à unidade de saúde. Além disso, a pandemia de covid-19 trouxe uma nova urgência para a agenda da vacinação no Brasil, contribuindo para desafios logísticos associados à disseminação de desinformação e conflitos ideológicos, potencializando a recusa vacinal, complicando ainda mais os esforços de imunização em massa.

Nesse contexto, este artigo visa explorar em profundidade os múltiplos fatores que contribuem para a queda na cobertura vacinal no Brasil, bem como as estratégias e intervenções necessárias para enfrentar esse desafio. Ao analisar criticamente esse problema complexo, espera-se oferecer insights valiosos que possam informar políticas e práticas para promover a imunização e proteger a saúde das populações brasileiras.

## 2. Metodologia

O estudo atual tem como foco uma análise sobre a diminuição da cobertura vacinal no Brasil nos últimos anos, com o intuito de investigar as razões e os impactos decorrentes dessa diminuição da adesão à imunização no país, assim como, propor possíveis formas de intervenção para resolução do problema. A pesquisa envolveu a consulta de artigos científicos em português e inglês, publicados de 2013 até 2023 disponíveis online nas bases de dados: PubMed, Scielo e Google Acadêmico. Os termos utilizados para a pesquisa foram: “cobertura vacinal”, “recusa à vacinação”, “movimento contrário à vacina”, “políticas de saúde”, “confiança nas vacinas” e “imunização”.

Assim, procurou-se incluir uma variedade de termos e diferentes combinações para englobar uma ampla gama de publicações, incluindo artigos, revistas, livros e relatórios técnicos relevantes com base nas palavras-chave e impacto acadêmico, com foco na busca por estudos específicos relacionados ao contexto nacional. Por outro lado, foram excluídos aqueles que não apresentassem informações relevantes ao foco da revisão no título, resumo ou palavras-chave, ou que não contribuíssem para a criação de estratégias gerais de aumento de cobertura.

Em seguida à seleção dos artigos, procedeu-se com a análise e síntese dos dados coletados. Realizou-se a extração de informações relevantes de cada estudo, incluindo tendências observadas na taxa de vacinação, motivações identificadas para a redução na vacinação, metodologias utilizadas e principais resultados, incorporando um feedback para aprimorar a validade e confiabilidade da análise.

Nesta revisão foram selecionadas 14 publicações para a escrita, sendo 11 artigos, 3 revistas e 1 livro, analisados conforme os critérios de seleção estipulados, além de coleta de dados epidemiológicos do DATASUS e do programa nacional de imunização, disponibilizado pelo Ministério da Saúde.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Resultados

Segundo dados do próprio programa nacional de imunizações (PNI), nos últimos anos as coberturas vacinais entre menores de 1 ano de idade foram inferiores ao mínimo desejado. Em 2017, iniciou-se um período crítico, quando 25% da população em risco de contrair febre amarela, em sua maioria crianças, não foram vacinadas. Em junho de 2018, o órgão fez um alerta de que 312 municípios haviam vacinado menos de 50% das crianças na faixa etária recomendada contra a pólio (MILANI; BUSATO, 2021).

Dados revelam que apenas 88% da população-alvo foi vacinada contra o sarampo, em todo o país no ano de 2021 (o percentual mínimo para a eliminação desta doença é 95%), enquanto 100 municípios brasileiros, a cobertura alcançou menos de 50% da população-alvo contra a poliomielite. Além disso, mais da metade das cidades brasileiras não atingiram a cobertura adequada para a maioria das vacinas do calendário nacional. Apenas 44,6% dos municípios alcançaram a meta estipulada para a poliomielite, algo semelhante ocorrendo com hepatite A, BCG, rotavírus, meningocócica C e pentavalente. No mesmo ano, de acordo com o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil (DATASUS), as oito vacinas obrigatórias até o primeiro ano de vida estão com cobertura abaixo do recomendado pela OMS, que é de 90% a 95% (MILANI; BUSATO, 2021).

Paralelamente à revisão de literatura, foram coletados dados epidemiológicos no DATASUS da cobertura vacinal de alguns dos principais imunizantes fornecidos pelo PNI entre o período de 2015 a 2022. Os resultados encontrados foram dispostos nas Figuras 1 e 2, Tabelas 1 e 2.



Figura 1. Gráfico do percentual de cobertura vacinal. Dados da cobertura vacinal (SI-PNI) anual no período de 2015 a 2022 dos imunizantes BCG, Rotavírus, Meningococo, Hepatite B e Poliomielite, obtidos através do Tabnet/Datasus com data de atualização em maio de 2023.

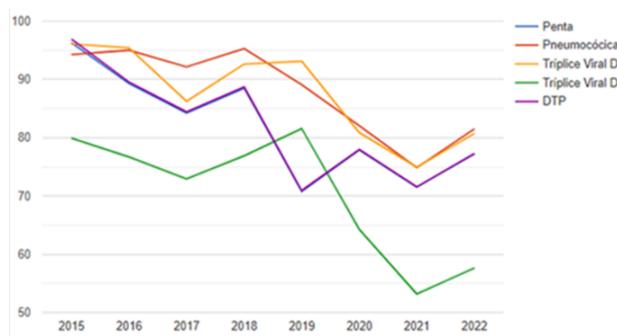


Figura 2. Gráfico do percentual de cobertura vacinal. Dados da cobertura vacinal (SI-PNI) anual no período de 2015 a 2022 dos imunizantes Pentavalente, DTP Pneumocócica, Tríplice Viral dose 1 e dose 2, obtidos através do Tabnet/Datasus com data de atualização em maio de 2023.

**Tabela 1. Cobertura Vacinal no Brasil.**

Ano <sup>1</sup>	BCG	Rotavírus Humano	Meningococo C	Hepatite B	Poliomielite
Total	90,95	84,15	85,50	84,28	83,34
2015	105,08	95,35	98,19	97,28	98,29
2016	95,55	88,98	91,68	105,19	84,43
2017	97,98	85,12	87,44	84,40	84,74
2018	99,72	91,33	88,49	88,53	89,54
2019	86,67	85,40	87,41	70,77	84,19
2020	77,14	77,94	79,23	77,86	76,79
2021	74,97	71,80	72,17	71,53	71,04
2022	90,09	76,61	78,63	77,24	77,20

<sup>1</sup>Dados de cobertura vacinal (SI-PNI) obtidos do Tabnet/Datasus com data de atualização em maio de 2023. Tabela do percentual de cobertura vacinal em cada ano.

**Tabela 2. Cobertura Vacinal no Brasil.**

Ano <sup>1</sup>	Penta	Pneumocócica	Tríplice Viral D1	Tríplice Viral D2	DTP
Total	82,02	88,11	87,59	70,55	82,23
2015	96,30	94,23	96,07	79,94	96,90
2016	89,27	95,00	95,41	76,71	89,53
2017	84,24	92,15	86,24	72,94	84,45
2018	88,49	95,25	92,61	76,89	88,70
2019	70,76	89,07	93,12	81,55	70,94
2020	77,86	82,04	80,88	64,27	77,99
2021	71,53	74,84	74,94	53,20	71,59
2022	77,24	81,51	80,70	57,64	77,25

<sup>1</sup>Dados de cobertura vacinal (SI-PNI) obtidos do Tabnet/Datasus com data de atualização em maio de 2023. Tabela do percentual de cobertura vacinal em cada ano.

Como observado nos gráficos e nas tabelas acima, nota-se uma preocupante redução na cobertura vacinal no Brasil nos últimos anos, conforme evidenciado pelos dados coletados no Datasus referentes a alguns dos principais imunizantes fornecidos pelo PNI. Analisando os gráficos disponíveis, é possível observar uma queda significativa na cobertura vacinal de vacinas essenciais, como BCG, hepatite B, rotavírus, poliomielite, DTP (difteria, tétano e coqueluche), tríplice viral (caxumba, rubéola e sarampo), pneumococo e meningococo.

É importante ressaltar que apesar de uma crescente na cobertura vacinal em 2022, percebe-se que quando comparado com os patamares de 2015, esses índices ainda apresentam grande queda. Dentre os imunizantes selecionados, a redução da cobertura variou de 12,72 a até 22,3 pontos percentuais, sendo a pneumococo e tríplice viral d2 os imunizantes com menor e maior redução, respectivamente. Evidenciando a importância da intensificação dos esforços para melhorar o cenário vacinal do país.

Essa redução afeta diretamente a proteção da população, pois aumenta sua vulnerabilidade a doenças evitáveis por vacinação. Dessa forma, é de grande importância reconhecer os diversos fatores envolvidos nessa temática. A identificação desses motivos, possibilita condições para criação de estratégias de intervenção mais eficazes para a mudança desse cenário no país.

### 3.2. Discussão

Diante da revisão bibliográfica, constatou-se que a redução da cobertura vacinal nos últimos anos tem sido um tema de grande preocupação para os profissionais de saúde e autoridades públicas. Logo, é necessário entender os múltiplos fatores que estão contribuindo para esse cenário. Sendo assim, este estudo identificou diversas causas envolvidas nessa temática e selecionou as principais delas.

Os determinantes da hesitação vacinal são complexos e podem ser atribuídos à confluência de diversos fatores, dentre eles, socioculturais, políticos e pessoais, e foram intensificados após a pandemia do covid-19 e a produção das respectivas vacinas.

O próprio sucesso das vacinas desencadeou uma certa discussão em torno da sua necessidade. Com a efetividade das vacinas aumentando e a incidência de algumas doenças infecciosas diminuindo, a população começou a subestimar algumas das patologias que quase não apareciam mais na sociedade (“as possíveis causas da não adesão à imunização no brasil: uma revisão de literatura | revista eletrônica acervo saúde”, 2021).

O acesso à informação pelas personalidades e redes midiáticas, muitas vezes sem compromisso com a realidade e com a ciência, acabam propagando notícias falsas, conhecidas como fake news, e influenciando na decisão de vacinação. A informação, nem sempre é passada de forma correta, o que leva a conflitos sentimentais e desconhecimento sobre a eficácia, segurança e necessidade das vacinas, além de desconfiança em relação aos profissionais de saúde (DOMINGUES et al., 2020).

O desenvolvimento em tempo recorde da vacina contra a covid-19, que ocorreu com duração de meses, consequência do alto investimento pelos países, associado à falta de conhecimento da população sobre o processo sistematizado e rigoroso da produção dos imunizantes, o uso inapropriado de termos epidemiológicos, a falta de esclarecimento da população e a disponibilização de informações incorretas ou falsas maximizam os sentimentos de medo e insegurança, abrindo precedentes para discussão de insegurança, principalmente quanto às reações cardiovasculares (SALVADOR et al., 2023). Contudo, embora existam evidências de casos de mio/pericardite, são eventos raros e os benefícios superam os riscos das reações associadas ao imunizante.

O medo de que as vacinas causem reações adversas ao organismo, é um fator muito relatado. Com o passar dos anos de funcionamento do PNI, diversas doenças foram amenizadas ou até mesmo erradicadas. Desta forma, quase não se vê casos novos destas patologias. Logo, os raros casos de efeitos adversos dos imunizantes se sobressaem em relação aos casos de novas doenças, o que deixa uma impressão negativa para parte da população (“as razões da queda na vacinação”, [s.d.]).

Ademais, os movimentos antivacina e as crenças filosóficas ou religiosas desempenham um papel significativo na diminuição do índice de imunização do país, influenciando diretamente a decisão de indivíduos e comunidades quanto à vacinação. Apesar de menos intensas no brasil, os movimentos antivacina disseminam

informações falsas e teorias infundadas sobre os riscos das vacinas, contribuindo para a criação de dúvidas e hesitações em relação à sua segurança e eficácia (DOMINGUES et al., 2020). Essas campanhas muitas vezes utilizam plataformas digitais para amplificar suas mensagens, alcançando um público vasto e perpetuando mitos que podem dissuadir a adesão à vacinação. Aliás, com uso da internet, os dados circulam com extrema velocidade e facilidade, o que propicia a divulgação e propagação de notícias falsas.

Além disso, crenças pessoais ou religiosas que desencorajam intervenções médicas, incluindo vacinação, podem levar à resistência individual ou comunitária à imunização, baseadas em interpretações culturais ou espirituais que desvalorizam a intervenção médica preventiva (“as razões da queda na vacinação”, [s.d.]).

As dificuldades logísticas e infraestruturais exercem uma influência significativa, especialmente em áreas remotas e economicamente desfavorecidas. A infraestrutura precária das unidades de saúde, como a falta de geladeiras e insumos para a aplicação das vacinas nessas regiões, resulta em diminuição do alcance vacinal (“as possíveis causas da não adesão à imunização no Brasil: uma revisão de literatura | revista eletrônica acervo saúde”, 2021). A escassez de recursos humanos qualificados e a falta de transporte adequado são também obstáculos críticos, limitando a capacidade dos profissionais de saúde de alcançar todas as comunidades de maneira eficiente e oportuna.

Outro fator relevante é a ausência de vínculo das famílias com as unidades de saúde e saúde. Essa falta de conexão não permite que os pacientes e os profissionais de saúde mantenham contato, o que torna mais difícil a manutenção do cuidado vacinal. Para mais, a falta de tempo dos pais para ir às unidades de saúde para vacinar seus filhos, também deve ser considerada, já que algumas pessoas têm dificuldade em acessar o horário de funcionamento da UBS, pois estão trabalhando, por exemplo. (“as possíveis causas da não adesão à imunização no Brasil: uma revisão de literatura | revista eletrônica acervo saúde”, 2021).

A desigualdade socioeconômica exerce uma influência substancial nesse cenário, pelas disparidades significativas no acesso às vacinas entre diferentes grupos populacionais. Populações marginalizadas, incluindo comunidades indígenas, quilombolas e residentes de áreas periféricas urbanas, frequentemente enfrentam maiores dificuldades para acessar serviços de saúde e informações sobre a vacinação. Fatores como baixa renda, falta de transporte adequado e barreiras linguísticas exacerbam essas disparidades, dificultando a participação em campanhas de imunização e comprometendo a cobertura vacinal nessas comunidades. (NOBRE; GUERRA; CARNUT, 2022)

Por tanto, logo observa-se que tais situações corroboram para o ressurgimento de doenças previamente controladas, como sarampo, poliomielite e coqueluche (NOBRE; GUERRA; CARNUT, 2022). O surto dessas doenças resulta em aumento significativo da morbidade e mortalidade, especialmente entre crianças não vacinadas ou com vacinação incompleta. Além dos impactos na saúde individual, surtos de doenças evitáveis por vacinação impõem custos adicionais ao sistema de saúde, devido ao tratamento de pacientes e às medidas de controle de epidemias. Contribuindo também na fragmentação da imunidade coletiva, criando áreas geográficas ou grupos populacionais vulneráveis a surtos recorrentes.

Para reverter o declínio da cobertura vacinal e fortalecer os programas de imunização, são necessárias abordagens integradas e multifacetadas. Como a implementação de campanhas educativas que forneçam informações precisas e baseadas em evidências sobre os benefícios das vacinas e desmistifiquem mitos comuns. Associado aos investimentos significativos na melhoria da infraestrutura de saúde, especialmente em áreas carentes, para garantir o acesso equitativo aos serviços de vacinação. E o desenvolvimento e implementação de sistemas de vigilância epidemiológica robustos para monitorar a cobertura vacinal, identificar lacunas na imunização e responder rapidamente a surtos de doenças. Adjunto a expansão de programas de vacinação em locais estratégicos, como escolas, creches, postos de saúde e comunidades, para aumentar a conveniência e o acesso às vacinas. Aproveitamento do uso de tecnologias digitais e plataformas online pode melhorar a comunicação com a população, fornecendo informações atualizadas sobre vacinação e combatendo a desinformação (MARINHO et al. 2023).

Dentre toda a desconfiança e seus agentes causais, existem formas de contornar a hesitação vacinal, e dentre as soluções, deve-se o destaque para a aproximação e diálogo com a população, pela mídia em conjunto com os órgãos responsáveis e profissionais de saúde. Os médicos, principalmente pediatras e médicos de saúde da família, que mantêm contato direto e frequente com as pessoas e familiares, especialmente os pais, têm um papel chave no momento de manter a confiança na vacinação, e são considerados as principais e mais confiáveis fontes de informação para os pacientes (BERRY et al., 2017).

Deve-se também destacar que esses profissionais devem se manter atualizados sobre as novas vacinas, suas indicações, precauções e possibilidades de efeitos adversos, além de sempre se manterem vacinados devido à grande exposição de seus trabalhos e contato direto com os pacientes.

É crucial que os profissionais na área estejam preparados para responder as perguntas e dúvidas dos pacientes sobre as vacinas, visto que os conhecimentos dos mesmos e sua confiança na vacina são essenciais para guiar o comportamento dos pais em relação à vacinação (SUCCI, 2018). Além dos profissionais, os órgãos responsáveis pela saúde, a mídia e os políticos precisam estar guiados pelo compromisso com a verdade, oferecendo respostas constantes para a população, por meio de divulgação e campanhas a favor da vacinação e disponibilizando cada vez mais o acesso à informação e dados para todos.

A superação desses desafios requer investimentos significativos na melhoria da infraestrutura de saúde, incluindo a expansão de redes de transporte e a capacitação de profissionais locais, além de estratégias adaptadas às necessidades específicas de cada região, visando garantir o acesso equitativo e contínuo aos serviços de vacinação em todo o território nacional.

A falta de políticas públicas eficazes para mitigar essas desigualdades contribui para a persistência de baixas taxas de vacinação em áreas vulneráveis, aumentando o risco de surtos de doenças infecciosas evitáveis (ARROYO et al.). Abordar essas desigualdades requer estratégias inclusivas e adaptadas às necessidades específicas de cada grupo, visando garantir que todos os indivíduos tenham acesso equitativo às vacinas e que as metas de saúde pública sejam alcançadas de maneira abrangente em todo o território nacional.

Implementar essas medidas requer um compromisso contínuo e coordenado entre governos, profissionais de saúde, organizações não governamentais e a sociedade civil. Somente através de uma abordagem integrada e inclusiva será possível restaurar e manter altas taxas de cobertura vacinal, protegendo assim a saúde pública e salvaguardando as conquistas alcançadas na prevenção de doenças infecciosas no Brasil.

#### 4. Considerações Finais

A trajetória da vacinação no Brasil, desde seus primórdios até os desafios contemporâneos, revela uma complexa interação entre avanços científicos, políticas públicas, e questões sociais e culturais. O país testemunhou conquistas significativas com o programa nacional de imunizações, que não apenas controlou doenças graves, mas também eliminou algumas delas do território nacional. No entanto, as últimas décadas têm sido marcadas por uma preocupante queda na cobertura vacinal, fenômeno exacerbado por diversos fatores como desinformação, movimentos antivacina, desigualdades socioeconômicas e crises de saúde pública como a pandemia de COVID-19.

A revisão detalhada dos determinantes dessa queda revela um quadro multifacetado, onde a hesitação vacinal surge não apenas devido a preocupações individuais com segurança e eficácia das vacinas, mas também devido a questões políticas, religiosas, filosóficas e às barreiras estruturais que dificultam o acesso equitativo aos serviços de saúde. A influência das redes sociais na disseminação de informações falsas e o papel crucial dos profissionais de saúde na construção da confiança pública emergem como áreas críticas para intervenção.

Para enfrentar esses desafios, são necessárias abordagens integradas que incluam educação pública baseada em evidências, melhorias na infraestrutura de saúde, fortalecimento da vigilância epidemiológica e estratégias adaptadas às necessidades locais e populacionais. Portanto, é imperativo que políticas públicas eficazes sejam implementadas e sustentadas a longo prazo, garantindo que todos os cidadãos tenham acesso equitativo às vacinas e que a confiança na imunização seja fortalecida por meio de informações transparentes e confiáveis. Somente com um compromisso conjunto e contínuo será possível mitigar os impactos da queda na cobertura vacinal e garantir um futuro mais saudável para as gerações futuras no Brasil.

#### Agradecimentos

Gostaríamos de expressar nossa sincera gratidão a todos que contribuíram para a realização deste artigo científico. Primeiramente, agradecemos à Doutora Tâmea Possa, cuja orientação e expertise foram fundamentais para o desenvolvimento e conclusão desta pesquisa.

#### Referências

- DOMINGUES, C. M. A. S. et al. 46 anos do programa nacional de imunizações: uma história repleta de conquistas e desafios a serem superados. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 36, n. Suppl 2, 2020.
- ZORZETO, Ricardo As razões da queda na vacinação. *Pesquisa FAPESP*, n. 270, p. 18-24, ago. 2018. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- CORRÊAS. M. C.; de Vasconcelos P. F.; dos Passos J. S.; Marques V. G.; Tanajura N. P. M.; do Nascimento D. R.; Silva C. S.; Magalhães L. P.; Neves L. R.; Silveira M. B. S. As possíveis causas da não adesão à imunização no Brasil: uma revisão de literatura. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 13, n. 4, p. e7030, 7 abr. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Informações de saúde (TABNET) – DATASUS. Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude-tabnet/>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- SUCCI, R. C. de M. Vaccine refusal – what we need to know. *Jornal de Pediatria*, v. 94, n. 6, p. 574–581, nov. 2018.
- MARINHO, H. et al. Redução da cobertura vacinal no Brasil: uma revisão integrativa. *Cadernos de Saúde Coletiva*, v. 6, n. 1, p. 3752–3763, 16 fev. 2023.
- PEREIRA, D. D. S. et al. Análise da taxa de utilização e perda de vacinas no Programa Nacional de Imunização. *Cadernos de Saúde Coletiva*, v. 21, n. 4, p. 420, 2013.
- ARROYO, L. H. et al. Áreas com queda da cobertura vacinal para BCG, poliomielite e tríplice viral no Brasil (2006-2016): mapas da heterogeneidade regional. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, e00015619, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/qw4q8qklkvc4fdj5s3brdkj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- BERRY, N. J. et al. Quando os pais não vacinam seus filhos: uma investigação qualitativa das experiências de profissionais de saúde primários australianos. *BMC Pediatrics*, v. 17, n. 146, p. 1-12, 2017. Disponível em: <https://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12887-019-1467-3>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Imunizações: 30 anos. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2013. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro\\_30\\_anos\\_pni.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro_30_anos_pni.pdf). Acesso em: 16 ago. 2024.
- DANDE, G. M. S.; SILVA JÚNIOR, S. I. da; MARTINEZ, M. R. Histórico da vacinação no Brasil e o atual cenário em decorrência da pandemia da COVID-19. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 15, n. 11, p. e11346, 16 nov. 2022.
- BOCCOLINI, P. de M. M. et al. Dataset on child vaccination in Brazil from 1996 to 2021. *Scientific Data*, v. 10, n. 1, 11 jan. 2023.
- NOBRE, R.; GUERRA, L. D. da S.; CARNUT, L. Hesitação e recusa vacinal em países com sistemas universais de saúde: uma revisão integrativa sobre seus efeitos. *Saúde em Debate*, v. 46, p. 303–321, 21 mar. 2022.
- SALVADOR et al. Inquérito online sobre os motivos para hesitação vacinal contra a COVID-19 em crianças e adolescentes do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 39, n. 10, 1 jan. 2023.
- SILVA, Ana; OLIVEIRA, João; PEREIRA, Maria. Análise das práticas de vacinação em regiões vulneráveis. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 40, n. 6, p. e00012322, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/xxzct7tkj3v6pcywtmx/>. Acesso em: 16 ago. 2024.

## Capítulo 6

# “AS PARADAS LGBT NO CONTEXTO DE ASCENSÃO DO CONSERVADORISMO NO BRASIL (2015 - 2022)”

### Autores

Gabriela do Nascimento Bertoldo<sup>1</sup>, Gabrielle Nogarol Manzini<sup>2</sup>, Eduardo Georjão Fernandes<sup>3\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Curso de Direito, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Curso de Relações Internacionais, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Sociologia Política (PPGSoP), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: eduardo.fernandes@uvv.br

Telefone: +55 051 98145-6227

### Resumo

Neste capítulo, realizamos a análise das Paradas LGBT no contexto de ascensão do conservadorismo no Brasil (2015-2022). Com base em uma análise de eventos de protesto (AEP), além da leitura de notícias do Portal G1 sobre as Paradas LGBT realizadas no Brasil entre 2015 e 2022, mapeamos as características desses protestos quanto aos atores promotores, aos temas reivindicados e aos repertórios de ação. Também discutimos os elementos lúdicos e de visibilidade que são expressos durante a parada, conformando determinado script que é reproduzido nos eventos.

### Abstract

In this chapter, we analyze LGBT Pride Parades in the context of the rise of conservatism in Brazil (2015-2022). Based on a Protest Event Analysis (PEA) and the review of news articles from the G1 Portal about LGBT Parades held in Brazil between 2015 and 2022, we mapped the characteristics of these protests regarding the promoting actors, the issues being demanded, and the repertoires of action. We also discuss the playful and visibility elements expressed during the parades, forming a specific script that is reproduced in the events.

**Palavras-chave:** Protestos; repertório da ação coletiva; Parada LGBT.

## 1. Introdução

O período recente no Brasil tem sido marcado pelo aumento da visibilidade sobre os confrontos políticos entre movimentos progressistas e conservadores. Sob a perspectiva relacional adotada pela teoria do confronto político (McAdam; Tarrow; Tilly, 2001), o estudo dos movimentos sociais perpassa não apenas a identificação das características internas aos movimentos, mas também as formas como ativistas interagem com seus opositores. Assim, a literatura brasileira tem identificado no contexto nacional um processo de desdemocratização, com o fechamento das oportunidades políticas para que determinados setores da sociedade dialoguem de forma cooperativa com o Estado.

Esta pesquisa tem como objetivo contribuir para esta literatura ao buscar analisar os protestos promovidos por grupos LGBT+ no período recente (2015-2022), em especial as Paradas LGBT. A escolha por este estudo decorre do fato de que, após um período de intensificação das relações entre os movimentos LGTQIA+ e o Estado no início do século XXI, com a formulação de políticas para esses grupos em diversas áreas (Mello et al., 2012; Mello et al., 2011; Mello et al., 2013; Mello, Avelar, Brito, 2014;), não ocorreu a institucionalização dessas políticas a longo prazo. O contexto recente, caracterizado pela emergência de atores conservadores no Estado a nível federal, é marcado por um desinvestimento na área (Pereira, 2017; 2018; 2020). Com o relativo fechamento das portas do Estado para esses temas, a tendência é que a conflitualidade extrainstitucional (nas ruas) se intensifique. Para mapeamento do repertório de protestos LGBT, foi empregada a metodologia da "análise de eventos de protestos" (AEP) (Olzak, 1989). Foram levantados e sistematizados dados sobre manifestações públicas de demandas coletivas entre 2015 e 2022, utilizando-se como fonte o Portal G1.

## 2. Metodologia

A metodologia deste capítulo envolveu duas etapas, uma quantitativa e uma qualitativa. Na etapa quantitativa, foi construído um banco de notícias de eventos de protestos LGBT no G1 Portal de Notícias entre 2015 e 2022. Para a raspagem dos dados, foram pesquisadas notícias desse período que contivessem as seguintes palavras-chave: "protesto + LGBT", ou "manifestantes + LGBT", ou "marcha + LGBT", ou "passeata + LGBT", ou "ato + LGBT", ou "ocupação + LGBT", ou "audiência pública + LGBT". A busca resultou em um total de 233 notícias. Após a leitura inicial das notícias, foi identificado um conjunto de 211 protestos. Os protestos, no banco, são entendidos como expressão pública de demandas coletivas. Em cada protesto, podem ser mobilizadas múltiplas táticas, ou seja, "formas de ação que foram deliberadamente escolhidas com o objetivo de influenciar ou coagir um ou mais oponentes, o público em geral, e ativistas companheiros de movimento" (Doherty, 2013). Foi tabulado um total de 418 táticas mobilizadas nos protestos.

As táticas foram, em seguida, categorizadas quanto ao ano, ao ator promotor, ao tipo de ação, ao repertório do qual fazem parte e ao tema. Também foi feita a classificação quanto à relação de cada tática com o contexto das Paradas LGBT. A distribuição por ano indica a relativa estabilidade no número total de ações (táticas) mobilizadas entre 2015 e 2018, com o ápice em 2019 (quando 96 ações foram mobilizadas). A seguir, ocorre uma acentuada queda em 2020, muito provavelmente em função do contexto da pandemia de Covid-19, com um gradual crescimento entre 2021 e 2022.

As táticas mais mobilizadas geralmente estão ligadas a contextos de combinação entre marchas (101 ocorrências), performances visuais (91 ocorrências) e performances artísticas (90 ocorrências). Com menos frequência, são identificadas propagandas (32 ocorrências), performances judiciais (25 ocorrências), concentração (16 ocorrências), performances visuais não artísticas (15 ocorrências) e manifestação (14 ocorrências).

Quando são observados os repertórios, que aqui representam agrupamentos de táticas conforme características similares, evidencia-se a significativa recorrência do repertório que engloba as performances artísticas ou simbólicas (198 casos), seguido pelo repertório de manifestação pública (136 casos). Os demais repertórios, quais sejam, proselitismo (39 casos), institucional (36 casos) e performance de confrontação (07 casos), aparecem com frequência mais baixa.

A significativa maioria das táticas mobilizadas (269 ocorrências) refere-se ao tema da visibilidade e reivindicação de direitos. Outros temas, como violência (38 ocorrências), discriminação (22 ocorrências) e religião (13 ocorrências), aparecem com uma significância quantitativa mais baixa.

Quanto à relação com as Paradas LGBT, identificou-se que parte importante das táticas mobilizadas envolveu ou as próprias marchas e concentrações das Paradas LGBT (86 casos), ou o contexto das Paradas - por exemplo, performances artísticas e visuais realizadas durante o evento da Parada (180 casos). Outras 153 táticas foram mobilizadas em contextos distintos.

### 3. Resultados e Discussão

As Paradas LGBT no Brasil representam um fenômeno social e cultural de grande relevância e que tem sido objeto de diversas investigações acadêmicas. Desde a sua origem, esses eventos têm desempenhado um papel fundamental na luta por direitos da comunidade LGBT e, para melhor compreensão de suas múltiplas facetas, a análise de suas características é imprescindível.

A primeira característica observada durante a análise de referências em literatura LGBT é a presença do Artivismo que, de acordo com Santos (2019), pode ser entendido como um neologismo conceitual que faz ligações entre arte e política e estimula os usos potenciais da arte como ato de resistência e subversão.

Essa característica se faz presente desde as primeiras Paradas e é entendida como uma estratégia, semelhante à utilizada no Carnaval, que tem por objetivo tanto obter a atenção da mídia e conseqüente visibilidade, quanto criar de um ambiente que traz à tona as demandas enfrentadas, de forma a promover a luta por direitos da população LGBT, conforme analisado por Cotta e Cabral Filho (2015):

"Ora, a Parada do Orgulho LGBT, principalmente do Rio de Janeiro e São Paulo, cria um clima envolvente: os trios elétricos, com suas músicas eletrônicas, as cores das bandeiras, das bolas, a decoração das ruas, a presença de políticos e das drag queens reconhecidas pela cena LGBT promovem uma estética essencialmente sensorial e inebriante. Os discursos das lideranças políticas propalados ao microfone e propagados pelos alto-falantes dos trios ecoam pelos espaços urbanos como palavras de ordem à massa colorida. "Viva às lésbicas! Viva aos gays! Viva aos bissexuais! Viva às travestis! Viva às/aos transexuais! Viva aos heterossexuais!" são brados emitidos pelas lideranças que representam manipulações retóricas e estéticas das emoções – estratégia exitosa e já experimentada por grandes lideranças políticas [...]"

Por outro lado, parte dos pesquisadores consideram que o aspecto político das Paradas se dissolveu ao longo do tempo, transformando o protesto em um ato meramente festivo da população LGBT.

"Queremos neste texto destacar, entre outras mudanças, que a parada perdeu paulatinamente seu caráter de manifestação promovida pontualmente por um grupo de militantes, tornando-se festa circulando pelas ruas centrais com ampla visibilidade (e as suas referências nas primeiras páginas dos jornais pesquisados ratificam isto) para celebrar o orgulho e, contraditoriamente, desejos de normatividades." (Maia, 2015, p. 200)

“Apesar de as primeiras paradas terem primado por um caráter mais “politizado”, atualmente verificamos que outros elementos se agregam a elas, tornando-as menos comiciais e mais amplamente festivas.” (Maia e Dutra, 2012, p. 71)

Além da "carnavalização" do protesto, outra característica das Paradas é a movimentação econômica gerada pelo evento.

Conhecida como pink money (NUNAN, 2003), a receita produzida durante as manifestações se mostra tão relevante aos setores de serviços turísticos quanto durante o próprio Carnaval, fato constatado na pesquisa produzida por Cotta e Cabral Filho (2015, p. 26) no estado do Rio de Janeiro:

“Segundo uma pesquisa da Riotur e da Coordenadoria Especial da Diversidade Sexual, órgãos da Prefeitura do Rio, em parceria com o Observatório do Turismo da Faculdade de Turismo e Hotelaria da Universidade Federal Fluminense, o impacto econômico total direto para o Rio de Janeiro no carnaval de 2014 foi de pouco mais de R\$ 461 milhões, com um gasto médio diário de aproximadamente R\$ 47 milhões. A renda do carnaval foi de R\$ 1,5 bilhão. Com base nesses dados, nota-se que o turismo LGBT no Rio foi responsável por 30,75% da receita para a cidade.” (Cotta e Cabral Filho, 2015, p. 26).

Em razão de seus resultados, o pink money se tornou um argumento de grande utilização para a defesa das Paradas. Isto restou comprovado em uma análise de banco de comentários online produzido pelas pesquisadoras Braga e Guimarães (2014, p. 57), extraído a partir de editoriais, que revela:

“No que tange ao argumento de defesa mais recorrente, a relevância do evento para a economia e o turismo da cidade, observa-se que a lógica mercadológica, na interpretação dos grupos minoritários, pareceu mais persuasiva como tática de defesa, mais sensível à mentalidade social do que os aspectos políticos do evento.”

A partir da análise de conteúdo das notícias, identificamos que as Paradas LGBT, de modo geral, reproduzem um script que tende, resguardadas diferenças pontuais, a ser mobilizado ao longo dos anos e nos diferentes lugares. Esse script é caracterizado, em primeiro lugar, pela presença de atores múltiplos, principalmente artistas, organizações, coletivos e ativistas de movimentos LGBT.

Nas notícias, evidencia-se que há processos organizativos estabelecidos, por meio de indivíduos e organizações que assumem a liderança na realização do evento, a qual envolve, por exemplo, negociações com o poder público, aquisição de equipamentos, definição do slogan da Parada, entre outras ações. Ainda assim, durante as Paradas, uma grande multiplicidade de atores faz-se presente.

Além disso, apesar de as Paradas geralmente possuírem slogans que sintetizam a principal mensagem do evento, as causas defendidas também são múltiplas, sendo englobadas pelo tema “visibilidade e reivindicação de direitos”. Tais reivindicações são expressadas por elementos visuais (cartazes, bandeiras, faixas), sonoros (músicas, palavras de ordem), entre outros.

Quanto às táticas mobilizadas, geralmente são realizadas marchas que seguem trios elétricos e/ou carros de som, nos quais artistas realizam shows e performances diversas. Em algumas ocasiões, menos frequentes, a manifestação se dá sem marcha, por meio de concentração em espaço público, mas sempre com apresentações artísticas. Tais artistas são, de modo geral, identificados(as) com o público LGBT, destacando-se a recorrente atuação de drag queens.

O caráter performático, artístico e lúdico é, assim, evidente em todas as Paradas LGBT. Em algumas Paradas, além do elemento lúdico, são mobilizadas táticas de propaganda e performances judiciais. Por exemplo, em determinadas Paradas, há “barracas” para teste gratuito de HIV e para assessoria jurídica quanto à mudança do “nome social” de pessoas travestis e transexuais.

O elemento que apresenta maior variação nas Paradas é o slogan. Esses dados permitem a identificação das mudanças nos temas escolhidos como prioritários pelos organizadores das Paradas durante os anos, além de apresentar evidências sobre as relações entre as Paradas por meio da “unificação” em torno de determinados temas.

Entre 2015 e 2022, é possível identificar três períodos distintos quanto aos slogans. Entre 2015 e 2017, predomina uma diversidade de slogans. Entre 2018 e 2019, há certa “unificação” dos slogans em torno de temas prioritários ligados ao contexto de cada ano. Entre 2020 e 2022, com a queda no número de Paradas, apenas em 2022 há informações sobre slogans, com uma nova diversificação temática.

No primeiro período entre 2015 e 2017, os temas transversais, que aparecem com frequência nos slogans, são o combate à discriminação e à violência contra a população LGBT. Em 2015, há também slogans de defesa do Estado laico; em 2016, emergem slogans ligados aos campos da educação e das políticas públicas; em 2017, aparecem slogans de combate à cura gay e ao HIV. No ano de 2018, que foi marcado por ser ano eleitoral nos níveis federal e estadual, as Paradas ressaltaram a importância do voto. Em 2019, houve uma unificação em torno dos “50 anos de Stonewall”. Em 2020 e 2021 não há informações sobre slogans, enquanto em 2022, volta a haver uma multiplicação temática, envolvendo slogans de defesa da diversidade, da coragem e do orgulho LGBT.

#### 4. Considerações Finais

A pesquisa oferece uma análise abrangente sobre as Paradas LGBT, destacando como esses eventos se adaptaram a um cenário político cada vez mais conservador. Durante o período analisado (2015-2022), observou-se que, apesar da queda no número de manifestações durante a pandemia, houve um ressurgimento gradual das Paradas, com maior ênfase na visibilidade e reivindicação de direitos.

O estudo revelou que as Paradas LGBT têm uma natureza multifacetada, combinando performances artísticas e ativismo político, o que fortalece a causa LGBT ao mesmo tempo em que envolve a sociedade em discussões sobre igualdade e diversidade. Elementos de ativismo, já presentes desde o início desses eventos, desempenham papel fundamental ao misturar arte com política, criando uma atmosfera lúdica que captura a atenção do público e da mídia.

No entanto, o estudo também aponta para uma “carnavalização” do movimento, onde o aspecto festivo parece, por vezes, ofuscar o foco político original. Mesmo assim, as Paradas continuam sendo uma importante ferramenta de luta por direitos, especialmente em um contexto de crescente conservadorismo e redução de políticas inclusivas por parte do Estado.

Por fim, o impacto econômico das Paradas, conhecido como “pink money”, também é significativo, reforçando a relevância desses eventos não apenas para a luta por direitos, mas também para a economia local, especialmente em grandes cidades como Rio de Janeiro e São Paulo.

Esses dados destacam a resiliência do movimento LGBT no Brasil, que continua a utilizar as Paradas como um meio eficaz de visibilidade e reivindicação, mesmo em face de adversidades políticas e sociais.

### Agradecimentos

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao Professor Eduardo Georjão Fernandes por sua orientação valiosa ao longo deste projeto. Sua dedicação e paciência foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa, e sua paixão pelo tema me inspirou a seguir em frente mesmo diante dos desafios.

Também agradeço ao Projeto FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo), que, por meio de seu financiamento e apoio, tornou possível a realização desta pesquisa. O incentivo à ciência e inovação no Espírito Santo promovido pelo Governo Estadual é fundamental para o desenvolvimento acadêmico e para a geração de conhecimento, e sou grata por ter sido beneficiada por esse projeto.

O apoio da FAPES permitiu que eu explorasse questões de grande relevância social e acadêmica, contribuindo para meu crescimento enquanto pesquisadora e para o avanço do campo de estudo em que me insiro. O comprometimento do governo do Espírito Santo com a pesquisa é vital para o futuro do estado e da sociedade como um todo, e sinto-me honrada por fazer parte desse esforço.

Meu profundo reconhecimento a todos que fazem parte dessa iniciativa transformadora!

### Referências

Santos, Eduardo Faria. "Corpo livre: corpo e arte como formas de ativismo em São Paulo". GIS - Gesto, Imagem E Som - Revista De Antropologia 4 (1). São Paulo, Brasil, 2019.

COTTA, D.; CABRAL FILHO, A. V. PARADA DO ORGULHO LGBT: uma estratégia de visibilidade cultural e midiática. Revista Políticas Públicas & Cidades, v.3, n.3, p. 26 – 41, set/dez, 2015.

NUNAN, A. Homossexualidade: do preconceito aos padrões de consumo. Rio de Janeiro: Caravansarai, 2003.

BRAGA, A.A.; GUIMARÃES, J.D. Minorias e discurso na esfera pública digital: o caso da Parada Gay.

PPGCOM - ESPM, comunicação mídia e consumo, ano 11 vol. 11 n. 30 p. 57-81 jan./abr. 2014.

## Capítulo 7

# “AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DE IMUNOMARCAÇÃO DAS HISTONAS ACETILADAS H3 E H4 E DAS ENZIMAS HISTONAS DESACETILASES EM TECIDOS MAMÁRIOS NEOPLÁSICOS E NÃO NEOPLÁSICOS”

### Autores

Gabriella Angeli Coradini<sup>1</sup>, Heitor Heringer Freitas<sup>1</sup>, Igor Luiz Salardani Senhorello<sup>2</sup>, Mayra Cunha Flecher<sup>3\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: mayra.flecher@uvv.br

Telefone: +55 027 99947-8481

### Resumo

Em estudos realizados em humanos, é confirmado que fatores epigenéticos influenciam na progressão tumoral. Pelo método de imunohistoquímica, foi feita uma análise de imunomarcação das histonas H4K12Ac, H3K9Ac e das enzimas desacetilases HDAC1, HDAC2 e HDAC6, objetivando correlacionar a expressão dessas proteínas com a sobrevida e prognóstico de cadelas. As 91 amostras de tecidos mamários utilizadas foram divididas em quatro grupos, sendo eles mamas sem alterações, adenomas mamários, carcinomas mamários sem metástase e carcinomas mamários com metástase em linfonodo. Na análise envolvendo a H3K9Ac houve hipoacetilação do tecido neoplásico, em relação ao saudável, semelhante aos estudos em realizados humanos.

### Abstract

Studies conducted in humans have confirmed that epigenetic factors influence tumor progression. Using the immunohistochemistry method, an immunolabeling analysis of histones H4K12Ac, H3K9Ac, and the deacetylase enzymes HDAC1, HDAC2, and HDAC6 was performed to correlate the expression of these proteins with survival and prognosis in female dogs. The 91 mammary tissue samples used were divided into four groups: normal mammary tissue, mammary adenomas, mammary carcinomas without metastasis, and mammary carcinomas with lymph node metastasis. In the analysis involving H3K9Ac, hypoacetylation of neoplastic tissue was observed compared to healthy tissue, similar to studies conducted in humans.

**Palavras-chave:** epigenética; imuno-histoquímica; cadelas; sobrevida

## 1. Introdução

As neoplasias mamárias são as mais prevalentes em cadelas (RODRIGUES et al., 2023), sendo frequentemente diagnosticadas no hospital veterinário da Universidade Vila Velha, representando 38,4% de todas as neoplasias encontradas, seguidas de mastocitoma, tumor venéreo transmissível (TVT) e linfoma (REYS et al., 2020). Da mesma forma, segundo pesquisa do Instituto Nacional de Câncer (INCA) realizada em 2022, a neoplasia mamária também é o câncer mais comum em mulheres.

Essa neoplasia é a mais frequente em cadelas de meia-idade a idosas, principalmente em cadelas acima de 8 anos de idade, sendo cadelas jovens (com menos de 3 anos) pouco acometidas, principalmente as malignas (SILVA et al., 2019). Segundo estudo realizado pelo Laboratório de patologia Comparada da Universidade de Minas Gerais (UFMG) a neoplasia benigna mais frequentemente diagnosticada em cadelas foi o tumor misto benigno, enquanto o carcinoma em tumor misto foi o tipo histológico mais frequente, apresentando geralmente bom comportamento biológico. Em seguida o carcinoma papilar invasor, o carcinoma sólido e o carcinoma tubular foram também frequentemente diagnosticados (RODRIGUES et al., 2023).

A epigenética desempenha um papel muito importante no processo de formação tumoral, sendo descrita como uma mudança na expressão do gene, porém sem alterar a sequência gênica do DNA. Essas modificações decorrem da interação do ser vivo com o ambiente em que ele está inserido (ELSNER; SIQUEIRA et al., 2016). A expressão gênica é mantida devido à ocorrência de eventos epigenéticos, dentre eles a metilação do DNA e as modificações das histonas são cruciais para o correto equilíbrio dessa expressão, modificando o alcance da cromatina para a regulação da sua transcrição (MULLER; PRADO, 2008).

As modificações epigenéticas podem ocorrer na cromatina, estrutura onde estão compactadas as duplas fitas de DNA por meio do enovelamento dessas fitas em volta de um octâmero proteico formado por 4 pares de histonas (H2A, H2B, H3 e H4). Essas proteínas têm função de organização da cromatina, influenciando diretamente na expressão gênica, já que o material genético será inativado se a cromatina estiver condensada, da mesma forma que será expresso quando a cromatina não estiver condensada. Elas também podem sofrer várias modificações em sua estrutura, mais especificamente em sua cauda N-terminal, como acetilação, fosforilação, metilação e ubiquitinação (ELSNER; SIQUEIRA, 2016; MULLER; PRADO, 2008). No entanto, modificações em histonas podem afetar a estrutura da cromatina, influenciando nos processos que são dependentes dela, como transcrição gênica, reparo do DNA e replicação do DNA. Isso pode gerar a transformação celular e crescimento maligno (SAWAN; HERCEG, 2010).

A fita dupla de DNA é apenas suscetível à metilação, reação coordenada pela enzima DNA metiltransferase (DNMT) que catalisa e transfere o grupo metil, permitindo a realização de processos como regulação gênica, estabilidade cromossômica e imprinting parental. Sendo assim, quando o material genético está hipometilado, ou seja, sem a presença do grupo metil, a cromatina estará ativa e permitirá a transcrição dos genes, enquanto quando hipermetilado a expressão gênica será bloqueada (MULLER; PRADO, 2008).

Já as alterações nas histonas, são realizadas principalmente pelas enzimas histonas acetiltransferases (HATs) e a histonas desacetilases (HDACs), podendo remodelar a cromatina fazendo com que ela esteja mais ou menos compactada, ou seja, enovelando e desenovelando as fitas de DNA, influenciando no processo de transcrição gênica. O grupo de enzima HATs, são responsáveis pela acetilação, ou seja, catalisar a adição do grupo acetil proveniente da molécula acetil-CoA e lisinas (K), o que debilita a união entre as histonas e o DNA, facilitando a expressão de genes específicos para a transcrição. Além disso, essas enzimas têm importante papel na acetilação de proteínas não histônicas como a p53, produzida pelo gene supressor tumoral (TP53), de grande importância no processo carcinogênico (ELSNER; SIQUEIRA, 2016; STRUHL, 1998).

De maneira oposta, o grupo das histonas desacetilases (HDAC) realizam o processo de desacetilação, ou seja, retiram o grupo acetil. Dessa maneira a cromatina se torna mais compacta, levando à inibição da transcrição gênica e conseqüentemente ao silenciamento gênico. Porém, é pertinente lembrar que apesar das HATs

possuírem a função de transcrição, é o equilíbrio entre essas duas enzimas que proporcionam a expressão gênica ideal no organismo (ELSNER; SIQUEIRA, 2016; STRUHL, 1998). Segundo Wang (2015), há pelo menos 18 HDAC's em mamíferos, dentre elas a família HDAC dependente de zinco dividida em 3 classes (I, II e IV).

Em humanos é reconhecido que a mudança na modificação de genes e histonas na cromatina e na ativação de interruptores de expressão gênica são mantidos por um mecanismo de retroalimentação positiva e negativa. Isso evidencia que alterações epigenéticas podem colaborar com alterações no desenvolvimento tumoral e sua progressão maligna. O conhecimento nessa área evoluiu ao ponto de tais modificações se tornarem marcadores biológicos na detecção do câncer, como a HDAC 6, que é frequentemente associada ao câncer de mama, enquanto HDAC 2 é associada a outros tipos esporádicos de câncer (HANAHAAN; WEINBERG, 2011; SAWAN; HERCEG, 2010). Porém, é pouco conhecido na medicina veterinária o comportamento de histonas acetiladas e enzimas desacetilases em tumores mamários e sua relação com o prognóstico.

É importante destacar que, há uma grande expressão de histonas acetiladas e de enzimas desacetilases em cadelas com neoplasias mamárias, especialmente nos tecidos mamários neoplásicos em comparação com os tecidos não neoplásicos. Isso confirma que alterações epigenéticas ocorrem em tumores mamários de cadelas, de maneira semelhante ao que ocorre em humanos. Entender alterações epigenéticas envolvidas nas neoplasias mamárias de cadelas é relevante tanto para fatores prognósticos relacionados às avaliações de carcinomas mamários simples e pelo fato das expressões das histonas desacetilases 2 e 6 poderem ser alvos terapêuticos no futuro (SENHORELLO, 2020).

O objetivo desse estudo foi avaliar a expressão das histonas acetiladas H4 e H3 e das enzimas histonas desacetilases (HDACs) 1, 2 e 6 em tecidos mamários neoplásicos e não neoplásicos de cadelas pelo método de contagem celular e estimativa de porcentagem de marcação. Ademais correlacionar as porcentagens de marcação com o tempo de sobrevivência global das pacientes.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Seleção dos pacientes e coleta de amostras

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Vila Velha (protocolo 654-2023). Neste estudo foram selecionadas 61 cadelas que apresentaram diagnóstico de carcinomas mamários simples (papilar, tubular e sólido), sem predileção de raça e idade e submetidas ao estadiamento clínico das neoplasias, mediante exame físico detalhado, exames laboratoriais e de imagem (ultrassonografia abdominal e radiografia torácica em três projeções).

Amostras dos tumores foram coletadas durante o procedimento de mastectomia total unilateral, durante o qual foi retirado o linfonodo regional (inguinal e axilar), para avaliação histopatológica, de acordo com o protocolo cirúrgico praticado no Hospital Veterinário. De cada cadela foi avaliado apenas um nódulo; animais que apresentavam mais de um nódulo permanecerem no estudo, entretanto, foi considerado aquele com pior prognóstico que compreendia um carcinoma simples (papilar, tubular ou sólido), a fim de determinar o tempo de sobrevivência global das pacientes. Cadelas com carcinomas de subtipos especiais, carcinomas em tumor misto e sarcomas mamários foram excluídas do experimento (CASSALI et al., 2014; RASOTTO et al., 2017).

Após análise histopatológica, as amostras foram separadas em grupos, de acordo com o diagnóstico firmado. Adicionalmente as 61 amostras de carcinomas simples, 19 amostras de adenoma mamário simples e 11 amostras de tecido mamário histologicamente sem alterações foram também empregadas na análise.

As amostras foram divididas em quatro Grupos:

- Grupo 1 (G1), (controle) composto por 11 mamas sem alterações histológicas;
- Grupo 2 (G2), composto por 19 amostras de adenomas mamários simples;
- Grupo 3 (G3), composto por 46 amostras de carcinomas mamários simples sem metástase, conforme estadiamento clínico;
- Grupo 4 (G4), foi composto por 15 amostras de carcinomas mamários simples com metástase em linfonodo regional, detectado pela avaliação histológica.

Todas as amostras foram fixadas em formalina tamponada a 10% por um período de 24 a 48 horas e, em seguida, armazenadas em álcool 70% até o momento do processamento. Posteriormente, as amostras foram processadas, incluídas em parafina, cortadas na espessura de 4 $\mu$  e coradas em hematoxilina e eosina (HE) para análise histopatológica e para realização da técnica de imuno-histoquímica.

As cadelas que apresentaram metástase à distância no momento do diagnóstico foram excluídas do projeto. Todavia, aquelas que desenvolveram metástase durante o acompanhamento e após a mastectomia permaneceram dentro do estudo.

Para determinação do tempo de sobrevivência global (TSG) levou em consideração o dia do diagnóstico até a data de morte. Nos casos em que o animal permanecia vivo ao final dos 3 anos (tempo mínimo de acompanhamento do último animal), estes eram classificados como censurados, as informações foram atualizadas ao final do período experimental por meio de ligações telefônicas aos tutores e registradas nos prontuários.

## 2.2. Reação imuno-histoquímica para histonas e enzimas desacetilases

Os anticorpos utilizados na análise imuno-histoquímica foram validados pela técnica de Western Blot para tecidos caninos no estudo de SENHORELLO et al. 2023. A técnica de imuno-histoquímica também seguiu o protocolo proposto por SENHORELLO et al., 2023.

Para isso, foram cortados os blocos com as amostras parafinizadas na espessura de 3 $\mu$ m e estendidas em lâminas de vidro silanizadas. Inicialmente, as lâminas foram desparafinadas e reidratadas, como realizado rotineiramente e as seções foram submetidas à recuperação antigênica em micro-ondas, perfazendo 3 ciclos de 4 minutos cada e incubação com o anticorpo primário conforme descrito na Tabela 1. Para a detecção, foi utilizado um sistema comercial de detecção de polímeros (polímero Novolink DS, Leika Byosystems) em todas as reações. Finalmente, as amostras foram contra coradas com hematoxilina de Harris e montadas após a desidratação em concentrações graduadas de álcool e xilol.

**Tabela 1.** Anticorpos que foram utilizados nas reações de imuno-histoquímica para pesquisa da expressão de histonas e histonas desacetilases em amostras de tecido mamário normal e neoplásico 1de cadelas.

<b>Anticorpo*</b>	<b>Clone</b>	<b>Origem</b>	<b>Diluição</b>	<b>Recuperação Antigênica</b>
Anti-Acetil Histona H3 (Ac-Lys9)	AH3-120	Camundongo	1:100	Tampão Citrato (pH 6,0)
Anti-Acetil Histona H4 (Ac-Lys12)	SAB4200353	Coelho	1:200	Tampão Citrato (pH 6,0)
Anti-HDAC1	AV38530	Coelho	1:75	Tampão EDTA $\pm$ (pH 9,0)
Anti-HDAC2	HDAC2-62	Camundongo	1:500	Tampão Citrato (pH 6,0)
Anti-HDAC6	AV31451	Coelho	1:500	Tampão Citrato (pH 6,0)

\* Sigma-Aldrich;  $\pm$  Ácido etilenodiamino tetra-acético; Todos os anticorpos serão incubados por duas horas a temperatura de 22 C°.

### 2.3. Avaliação dos resultados das reações imuno-histoquímicas

A confirmação da expressão nuclear em seções imunocoradas para H3K9Ac, H4K12Ac, HDAC1 e HDAC2 foi por meio da visibilização de tonalidades do marrom difusas nos núcleos das células das amostras que compuseram os diferentes grupos experimentais e semelhantes às expressões observadas nos controles positivos. A interpretação dos resultados da imuno-histoquímica foi analisada obtendo-se um escore de marcação. Para essa finalidade, adotou-se o seguinte protocolo: cinco campos aleatórios (de cada amostra) foram fotografados em aumento de 400 vezes, usando o microscópio Novel (BM2100) acoplado a câmera Bioptika (CMOS-HD) e realizada a contagem manual de 100 células por campo utilizando a ferramenta "Contador de células" do programa Image J software (v. 1.44p.), com posterior extração da média aritmética, obtendo a porcentagem de células marcadas de cada amostra.

Particularmente, para as reações com o anticorpo HDAC6, um método diferente foi utilizado devido à sua expressão citoplasmática e impossibilidade de contar células separadamente. A expressão positiva foi caracterizada pelo aparecimento de tonalidades de marrom no citoplasma das células, considerando-se a área marcada. A porcentagem total de área positiva para HDAC6 foi calculada obtendo-se imagens com aumento de 400 vezes de cinco campos aleatórios, da mesma forma que para os demais anticorpos e conforme descrito anteriormente (WITHERS et al., 2019). Primeiro, a área celular total foi determinada e medida para cada imagem e as áreas não celulares foram excluídas pela seleção manual. Depois disso, uma área positiva foi selecionada manualmente e limiarizada para destacar apenas as células positivas. A área selecionada foi medida e o resultado foi dividido pela área celular total dessa imagem e multiplicada por 100. Assim, uma porcentagem foi calculada para cada imagem. Uma porcentagem final foi estimada a partir da média das cinco imagens para cada amostra.

### 2.4. Análise estatística

Inicialmente os dados foram submetidos a análise de variância e posterior escolha do teste estatístico. Para comparar a expressão das histonas (H4K12Ac, H3K9Ac) e das histonas desacetilases (HDAC 1 e 2) dentro e entre os diferentes grupos (G1, G2, G3, G4) foi realizado o teste da ANOVA com posterior teste de Tukey em caso de dados paramétricos ou Kruskal Wallis e posteriormente o teste de Dunn's para dados não paramétricos. Para a HDAC6, por ter sido analisada de forma diferente dos demais, apenas a comparação entre os grupos foi realizada não participando da análise comparativa entre os anticorpos dentro dos grupos experimentais.

Para determinar as curvas de sobrevida foram utilizadas a análise de sobrevivência de Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida global, comparadas pelo teste de Long-rank.

Para as análises utilizou-se o programa GraphPad Prisma 10.3 adotando um nível de significância de 0,05.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Resultados

Em nosso estudo, avaliou-se a expressão das histonas acetiladas (H4K12ac e H3K9ac) e as enzimas histonas desacetilases nos diferentes grupos experimentais, a fim de observar modificações nas expressões dos diferentes tecidos.

Em relação a expressão de H4K12c não houve diferença significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ), assim como na expressão da enzima HDAC2 nos diferentes tecidos mamários ( $p > 0,05$ ). Já em relação a expressão da histona H3K9ac, houve diferença estatística comparando G1 e G4 ( $p = 0,0199$ ), com maior expressão dessa histona no G1. No caso da enzima HDAC1 houve diferença estatística entre os grupos G1 e G2 ( $p = 0,0041$ ), G1 e G4 ( $p = 0,0061$ ), G2 e G3 ( $p = 0,0084$ ) e entre G3 e G4 ( $p = 0,0167$ ), evidenciando maior expressão da enzima em G1 quando comparado a G2 e G4, além de maior expressão em G3 quando comparada a G4. A enzima HDAC6 mostrou diferença estatística durante a comparação entre os grupos G1 e G3 ( $p = 0,0145$ ) e entre G1 e G4 ( $p = 0,0399$ ), em que G3 e G4 tiveram maior expressão da enzima comparada a G1. Já no caso da enzima HDAC2 não houve diferença estatística significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2 e Figura 1).

**Tabela 2.** Valores de imunomarcção das histonas acetiladas e das enzimas histonas desacetilases nos diferentes grupos experimentais.

Anticorpos	%	Grupos			
		G1 (n=11)	G2(n=19)	G3 (n=46)	G4 (n=15)
<b>H4K12AC</b>	Média	84,78	76,31	79,60	81,09
	Mediana	80,00	73,60	81,00	81,20
	Min-Máx	78,00- 97,00	62,40- 97,00	48,80-98,40	64,40-97,40
	Desv. P.	7,05	10,60	10,92	8,63
<b>H3K9AC</b>	Média	80,84	73,48	63,85	53,83
	Mediana	81,80	73,20	71,80	66,80
	Min-Máx	67,40- 92,60	50,20-96,00	0,00-94,20	1,400-86,40
	Desv. P.	8,28	14,39	25,84	28,39
<b>HDAC1</b>	Média	81,84	54,93	73,04	46,29
	Mediana	82,40	61,40	80,70	45,40
	Min-Máx	50,20-96,40	1,0- 83,40	16,40-96,40	5,60- 90,20
	Desv. P.	12,05	26,03	19,36	31,21
<b>HDAC2</b>	Média	82,96	78,68	74,87	69,68
	Mediana	79,60	80,68	82,30	74,60
	Min-Máx	69,40-97,00	39,00- 94,20	0,00-100,0	0,00- 98,00
	Desv. P.	9,39	11,87	23,57	27,07
<b>HDAC6</b>	Média	9,41	14,40	18,12	18,47
	Mediana	8,08	14,62	18,79	18,15
	Min-Máx	3,28-14,93	3,78-30,39	1,07-43,47	5,51-35,25
	Desv. P.	4,47	6,37	9,61	8,77

Min; mínimo; Máx: máximo; Desv. P: desvio padrão

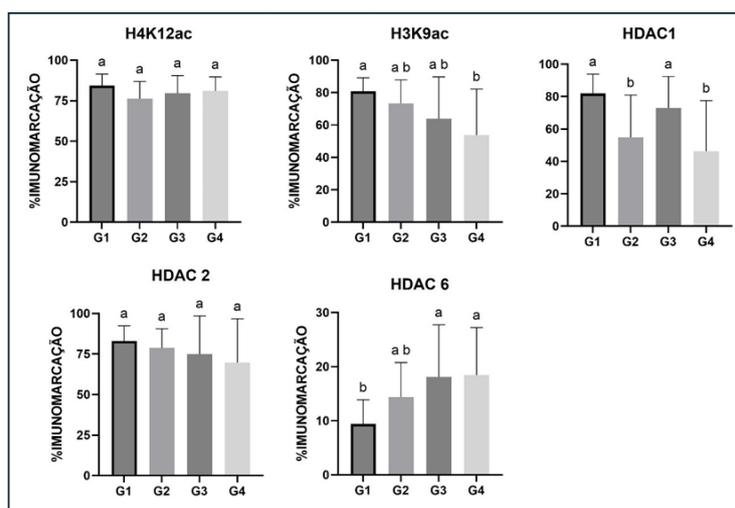


Figura 1. Representação gráfica da porcentagem imunomarcção em tecidos mamários das histonas acetiladas H4K12ac e H3K9ac e das enzimas histonas desacetilases HDAC1, 2 e 6 entre os diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam que houve diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

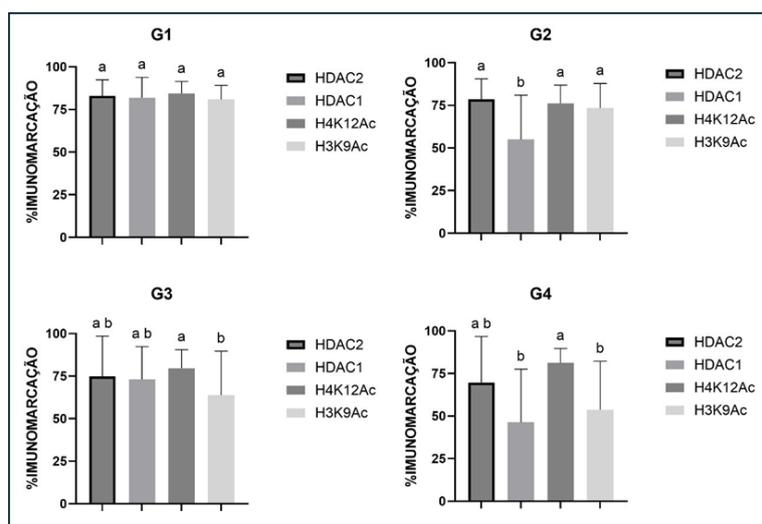
Analisando a expressão das histonas e enzimas desacetilases dentro de cada grupo experimental, observou-se que não houve diferença significativa na média de imunomarcção dos anticorpos no tecido mamário saudável (G1) ( $p > 0,05$ ). Já no tecido mamário com adenomas (G2) foi notada diferença estatística entre HDAC1 e HDAC 2 ( $p = 0,0003$ ), HDAC1 e H4 ( $p = 0,0012$ ) e HDAC 1 e H3 ( $0,0061$ ), sendo a média de HDAC1 menor do que os demais anticorpos. Em relação aos tecidos mamários diagnosticados como carcinomas (G3) houve diferença estatística entre H3 e H4 ( $0,0341$ ), com maior expressão de H4. Nos tipos histológicos diagnosticados com

metástase em linfonodos regionais (G4), foi possível observar diferença estatística entre HDAC1 e H4 ( $p=0,0023$ ) e entre H4 e H3 ( $p=0,0242$ ), sendo H4 mais expresso em ambos (Tabela 3 e Figura 2).

**Tabela 3.** Valores de imunomarcação das histonas acetiladas e das enzimas histonas desacetilases em cada grupo experimental.

Grupos		Anticorpos			
		H4K12ac	H3K9ac	HDAC 1	HDAC 2
G1	Média	84,38	80,84	81,84	82,96
	Mediana	80,00	81,80	82,40	79,60
	Min-Máx	78,80-97,00	67,40-92,60	50,20-96,40	69,40-97,00
	Desv. P.	7,054	8,281	12,05	9,394
G2	Média	76,31	73,48	54,93	78,68
	Mediana	76,60	73,20	61,40	84,68
	Min-Máx	62,40-97,00	50,20-96,00	1,00-83,40	39-94,20
	Desv. P.	10,60	14,39	26,03	11,87
G3	Média	81,09	63,85	73,04	74,87
	Mediana	81,20	71,80	80,70	82,30
	Min-Máx	64,40-97,40	0,00-94,20	16,40-98,40	0,00-100,0
	Desv. P.	8,632	25,84	19,36	23,57
G4	Média	81,09	53,83	46,29	69,68
	Mediana	81,20	66,80	45,20	74,60
	Min-Máx	64,40-97,40	1,40-86,40	5,60-90,20	0,00-98,00
	Desv. P.	8,632	28,39	31,21	27,07

Min; mínimo; Máx: máximo; Desv. P: desvio padrão



**Figura 2.** Representação gráfica da porcentagem imunomarcação em tecidos mamários das histonas acetiladas H4K12ac e H3K9ac e das enzimas histonas desacetilases HDAC1, 2 e 6 dentro de cada grupo experimental. Letras diferentes indicam que houve diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

Curvas de sobrevivência foram geradas a partir da mediana dos valores da imunomarcação de cada anticorpo e foi categorizado em alta (acima da mediana) e baixa (abaixo da mediana) expressão. Neste caso, nenhum dos anticorpos, tanto para histonas H3 e H4, quanto para as enzimas HDAC 1, 2 e 6 apresentou diferença significativa quanto a sobrevida global das pacientes ( $p > 0,05$ ) (Figura 3). O estudo avaliando esses mesmos anticorpos para tumor de mama em cadelas utilizando o escore de marcação também não observou diferença significativa no tempo de sobrevida global (SENHORELLO et al., 2023).

Em relação à marcação das histonas H3, o resultado da mediana de sobrevida nos casos de baixa expressão foi indefinido já que ao final do experimento mais de 50% dos animais ainda estavam vivos. Outro dado relevante foi a taxa de sobrevivência em relação a expressão de H4, onde tumores com baixa expressão conferiram menores taxas de sobrevivência com mediana de 766 dias em relação a alta expressão com mediana de 999,5 dias, apesar de não ter sido estatisticamente significativo (Tabela 4).

**Tabela 4.** Dados de porcentagem de sobrevivência e mediana de sobrevida dos animais com carcinoma mamário para as expressões das histonas acetiladas (H4K12ac e H3K9ac) e as enzimas histonas desacetilases (HDAC1, 2, 6) pelo método de Kaplan-Meier e teste de Log-rank.

Anticorpos	Expressão	Sobrevivência %	Mediana (dias)	P-Valor
H4K12ac	Baixa	37,93	766	0,5712
	Alta	50,00	999,5	
H3K9ac	Baixa	53,12	Indefinido	0,1558
	Alta	34,48	766	
HDAC1	Baixa	46,667	788	0,9708
	Alta	41,935	870	
HDAC2	Baixa	45,161	870	0,5962
	Alta	43,333	810	
HDAC6	Baixa	46,429	887	0,9246
	Alta	42,424	810	

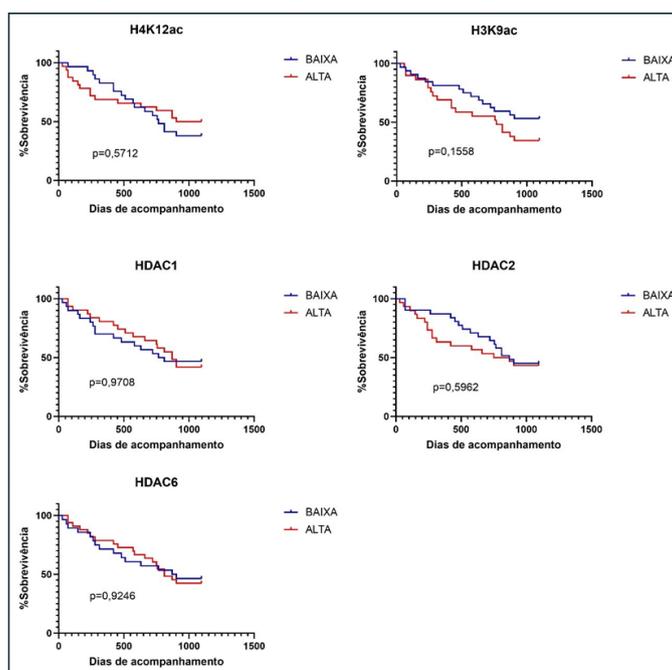


Figura 3. Análise estatística das expressões das histonas acetiladas e enzimas histonas desacetilases e tempo de sobrevida global de cadelas portadoras de carcinomas mamários simples pelo método de Kaplan-Meier.

### 3.2. Discussão

Esse é o primeiro estudo que investigou alterações epigenéticas, por meio da avaliação da porcentagem de imunomarcagem das histonas acetiladas H3 e H4 e enzimas desacetilases (HDAC 1, 2 e 6), comparando as respectivas expressões entre tecidos mamários normais, neoplasias mamárias benignas e neoplasias mamárias malignas de cadelas. Um trabalho recente avaliou a expressão em tecidos mamários caninos neoplásicos,

entretanto o método de avaliação foi escore de marcação, levando em consideração a porcentagem de marcação e a intensidade (SENHORELLO et al., 2023).

Nos carcinomas mamários, o padrão de acetilação da histona acetilada H4K12Ac não indicou diferença significativa entre os grupos o que entra em concordância com o estudo feito por SENHORELLO et al, (2023) em que não foi encontrada hipoacetilação da histona em questão, assim como não indicou associação relevante entre a expressão dessa proteína e variáveis clínico patológicas que influenciam no prognóstico ou sobrevida global dos pacientes. Por outro lado, em mulheres, a alta expressão de H4K12Ac é relacionada com tipos tumorais de melhor prognóstico (Muller et al., 2013; Derr et al., 2014).

Tumores com baixa expressão de H4 tiveram menores porcentagens de sobrevivência, quando comparados com aqueles que tiveram alta expressão da proteína em questão, apesar de não haver diferença significativa na média de imunomarcação dos anticorpos. Dessa forma, esse resultado condiz com a afirmação de que hipoacetilação de H4K12Ac pode vir a tornar-se um relevante marcador de prognóstico, uma vez que, em humanos, já foi observada hipoacetilação desta proteína em carcinomas ductais invasivos (SUZUKI et al., 2009). Por outro lado, ao analisarmos tipos histológicos com metástases em linfonodos regionais (G4) observou-se diferença entre HDAC1 e H4, o que também foi evidenciado entre H3 e H4. Em ambos os casos H4 foi mais expresso, indicando que a não houve hipoacetilação da proteína em questão.

Na análise envolvendo a histona H3K9Ac houve uma diferença envolvendo o grupo composto por tecidos mamários saudáveis (G1) e o grupo de tecidos com carcinoma mamário simples com metástase em linfonodo regional (G4), onde a maior expressão foi em G1. Esses dados envolvendo H3K9Ac corroboram as pesquisas que afirmam que a hipoacetilação está relacionada com o silenciamento dos genes supressores tumorais, ao contrário da hiperacetilação, que favorece a transcrição gênica (TAUNTON et al., 1996; KOUZARIDES, 2007; JONES et al., 2016).

Na imunomarcação a histona acetilada H3K9Ac e a histona desacetilase HDAC1 foram as de menor expressão em todos os grupos de tecidos neoplásicos analisados, resultado condizente com os obtidos por SENHORELLO et al (2023). No caso de H3K9Ac, esse resultado se assemelha ao que já foi constatado em humanos, que evidenciam hipoacetilação (ELSHEIKH et al., 2009; WEBBER et al., 2017).

Ao analisarmos a expressão de HDAC1, foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos experimentais, sendo essa enzima mais expressa em tecidos mamários normais e menos expressa em adenomas e em carcinomas simples com metástase em linfonodos. Esse resultado também foi observado na pesquisa de SENHORELLO et al (2023), condizente com SUZUKI et al. (2009), em que após comparar a expressão de tecidos mamários humanos saudáveis e neoplásicos observaram redução na expressão deste último.

Já em relação à expressão de HDAC2, não ocorreu diferença estatística significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ), concordante com o estudo em humanos realizado por DERR et al., (2014), onde não foram observadas diferença de expressão dessa enzima entre tecidos mamários normais e neoplásicos.

A enzima HDAC6 mostrou maior expressão em amostras de carcinomas mamários simples com e sem metástase em linfonodo regional quando comparada ao tecido mamário sem alteração histológica, resultado concordante com HOU et al. (2015), em que foi constatada maior positividade em tecidos neoplásicos quando comparado a tecidos não neoplásicos em casos de adenocarcinomas prostáticos em humanos. Esses resultados ganham relevância, visto que existem medicamentos inibidores de HDACs que já são usados em humanos no tratamento do câncer (MOUFARRIJ et al., 2020). A alta expressão de HDAC 6 pode representar um alvo terapêutico promissor em cadelas com tumores mamários, visto que tratamentos com iHDACs já tem sido testados em caninos e demonstraram resultados satisfatórios (ELSHAFIE et al., 2017).

No presente estudo, ao analisar as modificações epigenéticas das histonas em carcinomas mamários, correlacionando-as com o prognóstico dos pacientes, levando em conta o tempo de sobrevida, não foram detectadas diferenças significantes quanto a sobrevida global dos indivíduos. Esse achado condiz com o estudo recente que avaliou os mesmos anticorpos, porém, usando o método de escore de marcação (SENHORELLO et al, 2023). Esses resultados se opõem a estudos que relacionam alterações epigenéticas em tumores de mama em mulheres com fatores prognósticos que se correlacionam com maior tempo de sobrevida (KRUSCHE et al., 2005).

#### 4. Conclusões

Na medicina veterinária essa área carece de mais estudos, sendo esse o primeiro estudo que investigou alterações epigenéticas avaliando a porcentagem de imunomarcagem das histonas acetiladas H3 e H4 e enzimas desacetilases HDAC 1, 2 e 6, comparando as expressões entre os tecidos mamários normais, neoplasias mamárias benignas e neoplasias mamárias malignas de cadelas. Pelos resultados apresentados, há diferença na expressão de histonas acetiladas e enzimas histonas desacetilases nos diferentes tecidos mamários, o que evidencia modificações epigenéticas. Além disso, há hipoacetilação de H3K9ac e alta expressão de HDAC 6 em tecidos mamários neoplásicos. Ademais, não houve diferença em relação ao tempo de sobrevida global e a expressão das histonas e enzimas.

#### Agradecimentos

Agradecemos de forma especial à Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão (PRPPGE) pelo fomento para a realização da pesquisa. Também agradecemos aos nossos professores Dr. Igor Luiz Salardani Senhorello e Dra. Mayra Cunha Flecher por nos orientar com excelência.

#### Referências

- Derr RS, van Hoesel AQ, Benard A, et al. High nuclear expression levels of histonemodifying enzymes LSD1, HDAC2 and SIRT1 in tumor cells correlate with decreased survival and increased relapse in breast cancer patients. *BMC câncer*. 2014;14(1):604.
- Elshafae, SM, Kohart, NA, Altstadt, LA, Dirksen, WP, Rosol, TJ (2017) The effect of a histone deacetylase inhibitor (AR-42) on canine prostate cancer growth and metastasis. *The Prostate*, 77(7):776-793
- Epigenética aplicada à saúde e a doença: princípios fundamentais baseados em evidências atuais / organizado por Viviane Rostirola Elsner e Ionara Rodrigues Siqueira – Porto Alegre: Editora Universitária Metodista IPA, 2016. 136 p.
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, v. 144, n. 5, p. 646–674, 4 mar. 2011.
- Hou H, Zhao L, Chen W, et al. Expression and significance of cortactin and HDAC 6 in human prostatic foamy gland carcinoma. *International journal of experimental pathology*. 2015;96(4):248-254.
- JONES, Peter A.; ISSA, Jean-Pierre J.; BAYLIN, Stephen. Targeting the cancer epigenome for therapy. *Nature Reviews Genetics*, v. 17, n. 10, p. 630-641, 2016.
- KOUZARIDES, Tony. Chromatin modifications and their function. *Cell*, v. 128, n. 4, p. 693-705, 2007.
- Krusche CA, Wülfing P et al. (2005) Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. *Breast Cancer Research and Treatment* 90(1):15-23.
- Moufarrij S, Srivastava A, Gomez S, et al. Combining DNMT and HDAC6 inhibitors increases anti-tumor immune signaling and decreases tumor burden in ovarian cancer. *Scientific reports*. 2020;10(1):1-12.
- MULLER, H. R; PRADO, K. B. Epigenética: um novo campo da genética. *RUBS, Curitiba*, v.1, n.3, p. 61-69, set/dez. 2008.

- MÜLLER, Berit Maria et al. Differential expression of histone deacetylases HDAC1, 2 and 3 in human breast cancer-overexpression of HDAC2 and HDAC3 is associated with clinicopathological indicators of disease progression. *BMC cancer*, v. 13, p. 1-8, 2013.
- REYS, M.P. et al. Conhecimento dos tutores sobre o câncer em animais e fatores epidemiológicos relacionados às neoplasias em cães e gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Vila Velha. *ARS Veterinária*, Jaboticabal, SP, v. 36, n. 4, p. 344-353, 2020. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/348021894\\_CONHECIMENTO\\_DOS\\_TUTORES SOBRE\\_O\\_CANCER\\_EM\\_ANIMAIS\\_E\\_FATORES\\_EPIDEMIOLOGICOS\\_RELACIONADOS\\_AS\\_NEOPLASIAS\\_EM\\_CAES\\_E\\_GATOS\\_ATENDIDOS\\_NO\\_HOSPITAL\\_VETERINARIO\\_DA\\_UNIVERSIDADE\\_VILA\\_VELHA](https://www.researchgate.net/publication/348021894_CONHECIMENTO_DOS_TUTORES SOBRE_O_CANCER_EM_ANIMAIS_E_FATORES_EPIDEMIOLOGICOS_RELACIONADOS_AS_NEOPLASIAS_EM_CAES_E_GATOS_ATENDIDOS_NO_HOSPITAL_VETERINARIO_DA_UNIVERSIDADE_VILA_VELHA). Acesso em: 04/01/2024
- RODRIGUES, A. C. B. Aspectos Epidemiológicos das neoplasias Mamárias em Cadelas e Gatas. In: CASSALI, G. D. et al. *PATOLOGIA MAMÁRIA CANINA E FELINA: DO DIAGNÓSTICO AO TRATAMENTO*. 2. ed. São Paulo: EDITORA MED VET, 2023. p. 43-47.
- SAWAN, Carla; HERCEG, Zdenko. Histone modifications and cancer. *Advances in genetics*, v. 70, p. 57-85, 2010.
- SENHORELLO, I. L. S. et al. Expression of acetylated histones H3 and H4 and histone deacetylase enzymes HDAC1, HDAC2 and HDAC6 in simple mammary carcinomas of female dogs. *Frontiers in Genetics*, v. 14, 9 nov. 2023.
- SENHORELLO, I. L. S. [UNESP. Avaliação do padrão de acetilação das histonas H3 e H4 e expressão das enzimas HDAC1, HDAC2 e HDAC6 em tumores mamários de cadelas. 23 out. 2020.
- SILVA, H.C. Epidemiology of Canine Mammary Gland Tumours in Espírito Santo, Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae*, mar, 2019.
- STRUHL, K. Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes Dev*, 12, 599–606. 1998.
- SUZUKI, Junko et al. Protein acetylation and histone deacetylase expression associated with malignant breast cancer progression. *Clinical Cancer Research*, v. 15, n. 9, p. 3163-3171, 2009.
- TAUNTON, Jack; HASSIG, Christian A.; SCHREIBER, Stuart L. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science*, v. 272, n. 5260, p. 408-411, 1996.
- WEBBER, Liana P. et al. Hypoacetylation of acetyl-histone H3 (H3K9ac) as marker of poor prognosis in oral cancer. *Histopathology*, v. 71, n. 2, p. 278-286, 2017.

## Capítulo 8

# “EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EUTERPE EDULIS NO PARÂMETRO PSICOMOTOR DE REAÇÃO SIMPLES E DE ESCOLHA”

### Autores

Genário Gonçalves dos Santos Jr.<sup>1</sup>, Beatriz Klippel Amancio Pereira,<sup>1</sup> Deuel Azolin da Silva<sup>2</sup>, Denise Coutinho Endringer<sup>3</sup>, Leonardo Raposo Rocha Gomes<sup>2</sup>, Antônio Carlos Avanza Júnior<sup>4\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Medicina, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Docente do Curso de Farmácia; Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>4</sup>Docente do Curso de Medicina, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: [acavanzajr@gmail.com](mailto:acavanzajr@gmail.com)

Telefone: +55 (27) 998120238

### Resumo

Introdução: A Juçara (*Euterpe edulis*), palmeira da Mata Atlântica, produz frutos ricos em compostos bioativos com propriedades antioxidantes e neuroprotetoras. Métodos: Estudo cross-over simples-cego, envolvendo a avaliação de um participante saudável, entre 20-30 anos, mediante ao consumo do suco Juçara, por meio de testes de reação simples e de escolha. Resultados e Discussão: Observou-se que, a suplementação com *E. edulis* promoveu melhora significativa no tempo de resposta psicomotor e na capacidade cognitiva, atribuída aos efeitos antioxidantes dos compostos. Conclusão: Embora promissores, os resultados limitam-se a um indivíduo, sugerindo a necessidade de estudos maiores para confirmar esses benefícios.

### Abstract

Introduction: Juçara (*Euterpe edulis*), a palm tree native to the Atlantic Forest, produces fruits rich in bioactive compounds with antioxidant and neuroprotective properties. Methods: A single-blind, cross-over study involving the evaluation of a healthy participant aged between 20-30 years was conducted to assess the effects of Juçara juice consumption through simple and choice reaction tests. Results and Discussion: It was observed that supplementation with *E. edulis* significantly improved psychomotor response time and cognitive capacity, attributed to the antioxidant effects of its compounds. Conclusion: Although promising, the results are limited to a single individual, suggesting the need for larger studies to confirm these benefits.

**Palavras-chave:** *Euterpe edulis*; psicomotor; reação simples; reação de escolha; suplementação

## 1. Introdução

A Juçara (*Euterpe edulis*) é uma espécie de palmeira brasileira amplamente distribuída pela Mata Atlântica, conhecida pela produção de frutos altamente nutritivos, comumente chamados de "super frutos". Esses frutos possuem uma composição rica em substâncias bioativas, como ácidos fenólicos (gálico, vanílico, p-cumárico e clorogênico), flavonóides, carotenóides e antocianinas. As antocianinas, em particular, são pigmentos vegetais classificados como compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides, que desempenham um papel crucial na dieta humana devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antideletérias. Tais compostos bioativos presentes na *Euterpe edulis* têm sido amplamente estudados por sua capacidade de neutralizar estressores físicos, químicos e biológicos, prevenindo o desenvolvimento de diversas condições de saúde, como doenças cardiovasculares, câncer, diabetes mellitus e doenças neurodegenerativas, incluindo Alzheimer e Parkinson. Além disso, estudos indicam que o consumo desses frutos pode contribuir para a inibição de enzimas inflamatórias, como COX-1 e COX-2, e para a redução da produção de óxido nítrico (NO), que está associado a processos inflamatórios e degenerativos. Segundo a Anvisa, suplementos alimentares, como os derivados da Juçara, são produtos destinados a complementar a alimentação de indivíduos saudáveis, fornecendo nutrientes e substâncias bioativas que podem não ser obtidos adequadamente apenas pela dieta. A suplementação com *Euterpe edulis*, devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e ergogênicas, é considerada uma estratégia eficaz para melhorar a capacidade mental e física dos indivíduos, potencialmente aumentando a capacidade de trabalho e prevenindo o desenvolvimento de processos inflamatórios e doenças crônicas, tornando sua suplementação uma importante ferramenta na manutenção do bem-estar e na melhoria da qualidade de vida. A elevada capacidade antioxidante e a rica composição fitoquímica da *Euterpe edulis* posicionam esses frutos como um complemento alimentar valioso, especialmente na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo e na promoção da saúde mental.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Delineamento experimental

Consiste em um estudo clínico, cross-over, simples-cego, a fim de oferecer a suplementação com o *Euterpes edulis* diariamente durante 10 dias.

### 2.2. Seleção dos participantes

Por meio de um formulário estruturado, foi selecionado um participante de acordo com os critérios de inclusão (sexo masculino, idade entre 20 e 30 anos e prática regular de exercícios físicos por pelo menos três meses) e os de exclusão (problemas motores, alterações cardiovasculares, diabetes tipo I e II, tabagismo, serem atletas, déficits cognitivos e distúrbios psicomotores).

### 2.3. Experimento

Na primeira etapa do experimento, de maneira randomizada, o participante recebeu 250 mL de água (controle) para consumir durante 10 dias e no 11º dia, foram realizados os testes de reação simples e de escolha para avaliação psicomotora. Após os 18 dias de washout, o participante iniciou o tratamento oposto, ou seja, com amostras comerciais de juçara (*Euterpe edulis*) refrigeradas a 4°C a 10°C, por dia, para consumir por 10 dias. Depois de 11 dias desde o início do consumo da juçara, ele foi submetido novamente aos testes psicomotores.

#### 2.4. Preparação do suco Juçara

A preparação do suco Juçara foi obtida a partir dos mesmos métodos estabelecidos em estudos anteriores (SCHULZ et al., 2016.; MENDES et al., 2021).

#### 2.5. Caracterização Química do Suco de Juçara

O suco utilizado no estudo possui as seguintes características: pelo menos  $350,0 \pm 17,5$  mg de fenólicos totais (equivalente de ácido gálico);  $186,0 \pm 7,5$  mg de antocianinas monoméricas totais (cianidina 3-glicosídeo);  $0,73 \pm 0,01$  g de proteínas; e  $2,75 \pm 0,03$  g de lipídios (extrato etéreo).

#### 2.6. Avaliação - Teste Psicomotor de Reação de Escolha

Os participantes serão instruídos a responder o mais rápido possível a estímulos visuais e acústicos utilizando os membros superiores. Estímulos ópticos aparecerão, cada um com uma "tecla de reação" correspondente e os participantes deverão pressionar a tecla correspondente com a mão direita ou esquerda. O teste incluirá também reação a estímulos acústicos.

Os parâmetros testados são:

Número de respostas corretas (n);

Número de respostas incorretas e perdidas (n);

Média do(s) tempo(s) de resposta.

#### 2.7. Avaliação - Teste psicomotor de reação simples

O indivíduo examinado deve se sentar em frente ao monitor com o dedo indicador da mão dominante posicionado sobre o sensor (denominado "tecla stand-by") localizado no painel de controle. O aluno foi instruído a manter o dedo na "tecla stand-by" e movê-lo para a "tecla de reação" assim que o estímulo (luz amarela) aparecesse.

Os parâmetros testados são:

A1 - mediana do tempo de reação (intervalo entre o início de um determinado estímulo e a liberação da "tecla stand-by", em ms);

A2 - mediana do tempo de movimento;

A3 - mediana do tempo total de resposta.

### 3. Resultados e Discussão

Após 10 dias consumindo o placebo, o participante foi submetido a um teste psicomotor de reação simples e um teste de reação de escolha.

No teste de reação simples da primeira etapa, o participante obteve os seguintes resultados:

A1 - mediana do tempo de reação: 610 ms

A2 - mediana do tempo de movimento: 176 ms

A3 - mediana do tempo total de resposta: 393 ms

No teste de reação de escolha da primeira etapa, o participante obteve os seguintes resultados:

Número de respostas corretas (n): 4

Número de respostas incorretas e perdidas (n): 1

Média do(s) tempo(s) de resposta: 370 ms

Após 10 dias consumindo as amostras do suco Juçara, o participante, novamente foi submetido a um teste psicomotor de reação simples e um teste de reação de escolha.

No teste de reação simples da segunda etapa, o participante obteve os seguintes resultados:

A1 - mediana do tempo de reação: 403 ms;

A2 - mediana do tempo de movimento: 146 ms;

A3 - mediana do tempo total de resposta: 274,5 ms.

No teste de reação de escolha da segunda etapa, o participante obteve os seguintes resultados:

Número de respostas corretas (n): 5;

Número de respostas incorretas e perdidas (n): 0;

Média do(s) tempo(s) de resposta: 624 ms.

Os resultados obtidos neste estudo, apesar de baseados em apenas um participante, oferecem dados valiosos sobre os potenciais benefícios da suplementação com *Euterpe edulis*. O participante submetido à suplementação com Juçara demonstrou uma melhora significativa no tempo de resposta psicomotora e na capacidade cognitiva, tanto no teste de reação simples quanto no teste de reação de escolha. Especificamente, o tempo de reação foi reduzido, e a precisão das respostas foi aprimorada em comparação com as medições anteriores à suplementação, sugerindo um efeito positivo dos compostos bioativos presentes na *Euterpe edulis*.

A literatura científica oferece suporte substancial para esses achados. A Juçara é rica em compostos fenólicos, como antocianinas e flavonóides, que têm sido amplamente estudados por suas propriedades neuroprotetoras e ergogênicas. Estudos como os de Chin et al. (2008) e Matheus et al. (2006) destacam a capacidade desses compostos de inibir a ação das enzimas pró-inflamatórias COX-1 e COX-2, bem como de reduzir a produção de óxido nítrico (NO), um radical livre associado à inflamação e ao estresse oxidativo no sistema nervoso central. A diminuição do estresse oxidativo, em particular, tem sido apontada como um fator crucial na proteção contra danos neurais e no aprimoramento da função cognitiva (Pacheco-Palencia et al., 2008).

No contexto deste estudo, a melhora observada no desempenho psicomotor do participante pode ser atribuída à elevada capacidade antioxidante dos compostos presentes na Juçara. Antocianinas, por exemplo, são conhecidas por atravessarem a barreira hematoencefálica, onde exercem efeitos antioxidantes diretamente no tecido cerebral. Isso pode explicar a maior rapidez e precisão nas respostas do participante, sugerindo que a suplementação com *Euterpe edulis* pode ser eficaz não apenas para a proteção contra doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson, mas também para o aprimoramento de funções cognitivas em indivíduos saudáveis.

Além das propriedades neuroprotetoras, a *Euterpe edulis* também é destacada por suas capacidades ergogênicas e anti-fadiga. Segundo Souza et al. (2012), o consumo regular de alimentos ricos em flavonóides pode melhorar a capacidade física e mental, potencializando o desempenho em tarefas que exigem rápida resposta psicomotora. No presente estudo, a diminuição do tempo de resposta psicomotora após a suplementação reforça essa hipótese, sugerindo que os bioativos presentes na Juçara podem atuar como moduladores do desempenho cognitivo, especialmente em situações de estresse físico ou mental.

Apesar de os resultados serem promissores, é importante considerar que este estudo foi conduzido com apenas um participante, o que limita a generalização dos achados. No entanto, os resultados observados estão em consonância com a literatura existente, que tem consistentemente relatado os benefícios dos compostos bioativos da *Euterpe edulis*. Para confirmar esses efeitos em uma população mais ampla, seria necessário conduzir estudos adicionais com um maior número de participantes e com controles mais rigorosos, permitindo uma avaliação mais robusta dos efeitos da suplementação.

Além disso, seria interessante investigar o impacto da suplementação com *Euterpe edulis* em diferentes contextos e populações, incluindo indivíduos com transtornos cognitivos, idosos e atletas, para explorar

plenamente o potencial terapêutico e ergogênico desses compostos. A investigação dos mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos observados também seria valiosa, permitindo uma compreensão mais profunda de como os bioativos da Juçara interagem com o sistema nervoso central para produzir melhorias na função cognitiva e no desempenho psicomotor.

Por fim, a segurança e a dose ideal de suplementação de *Euterpe edulis* também devem ser objeto de futuras pesquisas. Embora a Juçara seja um alimento tradicionalmente consumido em várias regiões do Brasil, a utilização de seus compostos bioativos em forma de suplemento requer uma avaliação cuidadosa dos possíveis efeitos adversos, especialmente em doses elevadas ou em populações vulneráveis. A avaliação de marcadores bioquímicos e fisiológicos, como níveis de estresse oxidativo, inflamação sistêmica e função hepática, pode fornecer dados importantes para guiar o uso seguro e eficaz de suplementos à base de *Euterpe edulis*.

#### 4. Conclusões

Em resumo, este estudo preliminar sugere que a suplementação com *Euterpe edulis* pode ter efeitos benéficos significativos no desempenho psicomotor e na capacidade cognitiva, mesmo em um único indivíduo. Esses resultados estão alinhados com a literatura existente sobre os benefícios dos compostos bioativos da Juçara e justificam a realização de estudos mais amplos para explorar plenamente seu potencial terapêutico e ergogênico. A continuação dessa linha de pesquisa pode contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias de suplementação que promovam a saúde mental e física em diversas populações.

#### Agradecimentos

Agradecimentos ao orientador Antônio Carlos Avanza Júnior e aos colaboradores Deuel Azolin, Denise Endringer e Leonardo Raposo.

#### Referências

- FAVARO, L. I. L. et al.. "Physicochemical Characterization of a Crude Anthocyanin Extract from the Fruits of Jussara (*Euterpe edulis* Martius): Potential for Food and Pharmaceutical Applications." ("(PDF) Physicochemical Characterization of a Crude Anthocyanin Extract ...") *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 29, n. 10, p. 2072–2088, out. 2018.
- SCHULZ, Mayara et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. *Food Research International*, [s. l.], v. 89, p. 14-26, 2016. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.027>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996916303143>. Acesso em: 22 maio 2023.
- COPETTI, C. L. K. et al. Acute effect of juçara juice (*Euterpe edulis* Martius) on oxidative stress biomarkers and fatigue in a high-intensity interval training session: A single-blind cross-over randomized study. *Journal of Functional Foods*, [s. l.], v. 67, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103835>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620300591?via%3Dihub>. Acesso em: 22 maio 2023.
- MENDES, B. C. et al. Effects of *Euterpe edulis* Martius on inflammatory responses to high-intensity intermittent exercise: Crossover randomized trial. *Nutrition*, [s. l.], v. 91-92, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111344>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900721002069>. Acesso em: 22 maio 2023.
- JÓWKO, E. et al. Effects of *Rhodiola rosea* supplementation on mental performance, physical capacity, and oxidative stress biomarkers in healthy men. *Journal of Sport and Health Science*, [s. l.], v. 7, p. 473-480, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2016.05.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095254616300345>. Acesso em: 22 maio 2023.
- LIMA, C. P. et al.. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 14, n. 2, p. 321–326, 2012.

## Capítulo 9

# “PIOMETRA: ESTUDO DE CORRELAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS, IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA”

### Autores

Gerson Verneck Miranda Lima<sup>1</sup>, Milena da costa rocha<sup>1</sup>, Karoline Marie Araujo Günther<sup>1</sup>, Emy Hiura<sup>2</sup>, Carolina Magri Ferraz<sup>3</sup>, Vinicius Bastos dos Santos<sup>4</sup>, Karoline Marie Araujo Günther<sup>4</sup>, Fernando Luiz Tobias<sup>5\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA); Médico Veterinário, Laboratório de Microbiologia, Hospital Veterinário “Prof. Ricardo Alexandre Hipocler”, Universidade de Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>4</sup>Médico Veterinário, Setor de Cirurgia, Hospital Veterinário “Prof. Ricardo Alexandre Hipocler”, Universidade de Vila Velha, Vila Velha, ES

<sup>5</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária; Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: tobias@uvv.br

Telefone: +55 27 99983-7470

### Resumo

Piometra é uma afecção do sistema reprodutor feminino, mediada por hormônios e secundária a uma infecção bacteriana, que pode acometer todos os animais domésticos. O artigo trabalha acerca da susceptibilidade microbiana de amostras coletadas na região da Grande Vitória no período de agosto de 2023 a julho de 2024. As amostras foram inoculadas em meio Agar Macconkey e Agar sangue, a fim de filtrarmos sua identificação. Foram identificadas 10 amostras, das quais foram realizados ensaios antimicrobianos, tendo como resultado a alta resistência microbiana a antibióticos comumente usados na rotina veterinária, como, metronidazol que foi resistente para todas as amostras isoladas.

### Abstract

Pyometra is a hormone-mediated condition of the female reproductive system, secondary to bacterial infection, affecting all domestic animals. This article addresses the microbial susceptibility of samples collected in the Greater Vitória region between August 2023 and July 2024. The samples were inoculated in MacConkey Agar and Blood Agar to facilitate identification. A total of 20 samples were identified, and antimicrobial susceptibility tests were performed. The results showed high microbial resistance to commonly used veterinary antibiotics, with metronidazole being resistant in all the isolated samples.

**Palavras-chave:** E.coli; Superbactérias; Metronidazol; Veterinária; Hospital Veterinário

## 1. Introdução

A piometra é uma condição caracterizada pela infiltração de células inflamatórias e infecção bacteriana, frequentemente associada à hiperplasia endometrial uterina (Oliveira, 2016; Jitpean et al., 2017; Hagman, 2017). Embora a etiologia e a patogênese da doença não sejam totalmente compreendidas, acredita-se que fatores multifatoriais estejam envolvidos. A teoria mais aceita sugere a ação combinada de hormônios esteroides, como progesterona e estrógeno, durante ciclos reprodutivos sucessivos, além de fatores de proliferação endometrial e fatores bacterianos. Essas interações resultam em alterações endometriais que incluem reações inflamatórias exsudativas e degenerativas (Veiga et al., 2017).

Essa patologia geralmente ocorre durante o diestro, uma fase em que os valores séricos de progesterona aumentados. Os sinais clínicos mais comuns incluem apatia, perda de apetite, febre, aumento na ingestão de água, poliúria e secreção vaginal purulenta (Qian e Hou, 2017). Podendo ser classificada como de cérvix fechada, quando não há secreção vaginal, e de cérvix aberta, quando há presença de secreção (Jitpean et al., 2017). A piometra de cérvix fechada tende a ser mais grave devido ao risco de endotoxemia, ruptura uterina e maior probabilidade de síndrome da resposta inflamatória sistêmica (Prapaiwan et al., 2017). O diagnóstico é na anamnese em conjunto com os exames laboratoriais e os exames de imagem, como radiografia e ultrassonografia abdominal, que permitem avaliar o aumento do volume uterino e outras características do útero (Hagman, 2016).

Embora o tratamento padrão seja a ovariectomia, em casos em que se deseja preservar o valor reprodutivo, pode-se optar por tratamento medicamentoso com o uso de antibióticos e bloqueadores de receptores de progesterona combinados com prostaglandinas. Apesar das taxas de sucesso, o tratamento medicamentoso apresenta desafios, como a alta taxa de recidiva no ciclo seguinte (Contri et al., 2015; Hagman, 2016). A resistência bacteriana é uma preocupação crescente, destacando a importância de estudos microbiológicos para caracterizar os agentes causadores e melhorar o sucesso do tratamento, garantindo uma melhora no prognóstico das cadelas afetadas (Fiamengo et al., 2020; Agostinho, 2014). Diversos estudos foram realizados sobre resistência a antimicrobianos entre bactérias isoladas dos úteros de cadelas com piometra (Gandotra et al., 1994; Franklin et al., 1996; Yates, 1996; Pradhan et al., 1999; Lee et al., 2000; Wernicki et al., 2002). As proporções de isolados relatados como resistentes variam, mas em sua maioria apresentam alta resistência. *Escherichia coli* é o agente bacteriano mais frequentemente isolado em casos de piometra, mas outras bactérias, como *Staphylococcus intermedius* e *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico, também estão associadas à doença (Ros et al., 2014; Oliveira et al., 2016).

## 2. Metodologia

Foram coletadas amostras de 10 pacientes, entre gatas e cadelas, que passaram por ovariectomia devido à piometra no Hospital Veterinário da U.V.V. - Prof. Ricardo Alexandre Hippler, entre agosto de 2023 e junho de 2024. O diagnóstico foi baseado em sinais clínicos típicos, com ou sem secreção vaginal, testes laboratoriais de rotina (hemograma completo, análise bioquímica sérica), presença de um útero anormalmente aumentado no exame ultrassonográfico com conteúdo luminal hipocogênico e estrutura da parede uterina com cistos, superfície irregular e endométrio hipertrófico ou atrófico, característicos de piometra, sendo confirmado durante a ovariectomia e pela cultura bacteriológica do fluido uterino.

Para cada caso, foram registrados a raça e a idade do animal, assim como os resultados dos exames de hemograma e das análises bioquímicas renais e hepáticas. Com o útero retirado, o médico veterinário responsável pela cirurgia coletou, de forma estéril, líquido proveniente da alça uterina com uma seringa de 10 ml utilizando uma agulha 20G, que foi imediatamente enviado ao setor de microbiologia.

As amostras, ao chegarem ao laboratório, foram inoculadas em Ágar Sangue de Cavalão (5% v/v) e Ágar MacConkey, com o objetivo de identificar o Gram e as características físico-químicas das bactérias, de acordo com

seu crescimento nesses meios. Essas placas de cultivo foram incubadas por 24 horas a 37°C. Após esse período, foi realizado esfregaço em lâmina de vidro para avaliação microscópica das colônias, observando características como tamanho, forma e arranjo, além da determinação do Gram, proporcionando melhor compreensão do grupo de bactérias envolvidas na patogenia.

Além dessa avaliação, foram realizados cultivos para armazenamento e antibiograma. Para o armazenamento, utilizou-se caldo infusão cérebro-coração (BHI), no qual um fragmento de uma colônia com 24 horas de crescimento foi inoculado no BHI e incubado por 24 horas a 37°C. Após esse tempo, foi adicionado 0,3 ml de glicerina líquida estéril, sendo a amostra homogeneizada, resfriada por 3 horas e congelada a -5°C.

O antibiograma foi realizado em Ágar Mueller-Hinton, geralmente utilizado para testes de resistência a antimicrobianos pelo método de difusão em disco. As amostras foram cultivadas em Ágar Sangue ou Ágar MacConkey, dependendo do Gram, e incubadas por 24 horas a 37°C. Após isso, utilizou-se o método de suspensão direta das colônias em salina para obter uma densidade equivalente ao padrão de turbidez 0,5 da escala de McFarland. A densidade óptica da suspensão foi conferida em espectrofotômetro.

Para a inoculação, foi utilizado um swab de algodão estéril, mergulhado na suspensão bacteriana, até 20 minutos após o preparo do inóculo. O swab foi pressionado contra as paredes internas do frasco para retirar o excesso de inóculo. A superfície da placa foi inoculada esfregando o swab em toda a superfície do ágar. Este procedimento foi repetido duas vezes, girando a placa aproximadamente 90° cada vez, para assegurar a distribuição uniforme do inóculo. Finalmente, o swab foi passado na margem da placa de ágar.

Foram utilizados 10 antimicrobianos, armazenados em geladeira e congelador conforme as recomendações dos fabricantes e deixados em temperatura ambiente por meia hora antes do uso. Os antimicrobianos utilizados foram: Amoxicilina, Amoxicilina + Ácido Clavulânico, Ampicilina, Cefalexina, Cefazolina, Ceftriaxona, Doxiciclina, Enrofloxacin, Gentamicina e Metronidazol. A aplicação foi feita com uma pinça estéril, e os discos foram pressionados contra a placa para contato completo com a superfície do ágar semeado.

Após 24 horas de incubação, os halos foram medidos com régua e comparados aos diâmetros padronizados pelo CLSI 2023, determinando se cada microrganismo era sensível (S), intermediário (I) ou resistente (R). As informações foram tabeladas para avaliação e comparação.

Para a identificação bacteriana, utilizou-se a metodologia MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight), que é uma técnica analítica que usa um laser para medir a massa de moléculas de uma amostra. A bactéria é colocada em uma matriz que sofre a incidência de um feixe de laser até ocorrer a ionização. O material volatilizado é então aspirado por um sistema que o leva até detectores, que registram o tempo e a quantidade da substância detectada.

### 3. Resultados e Discussão

Os 10 animais incluídos no estudo consistiam em 7 cadelas e 3 gatas, com média de idade de 8 anos, variando entre 2 e 16 anos. As raças foram: Dálmata (n=1), Shih-tzu (n=1), Yorkshire (n=1) e animais SRD (sem raça definida) (n=7). Nos exames laboratoriais, 2 pacientes apresentaram anemia, 50% apresentaram leucocitose neutrofilia com desvio à esquerda, e 50% apresentaram leucocitose por neutrofilia e linfocitose. Na bioquímica, todos os pacientes apresentaram aumento de fosfatase alcalina, variando de 93 a 829,9 UI/L. No exame ultrassonográfico, observou-se útero aumentado com presença de conteúdo líquido luminal. Foram processadas 10 amostras, obtendo-se 10 colônias puras, com 3 Gram-positivas e 7 Gram-negativas. Em todas as amostras isoladas, houve apenas crescimento de colônias puras, sem infecções mistas. Utilizou-se o método MALDI-TOF para identificação, obtendo as seguintes bactérias: 2 amostras de *Escherichia coli*, 2 de *Pseudomonas aeruginosa*, 2 de *Serratia marcescens* e 4 de *Streptococcus canis*. Após realizar os perfis de resistência a

antibióticos, obtiveram-se os seguintes perfis de sensibilidade aos antimicrobianos: 3 amostras apresentaram sensibilidade à Amoxicilina, 4 ao Amoxicilina + Ácido Clavulânico, 3 à Ampicilina, 3 à Cefalexina, 3 à Cefazolina, 5 foram sensíveis e 2 intermediárias à Ceftriaxona, 3 à Doxiciclina, 6 foram sensíveis e 1 intermediária à Enrofloxacin, 5 à Gentamicina e nenhuma foi sensível ao Metronidazol. A maioria das bactérias apresentou resistência a múltiplos antibióticos, com 80% das cepas resistentes a 6 ou mais antibióticos.

**Tabela 1.** Hemograma e Leucograma amostras.

Amostras <sup>1</sup>	Eritrocitos <sup>2</sup>	Hemoglobina <sup>3</sup>	Hematócrito <sup>4</sup>	VCM <sup>5</sup>	CHCM <sup>6</sup>	Leucócitos <sup>7</sup>	Plaquetas <sup>8</sup>
AP1	3,8	8,1	27	71	33	43200	92
AP2	3,86	12,2	34	90	35,1	32500	204
AP3	6,05	13,8	40	65,9	34,6	32800	415
AP4	5,88	13,6	40	66,4	34,8	12500	128
AP5	7,77	12,5	38	48,9	33	28100	230
AP6 <sup>9</sup>	-	-	-	-	-	-	-
AP7	6,7	12,8	38	56,9	33,7	30700	274
AP8	6,4	13,9	41	64,1	33,9	11300	120
AP9	7,14	15,1	46,6	65,3	32,4	2400	106
AP10	6,78	13,4	43	63,4	31,2	4400	480

<sup>1</sup>Amostras analisadas; <sup>2</sup>Valores em x10<sup>6</sup>/μL; <sup>3</sup>Valores em g/dL; <sup>4</sup>Valores em %; <sup>5</sup>Valores em μ3 <sup>6</sup>Valores em %;

<sup>7</sup>Valores em células/μL; <sup>8</sup>Valores em x10<sup>3</sup>/μL; <sup>9</sup>Animal não realizou exames laboratoriais.

**Tabela 2.** Resultado das análises de MALDI-TOF.

Amostra <sup>1</sup>	AP1	AP2	AP3	AP4	AP5
Espécie <sup>2</sup>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus canis</i>
Amostra <sup>1</sup>	AP6	AP7	AP8	AP9	AP10
Espécie <sup>2</sup>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus canis</i>

<sup>1</sup>Amostra isolada

<sup>2</sup>Valores em mg/ml; média ± desvio padrão de 5 animais/grupo.

A piometra é uma doença que representa uma ameaça significativa à vida de cadelas e gatas, com complicações graves como sepse e peritonite (Hagman, 2017; Jitpean et al., 2017). Desta forma, o diagnóstico precoce e a escolha adequada do tratamento são cruciais para a recuperação completa do paciente. A identificação do agente bacteriano causador da piometra não é prática comum, pois o diagnóstico baseia-se em achados clínico-laboratoriais e de imagem (PAIVA, 2020). No entanto, o diagnóstico microbiológico pode fornecer dados epidemiológicos importantes, como o conhecimento dos principais agentes causais e do perfil de sensibilidade a antimicrobianos, auxiliando no manejo clínico da infecção, principalmente na escolha do agente antimicrobiano (Rubio et al., 2014).

Em cães, uma maior proporção de estafilococos isolados de casos recorrentes de piodermite foram resistentes a antimicrobianos do que aqueles isolados de casos iniciais (Holm et al., 2002). Neste estudo, observou-se uma maior proporção de *Streptococcus canis*, representando 40% das amostras encontradas.

A terapia medicamentosa é uma realidade exigida por parte dos tutores, que visam preservar a possibilidade de reprodução do animal., esse tratamento inclui antibióticos combinados com bloqueadores de receptores de progesterona e prostaglandinas (Ros et al., 2014; Contri et al., 2015; Hagman, 2016). A resistência antimicrobiana contribui para falhas terapêuticas, tendo em vista que, mecanismos de resistência são regulados pela expressão de genes específicos, e muitas bactérias clinicamente importantes apresentam resistência a

múltiplos antibióticos, resultado do uso inadequado de antimicrobianos (Boerlin & White, 2013; Thungrat et al., 2015). Com isso, enfatiza a necessidade do conhecimento epidemiológico da sensibilidade a antimicrobianos de cepas veterinárias, otimizando a escolha da droga e melhorando os resultados (Inoue et al., 2012; Fieni et al., 2014; Thungrat, 2015).

**Tabela 3.** Resultado de antibiograma das amostras

Amostras <sup>1</sup>	Amoxicilina	Amoxicilina + Ac. Clavulânico	Ampicilina	Cefalexina	Cefazolina	Ceftriaxona	Doxiciclina	Enrofloxacina	Gentamicina	Metronidazol
AP1	R (0) *	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (28)	R (10)	R (16)	S (20)	R (0)
AP2	S (23)	S (26)	R (0)	S (18)	S (21)	I (22)	R (0)	R (14)	R (0)	R (0)
AP3	R (12)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (8)	I (20)	S (20)	R (0)
AP4	R (0)	R (0)	R (0)	S (16)	R (15)	R (21)	S (26)	S (29)	R (0)	R (0)
AP5	R (0)	R (0)	R (0)	S (20)	R (0)	S (33)	R (14)	S (28)	S (16)	R (0)
AP6	R (11)	S (24)	R (0)	R (0)	R (0)	S (33)	S (21)	R (0)	R (4)	R (0)
AP7	R (11)	S (24)	S (25)	S (17)	S (24)	I (22)	R (11)	S (33)	S (18)	R (0)
AP8	S (20)	R (0)	R (0)	S (20)	R (8)	S (28)	R (0)	S (25)	R (0)	R (0)
AP9	S (21)	S (24)	R (0)	R (0)	S (20)	S (26)	R (0)	S (25)	R (0)	R (0)
AP10	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (20)	S (35)	S (18)	R (0)

<sup>1</sup> -amostra isoladas

\* - medida de Halo de inibição

Das 10 cepas avaliadas, 8 (80%) foram resistentes a 6 ou mais antibióticos, e todas as cepas (100%) apresentaram resistência a 3 ou mais antibióticos, demonstrando elevada resistência dos isolados e um aumento em comparação a outros estudos (Paiva, 2020). Quanto aos principais antimicrobianos utilizados no tratamento de cadelas com piometra, como ceftriaxona, ciprofloxacina, doxiciclina e amoxicilina + clavulanato, foi observada resistência moderada, corroborando com estudos anteriores (Shea, 2011; Fieni et al., 2014; Sperling, 2018). Contudo, o uso indiscriminado desses antimicrobianos tende a aumentar o perfil de resistência das bactérias, diminuindo sua eficácia e criando a necessidade de novas formulações medicinais.

Com isso, podemos observar a importância da ação hormonal e o ambiente uterino para favorecerem a ocorrência da piometra. Terapias hormonais que incluem progesterona ou estrógenos, ditas como vacinas anti-cio, induzem o estro ou a interrupção da gravidez, sendo associadas ao desenvolvimento de piometra em cadelas jovens (Pretzer, 2008; Hagman, 2012; Ferris et al., 2017). Com isso, ressalta-se a importância de criar um ambiente em que os cães e gatos sejam avaliados com maior frequência e ademais, ressaltasse a importância de continuar esse estudo, a fim de aumentar a amostra analisada e promover dados mais fidedignos a amostra observada, produzindo dados estatísticos mais confiáveis.

#### 4. Considerações Finais

Nesse estudo observamos que a piometra é uma patologia que acomete pacientes de todas as idades, muito relacionada ao manejo de tutores com os animais, induções de hormônios variações anatômicas. Essa infecção, quando tratada de forma medicamentosa, necessita de uma atenção ao agente infeccioso, pois o perfil de resistência antibiológica aumentou, em comparação a outros estudos citados nesse trabalho, com isso, tratamentos mais conservadores devem aplicar como rotina o pedido de cultura e antibiograma, para promover a diminuição do risco para o paciente, melhora do prognóstico e por fim, diminuir o erro no uso de antibióticos e o aumento da resistência de a antimicrobianos. Contudo, para uma análise melhor, esse estudo necessita ampliar o número de pacientes avaliados, para assim obter valores estatísticos mais fidedignos.

#### Agradecimentos

O autor desse artigo agrade a Fernando Luiz Tobias e Emy Hiura, orientadores dessa pesquisa, pela mentoria, ajuda e aconselhamentos durante o projeto. Agradeço aos microbiologistas Carolina Magri Ferraz e Gabriel Rossi, pelo auxílio durante o dia a dia da pesquisa. Agradeço ao cirurgião Vinicius Bastos, pelo auxílio nas coletas de amostra e ao excelente atendimento aos pacientes no H.V.U.V.V. Agradeço aos patologistas clínicos Tessy Okuma e Paulo Küster, pelas rápidas análises laboratoriais e ajuda em suas interpretações. Por fim, agradeço as minhas colegas Karoline Marie e Milena Rocha, pelo empenho empregado nessa pesquisa.

#### Referências

- AGOSTINHO, S. D. Antimicrobial resistance in veterinary medicine: a challenge for the next decade. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 5, n. 4, p. 123-130, 2014.
- BOERLIN, P.; WHITE, D. G. Antimicrobial resistance and its epidemiology. In: *Animal Health Research Reviews*. v. 14, n. 1, p. 107-117, 2013.
- CONTRI, A. et al. Canine pyometra: bacteriological, histopathological and immunohistochemical findings in uterus and bacterial culture of abdominal fluids. *Veterinary Microbiology*, v. 177, n. 3-4, p. 346-354, 2015.
- FIAMENGO, T. et al. Pyometra in female dogs: microbiological findings and antimicrobial resistance patterns of the isolated pathogens. *BMC Veterinary Research*, v. 16, n. 1, p. 81, 2020.
- FIENI, F. et al. Canine and feline pyometra: an update on epidemiology, pathophysiology and therapeutic options. *Animal Reproduction Science*, v. 146, n. 3-4, p. 156-166, 2014.
- FERRIS, R. A. et al. Influence of estrous cycle stage, progesterone, and dexamethasone on uterine blood flow in dogs: implications for pyometra development. *Theriogenology*, v. 87, p. 104-110, 2017.
- FRANKLIN, A. et al. Antimicrobial resistance in canine pyometra: identification of trends over two decades. *Veterinary Record*, v. 138, n. 19, p. 457-459, 1996.
- GANDOTRA, V. K. et al. Bacteriology and antibiotic sensitivity patterns of canine pyometra: a clinical study. *Indian Journal of Veterinary Surgery*, v. 15, n. 1, p. 7-9, 1994.
- HAGMAN, R. Canine pyometra: What is new? *Reproduction in Domestic Animals*, v. 47, n. 4, p. 40-46, 2012.
- HAGMAN, R. Canine pyometra: What is new about the pathophysiology and management? *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis*, v. 6, n. 2, p. 1-9, 2016.
- HAGMAN, R. Update on canine pyometra: incidence, pathogenesis, and treatment. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 52, n. 2, p. 45-49, 2017.
- HOLM, B. et al. *Staphylococcus intermedius* resistance in recurrent pyoderma in dogs: 20 years of data. *Veterinary Microbiology*, v. 89, n. 2-3, p. 145-149, 2002.
- INOUE, M. et al. Antimicrobial resistance in veterinary medicine: a focus on the current situation and future goals. *Journal of Animal Science*, v. 90, n. 3, p. 119-123, 2012.
- JITPEAN, S. et al. Effects of anti-inflammatory treatment on the outcome of pyometra in dogs. *Theriogenology*, v. 104, p. 18-23, 2017.
- LEE, W. S. et al. Antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from canine pyometra: a

- retrospective study. *Journal of Small Animal Practice*, v. 41, n. 2, p. 63-66, 2000.
- OLIVEIRA, T. A. et al. Hyperplasia and pyometra in bitches: role of estrogen and progesterone receptors. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 53, n. 4, p. 487-492, 2016.
- PAIVA, D. F. Resistência antimicrobiana em isolados bacterianos de cães com infecções cutâneas e otológicas. 2020. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020.
- PRADHAN, N. R. et al. Microbial spectrum and antibiotic sensitivity pattern in canine pyometra: a comparative study. *Veterinary Research Communications*, v. 23, n. 1, p. 57-63, 1999.
- PRETZER, S. D. Bacterial infections of the reproductive tract in small animals. *Theriogenology*, v. 70, n. 3, p. 397-407, 2008.
- QIAN, W.; HOU, X. Clinical features and surgical treatment of pyometra in dogs: a retrospective study of 182 cases. *Journal of Veterinary Science*, v. 18, n. 1, p. 23-27, 2017.
- RUBIO, M. et al. Identification of bacterial pathogens in canine pyometra by MALDI-TOF mass spectrometry. *Veterinary Microbiology*, v. 170, n. 1-2, p. 183-187, 2014.
- ROS, L. et al. Bacterial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from canine pyometra. *BMC Veterinary Research*, v. 10, n. 1, p. 153, 2014.
- SHEA, A. Bacterial resistance patterns in canine pyometra: implications for empirical antibiotic treatment. *Veterinary Microbiology*, v. 153, n. 1-2, p. 199-203, 2011.
- SPERLING, L. Epidemiologia da resistência antimicrobiana em cães e gatos com piometra. *Veterinary Record*, v. 182, n. 12, p. 349-354, 2018.
- THUNGRAT, K. et al. Antimicrobial resistance in canine bacterial pathogens: current situation and challenges. *Veterinary Microbiology*, v. 171, n. 3-4, p. 343-347, 2015.
- VEIGA, A. P. et al. Pyometra in bitches: relationship between endometrial changes and bacterial agents. *Veterinary Record*, v. 181, n. 22, p. 584-588, 2017.
- WERNICKI, A. et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* strains isolated from dogs with pyometra. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v. 5, n. 4, p. 207-210, 2002.
- YATES, J. A. Antimicrobial susceptibility patterns of aerobic bacteria isolated from canine pyometra. *Journal of Small Animal Practice*, v. 37, n. 11, p. 543-545, 1996.

## Capítulo 10

### “AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO DE UM ANTI-INFLAMATÓRIO NÃO ESTEROIDAL EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A LESÃO RENAL AGUDA TRATADOS COM MOMORDICA CHARANTIA L.”

#### Autores

Guilherme Pina Pinheiro<sup>1</sup>, Débora de Souza Braz<sup>2</sup>, Karla Lirio Soares<sup>3</sup>, Thiago de Melo Costa Pereira<sup>4\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Enfermagem, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Pós-Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>4</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: pereiratmc@gmail.com

Telefone: +55 027 98801-4092

#### Resumo

Este estudo investigou o efeito nefroprotetor do extrato de *Momordica charantia* (MSC) em um modelo experimental de lesão renal aguda induzida por AINEs. Camundongos foram divididos em grupos e tratados com extrato de MSC da Universidade Vila Velha ou MSC industrializado, seguidos da indução de lesão renal. Avaliações incluíram os níveis de ureia e estresse oxidativo. O tratamento com MSC reduziu significativamente os níveis de ureia, indicando um efeito protetor renal, enquanto o MSC industrializado não demonstrou eficácia. O estudo sugere que o extrato de MSC possui propriedades nefroprotetoras, destacando a importância de seus compostos bioativos naturais.

#### Abstract

This study investigated the nephroprotective effect of *Momordica charantia* (MSC) extract in an experimental model of acute kidney injury induced by NSAIDs. Mice were divided into groups and treated with MSC extract from the University of Vila Velha or industrial MSC, followed by induction of kidney injury. Assessments included levels of urea and oxidative stress. Treatment with MSC significantly reduced urea levels, indicating a renal protective effect, while the industrial MSC did not demonstrate efficacy. The study suggests that MSC extract has nephroprotective properties, highlighting the importance of its natural bioactive compounds.

**Palavras-chave:** Estresse oxidativo; renal; extrato vegetal; Anti-inflamatórios

## 1. Introdução

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são amplamente prescritos devido aos seus efeitos anti-inflamatórios, analgésicos e antipiréticos [1]. No entanto, o uso prolongado ou indiscriminado pode causar efeitos colaterais, incluindo complicações gastrointestinais, cardiovasculares, hepáticas e renais [2,3]. Os AINEs atuam inibindo a enzima ciclo-oxigenase (COX), responsável pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas (PGs) [26]. Nos rins, as PGs desempenham papel essencial na regulação do fluxo sanguíneo renal, principalmente por meio da manutenção da vasodilatação das arteríolas aferentes, o que permite uma perfusão renal adequada, além de manter a taxa de filtração glomerular (TFG) [29].

A inibição da síntese de prostaglandinas pelos AINEs interfere na homeostase renal, resultando em vasoconstrição renal, aumento da resistência vascular renal, redução da perfusão renal e da taxa de filtração glomerular [4]. Esses efeitos fisiopatológicos podem levar ao desenvolvimento de lesão renal aguda (LRA), uma condição caracterizada por uma rápida disfunção renal, com acúmulo de produtos nitrogenados no sangue, como ureia e creatinina [5]. Além disso, a nefrotoxicidade induzida pelos AINEs está associada ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS), cujo acúmulo pode desencadear estresse oxidativo, ativar processos inflamatórios, e induzir danos celulares que levam a apoptose e necrose [36]. Esses eventos podem levar ao desenvolvimento da LRA, além de contribuir a progressão para doença renal crônica (DRC) [5]. Em condições de comprometimento da função renal, como em comorbidades que interferem na homeostase renal e aumentam o estresse oxidativo, incluindo a hipertensão arterial, insuficiência cardíaca, cirrose hepática, o dano renal pode ser ainda mais grave [37].

Desta forma, é importante destacar grupos populacionais que são mais vulneráveis a esses efeitos. Indivíduos idosos, recém-nascidos, e pacientes que apresentam comorbidades como hipertensão arterial sistêmica, doenças renais pré-existentes, ou que fazem uso concomitante de medicamentos nefrotóxicos estão em maior risco de desenvolver lesão renal aguda [6,7]. Nesses grupos, o comprometimento renal pode ser preexistente devido a condições patológicas que afetam a hemodinâmica renal, podendo exacerbar os efeitos causados pelos AINEs [38, 39]. Portanto, o uso de AINEs nesses pacientes deve ser cuidadosamente monitorado, com uma avaliação rigorosa dos benefícios e riscos envolvidos para evitar o desenvolvimento de complicações renais.

Considerando esses desafios, é relevante investigar alternativas para mitigar a LRA. Extratos vegetais têm sido amplamente utilizados no tratamento e prevenção de diversas doenças, incluindo cardiovasculares, neuromusculares, respiratórias, hepáticas e renais [9, 10, 11]. A *Momordica charantia*, (MSC), membro da família Cucurbitaceae, é cultivada amplamente em países tropicais e contém diversos compostos bioativos, principalmente flavonoides e alcaloides [12,13]. Esses componentes contribuem para a neutralização de ROS, reduzindo o estresse oxidativo protegendo as células de danos, além de modular respostas inflamatórias [14,40]. Estudos têm explorado os efeitos da MSC em diversas condições patológicas, evidenciando suas propriedades anti-inflamatórias, hepatoprotetores, antidiabéticos [15,41] Dessa forma, é válida a investigação do efeito nefroprotetor do extrato de MSC como possível alternativa para a prevenção da LRA em modelo experimental induzida por AINEs.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Preparo do extrato *Momordica charantia*

Para preparar o extrato de *Momordica charantia*, as partes aéreas da planta foram coletadas em Vila Velha, Espírito Santo. Inicialmente, o material vegetal foi submetido a um processo de secagem em estufa com circulação de ar controlada a 45°C, por um período de 24 horas. Após a secagem, a planta foi moída utilizando um moinho de facas para obter um pó fino. O extrato foi então preparado utilizando-se água destilada em uma proporção de 10% da planta seca em relação ao volume de solvente (etanol). A extração foi realizada sob aquecimento, levando a solução à temperatura de ebulição do solvente por 5 minutos. Após esse tempo, o aquecimento foi interrompido, e a solução foi deixada em repouso até alcançar a temperatura ambiente. A etapa

seguinte consistiu em filtrar a solução para separar o líquido dos resíduos vegetais. Em seguida, a fração orgânica do material passará por rota evaporador (Fisatom® 802 – 1200W) até remoção total do solvente.

## 2.2. Animais

Neste trabalho, utilizou-se 20 camundongos Swiss machos, pesando entre 30-45g, provenientes do Biotério da Universidade Vila Velha (UVV). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da UVV (CEUA UVV: N° 635/2022). Os procedimentos realizados estão alinhados com as normas vigentes estabelecidas pelo Comitê e os procedimentos experimentais nos animais foram realizados de acordo com as diretrizes de cuidado, os camundongos foram mantidos sob constante temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), com ciclos de 12h claro/escuro e com acesso irrestrito a comida e água.

Os animais foram distribuídos em quatro grupos (N=5): Grupo Controle Negativo (CON), no qual receberam 0,2 mL de solução salina; Grupo Nefropatia induzida (NI), no qual receberam 0,2 mL de solução salina e posterior indução de lesão renal aguda (LRA); Grupo MSC200, no qual receberam 200 mg/kg do extrato de MSC e posterior indução de LRA; Grupo MSC IND, no qual receberam 200 mg/kg de MSC industrializado e posterior indução de LRA. Todos os animais foram tratados durante 5 dias por via oral. Para induzir a LRA, utilizamos um modelo validado previamente na literatura, com modificações [23]. Após o 5º dia de tratamento, os animais foram submetidos a jejum de água durante 16 horas. Em seguida, em todos os grupos, exceto o grupo CON, foram administrados por gavagem 300 mg/kg de diclofenaco de sódio. Após 24 horas, os grupos experimentais foram eutanasiados (Tiopental sódico 150 mg/kg i.p), o sangue foi coletado por punção intracárdica no ventrículo direito e transferido para tubos de poliestireno contendo anticoagulante EDTA (0,33 mol/mL). Em seguida, o sangue foi centrifugado (4.000 g por 10 minutos), o plasma foi coletado e armazenado em Ultrafreezer  $-80^\circ\text{C}$  para posterior análise dos parâmetros de ureia e creatinina, de acordo com instruções do kit (Gold Analisa). Além disso, o plasma foi utilizado para avaliação de estresse oxidativo, por meio da quantificação de produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

## 2.3. Produtos Proteicos de Oxidação de Proteínas

O principal mecanismo de formação dos Produtos Proteicos de Oxidação Avançada (AOPP) ocorre através do ácido hipocloroso (HOCl) produzido pela enzima mieloperoxidase (MPO). Esse processo reflete a ação do estresse oxidativo sobre as proteínas e aminoácidos. Para o ensaio, foi diluído 15µL da amostra (1:10) em PBS (1:5), em seguida, foi adicionado 10 µL de 1,16 mol/L iodeto de potássio (KI) e 160µL de ácido cítrico em microplaca de 96 poços e a leitura foi realizada a 340nm utilizando um espectrofotômetro (Spectra-MAX-190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Este parâmetro foi quantificado como µmol/mg de proteína e a quantificação de proteínas totais foi realizada pelo método de Bradford [19,21,22].

## 2.4. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

A peroxidação lipídica no plasma foi quantificada por meio da reação de seus produtos com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Para tal, foram utilizados 43 µL de amostra de plasma, os quais reagiu com 77 µL de ácido perclórico a 7% em tubos de poliestireno. As amostras foram então submetidas à centrifugação por 10 minutos a 3.500 rpm. Após esse processo, 94 µL do sobrenadante foram transferidos para um novo tubo de poliestireno, seguido pela adição de 106 µL de TBA a 0,06%. A solução foi homogeneizada utilizando-se um vórtex e posteriormente incubada em banho-maria por 1 hora a  $95^\circ\text{C}$ . Após o período de incubação, as amostras foram pipetadas em uma placa de 96 poços, e a absorbância foi medida utilizando um leitor de ELISA (Spectra-Mas-190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA) a 532 nm. A quantificação da peroxidação lipídica foi realizada com base em uma curva padrão estabelecida utilizando malondialdeído (MDA), o principal produto da degradação de ácidos graxos

polinsaturados, e normalizada pela quantificação de proteínas totais, conforme determinado pelo método de Bradford [19,20].

### 2.5. Ensaio Cometa Alcalino

O ensaio cometa alcalino é uma técnica sensível para detectar danos ao DNA em células individuais, o protocolo foi realizado de acordo com [24]. A preparação das lâminas envolveu cobrir lâminas de microscopia com agarose de ponto de fusão normal (NMA) a 1,5%, secar à temperatura ambiente por 24 horas e armazenar a 4°C. Para a aplicação das células, aproximadamente  $2 \times 10^4$  células foram diluídas com 110  $\mu\text{L}$  de agarose de baixo ponto de fusão (LMA) a 1% em PBS a 37°C, espalhadas sobre as lâminas, cobertas com lamínulas e resfriadas a 4°C por 30 minutos. A lise das células foi realizada cobrindo as lâminas em uma solução de lise contendo NaCl, EDTA, Tris, Triton X-100 e DMSO a 4°C por 1 hora, protegidas da luz, para romper as membranas celulares. Após a lise, as lâminas foram lavadas e transferidas para uma cuba de eletroforese com tampão alcalino (NaOH e EDTA) a 4°C, onde permaneceram por 40 minutos, seguidas de 20 minutos de eletroforese a 32V e 300mA. Em seguida, as lâminas foram neutralizadas, lavadas, secas e fixadas em álcool metílico, sendo coradas com brometo de etídio (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) no momento da análise. A análise foi feita em microscópio de fluorescência com câmera CCD e software CASP, avaliando a porcentagem de DNA na cauda e o comprimento da cauda.

### 2.6. Justificativa Para A Mudança do Método

O ensaio cometa alcalino foi inicialmente escolhido para analisar o dano renal ocasionado pelos AINEs e a possível proteção do extrato vegetal em lesões no DNA. No entanto, o experimento falhou devido à dificuldade no processo de lise de células, impossibilitando resultados confiáveis. Para contornar essa limitação, foram realizados os ensaios de Produtos Proteicos de Oxidação Avançada (AOPP) e Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), que fornecem uma avaliação eficaz do estresse oxidativo em danos celulares.

### 2.7. Análises Estatísticas

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média). A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) uma via, seguido do teste post hoc de Tukey, usando o software Prisma (Prism 9.0, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA). As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Resultados

#### 3.1.1. Níveis de Ureia

A indução da lesão renal aguda por anti-inflamatório não esteroideal foi confirmada pelo aumento de produtos nitrogenados no grupo NI ( $102,6 \pm 8,5$  mg/dL,  $p < 0,05$ ), em comparação ao grupo CON ( $52,75 \pm 4,1$  mg/dL) conforme Figura 1. A administração de 200mg de Momordica foi capaz de reduzir os níveis de ureia quando comparado ao grupo NI ( $72,2 \pm 0,9$  mg/dL,  $p < 0,05$ ). Em contraste, o grupo MSC IND não apresentou diferenças em relação ao grupo NI ( $101 \pm 9,3$  mg/dL,  $p < 0,05$ ). Além disso, o grupo MSC IND demonstra um aumento de 40,13% em relação ao grupo MSC. Esses dados sugerem efeito protetor eficaz do extrato de Momordica, não evidenciando resultados positivos em relação ao produto industrializado.

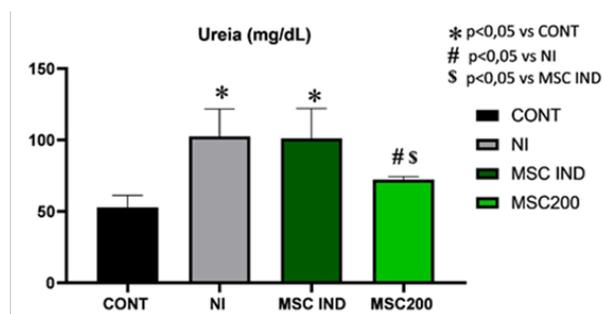


Figura 1. Ureia (mg/dL). Quantificação de níveis de ureia plasmática nos grupos experimentais. Os valores são expressos como média ± EPM \*p<0,05 vs CONT, # p<0,05 vs NI, \$ p<0,05 vs MSC IND. (ANOVA uma via, seguida de post-hoc de Tukey).

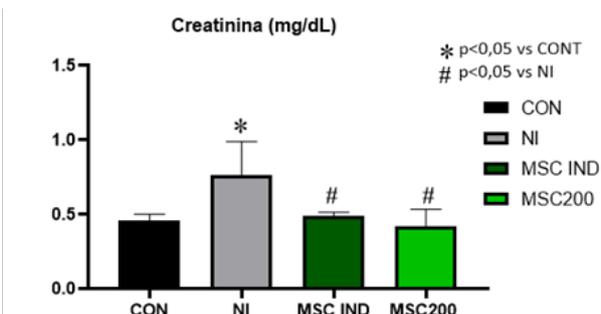


Figura 2. Creatinina (mg/dL). Quantificação de níveis de creatinina plasmática nos grupos experimentais. Os valores são expressos como média ± EPM. \*p<0,05 vs CONT, #p<0,05 vs NI. (ANOVA uma via, seguida de post-hoc de Tukey).

### 3.1.2. Níveis de Creatinina

A creatinina sérica é outro marcador importante para a avaliação da função renal, que demonstra a capacidade de filtração glomerular. Os dados obtidos indicam um aumento dos níveis de creatinina no grupo NI em comparação ao grupo controle ( $0,76 \pm 0,1$  mg/dL e  $0,46 \pm 0,01$  mg/dL,  $p<0,05$  respectivamente), conforme demonstrado na Figura 2. A administração do extrato de 200mg de Momordica e o MSC IND resultou na redução dos níveis de creatinina quando comparados ao grupo NI ( $0,42 \pm 0,05$  mg/dL e  $0,49 \pm 0,01$  mg/dL,  $p<0,05$ ). No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos tratados com MSC IND e o MSC200.

### 3.1.3. Produtos Proteicos de Oxidação de Proteínas

Em relação à oxidação de proteínas, observou-se um aumento significativo no grupo NI ( $20,83 \pm 3,75$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p<0,05$ ) em comparação ao grupo controle ( $13,55 \pm 2,90$   $\mu\text{mol/L}$  de proteína) conforme demonstrado na Figura 3. Entre os grupos tratados o MSC IND demonstrou aumentos nos níveis de oxidação de proteínas ( $19,39 \pm 0,51$   $\mu\text{mol/L}$  de proteína), quando comparado ao grupo MSC200 ( $10,66 \pm 2,14$   $\mu\text{mol/L}$  de proteína), além disso, não apresenta diferenças significativas em relação ao grupo NI.

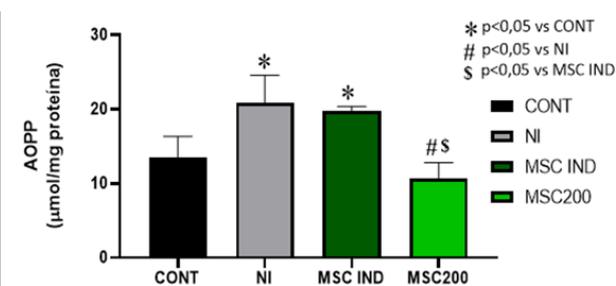


Figura 3. AOPP ( $\mu\text{mol/mg}$ ). Quantificação de níveis de produtos de oxidação de proteínas avançados (AOPP) nos grupos experimentais. Os valores são expressos como média ± EPM. \*p<0,05 vs CONT, #p<0,05 vs NI, \$p<0,05 vs MSC IND. (ANOVA uma via, seguida de post-hoc de Tukey).

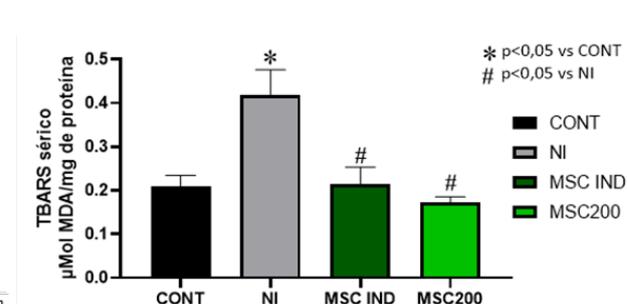


Figura 4. TBARS ( $\mu\text{mol/mg}$ ). Quantificação de níveis de produtos de peroxidação lipídica (TBARS) nos grupos experimentais. Os valores são expressos como média ± EPM. \*p<0,05 vs CONT, #p<0,05 vs NI, \$p<0,05 vs MSC IND. (ANOVA uma via, seguida de post-hoc de Tukey).

### 3.1.4. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

Os valores relacionados à peroxidação lipídica, foram significativamente elevados no grupo NI, indicando um aumento do estresse oxidativo em comparação com o grupo controle ( $0,41 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$  e  $0,21 \pm 0,01 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,05$  respectivamente), evidenciado pela Figura 4. Em contraste, os grupos tratados com MSC IND ( $0,21 \pm 0,01 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,05$ ) e MSC200 ( $0,17 \pm 0,01 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,05$ ), não apresentaram diferença em relação ao grupo CON ( $p > 0,05$ ), mas demonstraram diferença quando comparado ao grupo nefropatia induzida ( $p < 0,05$ ). Além disso, não foram observadas diferenças entre os grupos tratados com a Momordica.

## 3.2. Discussão

Este estudo apresenta, pela primeira vez, uma comparação do efeito do extrato de Momordica charantia produzido em laboratório e produzido em indústria sob modelo experimental in vivo de lesão renal aguda por AINEs. Os resultados obtidos demonstram que a administração de 200mg extrato MSC produzido em laboratório durante 5 dias exerce efeitos nefropotetores, evidenciados pela redução de biomarcadores de função renal e de estresse oxidativo. A análise comparativa revela que o extrato produzido em laboratório apresenta eficácia superior em relação ao extrato industrializado.

A indução da LRA por meio da administração de diclofenaco sódico é um modelo bem estabelecido para estudos de nefrotoxicidade, e os dados deste estudo corroboram a eficácia desse modelo experimental [23]. O uso frequente desses medicamentos está frequentemente associado ao desenvolvimento de lesões renais, que ocorre devido ao mecanismo desses fármacos [5]. O diclofenaco de sódio, por exemplo, é o AINE mais prescrito em todo o mundo, pode levar a LRA por meio da inibição da síntese de prostaglandinas renais importantes para a manutenção da perfusão renal e da filtração glomerular [25, 26]. A redução dessas prostaglandinas leva a vasoconstrição, resultando na redução da filtração glomerular e aumento dos níveis de produtos nitrogenados no sangue [5, 29].

As alterações nos marcadores de função renal evidenciam um aumento significativo nos níveis séricos de ureia e creatinina [27]. Nossos dados demonstram um aumento significativo desses marcadores no grupo NI, o que confirma a presença de lesão renal aguda. Paralelo a isso, a administração do extrato de Momordica resultou em uma redução dos níveis de ureia e creatinina, evidenciando um efeito nefroprotetor. No entanto, os níveis desses biomarcadores no grupo tratado com o extrato industrializado mantiveram-se próximo aos níveis observados no grupo de nefropatia induzida, indicando uma eficácia inferior em comparação ao extrato produzido em laboratório.

Uma possível hipótese para essa diferença é a variação na qualidade e na concentração dos compostos entre os dois tipos de extratos, que pode influenciar a eficácia do tratamento. O método de extração utilizado exerce papel determinante nesse processo, uma vez que diferentes técnicas podem gerar variações significativas nas concentrações dos compostos bioativos obtidos. Com isso, o extrato produzido em laboratório pode conter uma maior concentração de constituintes ou apresentar uma composição mais estável e purificada, resultando em melhores efeitos terapêuticos e maior proteção renal. Estudos de Tehseen, I e colaboradores (2022), evidenciam a eficácia nefroprotetora em modelo experimental de nefropatia diabética, apoiando os resultados obtidos nesse estudo [28].

A nefrotoxicidade associada a essa classe de medicamentos é frequentemente acompanhada por um aumento nas espécies reativas de oxigênio (ROS), o que resulta em um desequilíbrio entre a produção de antioxidantes e a geração de ROS, levando ao estresse oxidativo [29]. Devido à sua alta reatividade, as ROS podem interagir com macromoléculas como proteínas e lipídios, causando danos significativos às células e tecidos renais [30]. Diversos estudos evidenciam o potencial nefroprotetor de extratos vegetais, particularmente devido aos seus compostos antioxidantes, que são capazes de neutralizar o excesso de ROS e reestabelecer o equilíbrio [31,32,33]. Nossos dados demonstram que o grupo tratado com o extrato produzido em laboratório pode reduzir

os níveis de peroxidação lipídica e oxidação de proteínas, sugerindo maior eficácia na neutralização de espécies reativas de oxigênio, contribuindo para maior proteção renal. A literatura aponta que os triterpenoides, flavonoides e polifenóis presentes no extrato de *Momordica* desempenham papel importante na modulação das vias inflamatórias e antioxidantes [34, 35]. Esses compostos podem reduzir o dano renal e o estresse oxidativo, o que corrobora com a eficácia encontrada em nossos resultados.

Com base nos resultados encontrados em nosso estudo, o extrato de *Momordica* charantia produzido em laboratório apresenta eficácia superior na redução de produtos nitrogenados (ureia e creatinina) e estresse oxidativo. Portanto, o uso de MSC pode representar uma abordagem promissora na prevenção do desenvolvimento de lesão renal aguda. No entanto, são necessários estudos adicionais para confirmar nossos achados e esclarecer mecanismos subjacentes aos efeitos observados.

#### 4. Conclusões

Diante dos resultados obtidos, nosso estudo evidencia uma comparação entre o extrato de *Momordica* charantia., produzido em laboratório e em indústria como tratamento para a prevenção de lesão renal aguda induzida por anti-inflamatórios não esteroidais. Os dados indicam que o extrato produzido em laboratório apresenta uma eficácia superior nos parâmetros de análise renal e sistêmica, demonstrando uma redução significativa nos níveis de produtos nitrogenados, peroxidação lipídica e oxidação de proteínas. Esses resultados sugerem que o extrato produzido em laboratório é mais eficaz na prevenção da nefrotoxicidade associada a essa classe de medicamentos, possivelmente devido aos mecanismos antioxidantes presentes em seus compostos bioativos.

#### Agradecimentos

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio financeiro, à Universidade Vila Velha (UVV) e ao Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Translacional pela infraestrutura fornecida. Agradeço também à mestranda Débora de Souza Braz pelo auxílio técnico essencial, ao meu orientador Thiago de Melo Costa Pereira pela orientação e suporte, à pós-doutoranda Karla Lírio Soares e à mestranda Talita Carvalho de Oliveira pelas contribuições valiosas. Agradeço também à professora Bianca Campagnaro pela assistência e colaboração ao longo deste trabalho.

#### Referências

- SANDOVAL, A. C. et al. O uso indiscriminado dos Anti-Inflamatórios Não Esteroidais (AINES). *Revista Científica FAEMA*, v. 8, n. 2, p. 165, 15 dez. 2017.
- AOYAMA, E. de A.; DELMÃO, F. M. Anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) mais vendidos em farmácias comunitárias: revisão de literatura. *Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde*, 26 jun. 2021.
- BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 94, n. 4, p. 556–563, abr. 2010.
- VILLALVA, A. S. G. et al. Anti-inflamatorios no esteroidales (AINES) causa de falla renal. *RECIMUNDO: Revista Científica de la Investigación y el Conocimiento*, v. 3, n. Extra 3 (ESP), p. 548–572, 2019.
- LUCAS, G. N. C. et al. Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Brazilian Journal of Nephrology*, v. 41, n. 1, p. 124–130, mar. 2019.
- PASSIGATTI, C. P.; MOLINA, M. D. C.; CADE, N. V. Alteração de taxa de filtração glomerular em pacientes hipertensos do município de Vitória-ES. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 67, n. 4, p. 543–549, ago. 2014.
- Wehling M. Non-steroidal anti-inflammatory drugs use in chronic pain conditions with special emphasis on the elderly and patients with relevant comorbidities: management and mitigativo of risks and adverse effects. *Eur J Clin Pharmacol* 2014;70:1159-72.

- Zhang X, Donnan PT, Bell S, Guthrie B. Non-steroidal anti-inflammatory drug induced acute kidney injury in the community dwelling general population and people with chronic kidney disease: systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol* 2017;18:256.
- DINAN, L. et al. 20-Hydroxyecdysone, from Plant Extracts to Clinical Use: Therapeutic Potential for the Treatment of Neuromuscular, Cardio-Metabolic and Respiratory Diseases. *Biomedicines*, v. 9, n. 5, p. 492, 29 abr. 2021.
- SUGUMAR, M.; DOSS, D. VICTOR. A.; MADDISETTY, P. N. P. Hepato-renal protective effects of hydroethanolic extract of *Senna alata* on enzymatic and nonenzymatic antioxidant systems in streptozotocin induced diabetic rats. *Integrative Medicine Research*, v. 5, n. 4, p. 276–283, dez. 2016.
- KENDLER, B. S. Garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*): A review of their relationship to cardiovascular disease. *Preventive Medicine*, v. 16, n. 5, p. 670–685, set. 1987.
- CHEN, J. et al. Trinorcucurbitane and cucurbitane triterpenoids from the roots of *Momordica charantia*. *Phytochemistry*, v. 69, n. 4, p. 1043–1048, fev. 2008.
- ZHAO, G. T. et al. Triterpenóides do tipo cucurbitano dos caules e folhas de *Momordica charantia*. *Fitoterapia*, v. 95, p. 75-82, 2014.
- CHANG, C. I. et al. Triterpenóides do tipo cucurbitano das hastes de *Momordica charantia*. *Journal of Natural Products*, v. 71, p. 1327-1330, 2008.
- OFFOR, U. et al. Nephrotoxicity and highly active antiretroviral therapy: Mitigating action of *Momordica charantia*. *Toxicology Reports*, v. 5, p. 1153–1160, 2018.
- GYURÁSZOVÁ, M. et al. Oxidative Stress in the Pathophysiology of Kidney Disease: Implications for Noninvasive Monitoring and Identification of Biomarkers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2020, p. 1–11, 28 jan. 2020.
- GYURÁSZOVÁ, M. et al. Oxidative Stress in Animal Models of Acute and Chronic Renal Failure. *Disease Markers*, v. 2019, p. 1–10, 11 fev. 2019.
- Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996 May;49(5):1304-13. doi: 10.1038/ki.1996.186. PMID: 8731095.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248-254, 1976
- SPIRLANDELI, A. L.; DEMINICE, R.; JORDAO, A. A. Plasma Malondialdehyde as Biomarker of Lipid Peroxidation: Effects of Acute Exercise. *International Journal of Sports Medicine*, v. 35, n. 1, p. 14-18, Jan 2014.
- WITKOSARSAT, V. et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International*, v. 49, n. 5, p. 1304-1313, May 1996.
- HANASAND, M. et al. Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. *Clinica Chimica Acta*, v. 413, n. 9-10, p. 901-906, May 2012.
- FATTORI V, BORGHI SM, GUAZELLI CFS, et al. Vinpocetine reduces diclofenac-induced acute kidney injury through inhibition of oxidative stress, apoptosis, cytokine production, and NF-κB activation in mice. *Pharmacol Res.* 2017;120:10-22. doi:10.1016/j.phrs.2016.12.039
- CAMPAGNARO, B. P. et al. Renovascular Hypertension Leads to DNA Damage and Apoptosis in Bone Marrow Cells. *DNA and Cell Biology*, v. 32, n. 8, p. 458-466, Aug 2013.
- ALFARO, R. A.; DAVIS, D. D. Diclofenaco. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023
- GHILCHLOO, I.; GERRIETS, V. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs). In: (Ed.). *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Mai.
- MIRANDA, G. M. et al. Inclusion Complexes of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs with Cyclodextrins: A Systematic Review. In: *Biomolecules*. 2021 Feb. v. 11, n. 3, p. 361. doi: 10.3390/biom11030361.
- GALESIC, K. et al. Minimal change disease and acute tubular necrosis caused by diclofenac. *Nephrology (Carlton)*, v. 13, p. 87-88, 2008.
- BINDU S, MAZUMDER S, BANDYOPADHYAY U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Psychiatry Research*, v. 14(4), n. January, p. 293, 2020.

LENNICKE C, COCHEMÉ HM. Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Molecular Cell*, v. 81, n. 18, p. 3691– 3707, 2021.

DE SOUZA SANTOS, V. et al. Silymarin protects against radiocontrast-induced nephropathy in mice. *Life Sciences*, v. 228, p. 305-315, 2016.

BÔA, I. S. et al. Resin from *Virola oleifera* protects against radiocontrast-induced nephropathy in mice. *PLoS One*, v. 10, n. 12, 2015.

CAI, Y. et al. Role of curcumin in the treatment of acute kidney injury: research challenges and opportunities. *Phytomedicine*, v. 104, p. 154306, 2022.

JIA, S. et al. Recent advances in *Momordica charantia*: Functional components and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 12, p. 2555, 2017.

PERUMAL, V. et al. Antioxidants profile of *Momordica charantia* fruit extract analyzed using LC-MS-QTOF-based metabolomics. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, v. 2021.

RASHID, H. et al. Molecular mechanisms of oxidative stress in acute kidney injury: targeting the loci by resveratrol. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 1, p. 3, jan. 2023.

PICKKERS, P. et al. Acute kidney injury in the critically ill: an updated review on pathophysiology and management. *Intensive Care Medicine*, v. 47, n. 8, p. 835-850, ago. 2021.

RUIZ-HURTADO, P. A. et al. Propolis and its gastroprotective effects on NSAID-induced gastric ulcer disease: a systematic review. *Nutrients*, v. 13, n. 9, p. 3169, set. 2021.

MODIG, S.; ELMSTÅHL, S. Kidney function and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs among elderly people: a cross-sectional study on potential hazards for an at risk population. *International Journal of Clinical Pharmacy*, v. 40, n. 4, p. 870–877, jul. 2018.

DIAS, M. C.; PINTO, D. C. G. A.; SILVA, A. M. S. Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 26, n. 17, p. 5377, set. 2021.

JIA, S. et al. Recent advances in *Momordica charantia*: Functional components and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 12, p. 2555, 2017. doi:10.3390/ijms18122555

## Capítulo 11

# “ADOÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE ALIMENTOS EM RESIDÊNCIAS FAMILIARES BRASILEIRAS”

### Autores

Gustavo Guimarães Fernandes Viana<sup>1</sup>, Gabriel Augusto Marques Rossi<sup>2\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: gabriel.rossi@uvv.br

Telefone: +55 14 99796-4621

### Resumo

A contaminação de alimentos pode ocorrer em várias etapas da cadeia alimentar, incluindo as residências. Esse estudo objetivou avaliar os hábitos da população brasileira na manipulação domiciliar de alimentos por meio de um questionário digital, sendo respondido por 1050 pessoas. Apenas 32 (3%) utilizam termômetro para checar o cozimento das carnes, 682 (65%) utilizam a mesma tábua para carnes e legumes, 553 (52,7%) lavam os vegetais apenas com água e 388 (37%) conferem a temperatura das geladeiras. O estudo evidencia a necessidade de educação sanitária para reduzir o risco de ocorrência de surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar.

### Abstract

Food contamination can occur at various stages of the food chain, including in households. This study aimed to assess the habits of the Brazilian population in the home handling of food through a digital questionnaire answered by 1,050 people. Only 32 (3%) use a thermometer to check the cooking of meats, 682 (65%) use the same cutting board for meats and vegetables, 553 (52.7%) wash vegetables only with water, and 388 (37%) check the temperature of their refrigerators. The study highlights the need for sanitary education to reduce the risk of outbreaks of waterborne and foodborne diseases.

**Palavras-chave:** Consumidores; Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar; Hábitos alimentares

## 1. Introdução

As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) representam um dos problemas de saúde pública mais importantes no mundo, sendo uma das principais causas de mortes e gastos econômicos evitáveis (WHO, 2015). Entre 2013 e 2022, ocorreram 6.523 surtos notificados no Brasil, sendo 35,1% deles dentro de residências (Brasil, 2023). Contudo, é provável que esses dados estejam subnotificados, uma vez que os sintomas geralmente são leves, resultando na ausência de busca por atendimento médico por grande parte da população acometida. Além disso, a diversidade e a inespecificidade dos sintomas dificultam a detecção e notificação das DTHA (Greig e Ravel, 2009).

A ocorrência de surtos de DTHA em residências mostra um grave problema relacionado à falta de educação sanitária e de conhecimento sobre o preparo e armazenamento adequado dos alimentos pela população (Jahan, 2012). Esses surtos domiciliares tendem a receber menos atenção, uma vez que envolvem um número menor de pessoas em comparação com surtos em restaurantes e serviços de alimentação. Isso contribui para a falta de direcionamento em campanhas educativas e de capacitação para esse público (Draeger et al., 2019).

A maior parte dos alimentos consumidos é preparada nas residências, aumentando as oportunidades de erros no manuseio e conservação dos alimentos, e consequente aumento de risco de ocorrência de DTHA nas residências. Diferentemente de estabelecimentos comerciais, as cozinhas domésticas desempenham funções polivalentes, indo além do preparo e armazenamento de alimentos, possibilitando com maior frequência a ocorrência de contaminações cruzadas (Deon et al., 2014).

Assim, esse estudo objetivou avaliar o conhecimento e a aplicação de práticas de manipulação de alimentos em residências familiares brasileiras. A partir dos dados, é possível inferir em quais pontos está ocorrendo as principais falhas e elaborar estratégias de educação e comunicação em saúde, visando à prevenção de DTHA e à promoção da segurança dos alimentos nas residências familiares no Brasil.

## 2. Material e Métodos

Foi aplicado um questionário digital, feito no aplicativo Google Forms. O formulário foi voluntário e enviado por meio de um link gerado no Forms e compartilhado por meio de diversas redes sociais, como Facebook, Instagram, WhatsApp, entre outras. Um panfleto com um QR Code gerando um link para o formulário foi colocado em diversos locais pela Universidade Vila Velha. O número de participantes foi de 1053, porém 3 (0,28%) respondentes não concordaram com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto, não sendo contabilizados na análise dos resultados. Em relação aos outros 1050 respondentes, todos concordaram com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Vila Velha (CEP-UVV) (69770523.9.0000.5064).

O questionário continha tópicos agrupados conforme a seguir: perfil dos respondentes (5 itens); higienização das mãos e sua frequência (2 itens), higienização de alimentos (3 itens), higienização e sua frequência de buchas, panos de prato, pia, secador/escorredor de prato/louças, tábuas de corte, armários e geladeira (8 itens); transporte de alimentos (1 item), temperatura (3 itens); cozimento de alimentos (3 itens); locais de armazenamento de alimentos (3 itens); locais de compra de alimentos (1 item); utensílios utilizados na cozinha (5 itens); descongelamento de carnes (1 item); validade de alimentos (3 itens); experiência com intoxicação alimentar e seus sintomas (2 itens); e origem da água (1 item).

### 3. Resultados e Discussão

O perfil dos respondentes está descrito na Tabela 1.

**Tabela 1.** Perfil dos respondentes da pesquisa em relação a sua faixa etária, sexo biológico, escolaridade e renda familiar mensal.

Faixa etária	Quantidade	Percentual
Menos de 18 anos	1	0.1%
18 a 28 anos	446	42.5%
29 a 39 anos	349	33.2%
40 a 50 anos	162	15.4%
51 a 61 anos	60	5.8%
62 anos ou mais	32	3%
Sexo biológico	Quantidade	Percentual
Feminino	783	74.6%
Masculino	267	25.4%
Escolaridade	Quantidade	Percentual
Ensino fundamental incompleto	1	0.1%
Ensino fundamental completo	4	0.4%
Ensino médio incompleto	5	0.5%
Ensino médio completo	73	7%
Ensino superior incompleto	265	25.2%
Ensino superior completo	330	31.4%
Pós-graduação lato sensu	195	18.6%
Mestrado / Doutorado	177	16.8%
Renda familiar mensal	Quantidade	Percentual
Até 1 salário mínimo	27	2.6%
De 1 a 2 salários mínimos	101	9.6%
De 2 a 5 salários mínimos	314	29.9%
De 5 a 10 salários mínimos	339	32.3%
De 10 a 20 salários mínimos	193	18.4%
Mais de 20 salários mínimos	76	7.2%
Total de participantes	1050	100%

Do total de respondentes, 673 (64,1%) residiam na Região Sudeste, sendo 239 (22,8%) em São Paulo, 233 (22,2%) no Espírito Santo, 115 (11%) no Rio de Janeiro e 85 (8,1%) em Minas Gerais. Um conjunto de 189 indivíduos (18%) viviam na Região Sul, sendo 85 (8,1%) em Paraná, 53 (5%) em Santa Catarina e 51 (4,9%) no Rio Grande do Sul. Um grupo de 103 (9,8%) vivem na região Nordeste, sendo 38 (3,6%) em Pernambuco, 36 (3,4%) na Bahia e os demais distribuídos pelos demais estados dessa região. Ainda, 64 (6,1%) dos respondentes viviam no Centro-Oeste e 21 (2%) na Região Norte.

O formulário atingiu públicos distintos com diversas características, possibilitando uma análise com menores chances de apresentar algum tipo de enfoque para algum perfil específico. Dentre as 41 perguntas presentes no formulário, existem pontos específicos os quais foram mais importantes de destacar nessa pesquisa.

Segundo o Guia Alimentar para a População Brasileira (Brasil, 2014), os vegetais devem ser lavados com água corrente e colocados em um recipiente com água adicionada de hipoclorito de sódio pelo tempo determinado

pelo fabricante do produto. Porém, apenas 317 (30,2%) respondentes adotam esta prática. Os demais 553 (52,7%) lavam os vegetais apenas com água, 167 (15,9%) lava os vegetais com água e desinfetante de vegetais comercial e 13 (1,2%) não lavam de nenhuma forma.

Do total de respondentes, apenas 515 (49%) indicaram utilizar diferentes panos para secar utensílios e talheres e outro para secar as mãos após lavá-las. Chen et al. (2011) demonstraram como panos de prato podem ficar altamente contaminados com diferentes microrganismos. Portanto, quando se utiliza apenas um pano, pode ocorrer propagação de microrganismos para mãos recém limpas e utensílios, sendo um potencial veículo para contaminação cruzada. Além disso, 884 (84,2%) respondentes trocam os panos de prato e toalha de mão apenas semanalmente ou com maior frequência.

Utilizar diferentes espaços para guardar diferentes tipos de alimentos nas geladeiras, como carnes cruas e alimentos prontos para consumo, ajuda a diminuir as chances de contaminação cruzada nas cozinhas (Byrd-Bredbenner et al., 2013). Um total de 473 (45%) dos respondentes guardam seus alimentos em qualquer espaço disponível na geladeira, não havendo separação clara entre as categorias de produtos. Carnes cruas devem ser armazenadas na parte inferior da geladeira, para que não ocorra contato de líquidos provenientes da carne com outros alimentos em prateleiras inferiores. (Shaltout, 2024; Mazengia, 2014). Diferentes carnes cruas também não devem ser colocadas uma ao lado da outra, devendo haver uma separação de espaço maior para diminuir a probabilidade de contaminação cruzada. Alimentos prontos para consumo, como saladas, devem sempre ser armazenados na geladeira separadamente de comidas que passarão por processos de preparo, como a cocção (Kilonzo-Nthenge et al., 2008).

Muitas geladeiras não operam sob temperaturas recomendadas, sendo importante para diminuir principalmente a multiplicação de microrganismos mesófilos, os quais são potencialmente patogênicos (James et al., 2017). Apenas 388 (37%) respondentes conferem a temperatura as quais suas geladeiras estão funcionando. Vegara et al. (2014) demonstraram uma correlação entre aumento da temperatura da geladeira e aumento da quantidade de microrganismos viáveis e enterobactérias. Ademais, somente 400 (38,1%) respondentes limpam por completo a geladeira mensalmente ou com maior frequência. A bactéria *Listeria monocytogenes* já foi identificada em geladeiras, sendo uma bactéria patogênica e psicrófila. Além disso, é produtora de biofilme e tem grande capacidade de aderir em superfícies (Borrusso e Quinlan, 2017). Todos esses fatores indicam a importância da limpeza regular e checagem da temperatura da geladeira nas cozinhas domésticas.

Do total de respondentes, apenas 343 (32,7%) lavam os produtos que vem de supermercados e feiras antes de colocar na geladeira. As embalagens que vem diretamente do ambiente externo até a residência não estão limpas, e colocá-las diretamente na geladeira aumenta a quantidade de sujidades e microrganismos dentro desse equipamento (Macías-Rodríguez et al., 2013).

A maioria das pessoas afere o cozimento da carne apenas pela coloração presente no centro da carne, porém esse método não é um bom indicador (Feng e Bruhn, 2019). Nessa pesquisa, apenas 32 (3%) respondentes checavam com termômetro o cozimento das carnes, e, além disso, 526 (50,1%) respondentes indicam consumir carne mal-passada. O consumo de carne crua ou mal-passada é um dos grandes fatores que contribui para a ocorrência de DTHA (Takeuchi et al., 2005). No estudo feito por Ducrocq et al. (2021), foi demonstrado como pessoas que comem carne mal-passada possuem maiores chances de ter anticorpos contra *Toxoplasma gondii* comparado as pessoas que apenas consomem carne bem passada.

Uma das principais formas de minimizar as chances de ingerir alimentos contaminados com *Salmonella*, é consumir ovos cozidos até a gema ter aspecto mais duro, dessa forma, assegurando que o ovo chegou à temperatura suficiente para destruir a *Salmonella* (Cardoso et al., 2021). Um conjunto de 441 (42%) respondentes consomem ovos crus ou com a gema mole, portanto, se estes ovos consumidos estão contaminados com a bactéria, o cozimento utilizado pelos respondentes pode não ser suficiente para assegurar um ovo seguro para consumo.

Do total de respondentes, 485 (46,2%) possuem lixeira em cima da pia. Kirchner et al. (2022) demonstrou em estudo de desafio que a tampa da lixeira foi uma das superfícies mais contaminadas e responsáveis por contaminação cruzada dentro da cozinha. O fato de a lixeira ter contato direto com embalagens de alimentos crus, mãos e restos de comidas, além de estar em próximo da comida que será preparada, o torna um objeto crítico na transferência de patógenos.

Na revisão de literatura feita por Evans e Redmond (2014), foi demonstrado como o consumo de alimentos que já passaram da data de validade é um dos fatores associados com o aumento do risco de contaminação por *Listeria monocytogenes*. Um total de 309 (29,3%) dos respondentes indicaram consumir alimentos após data de validade indicada no produto. Entre os respondentes, 524 (49,9%) consomem alimentos após a data de validade estabelecida para produtos abertos, uma prática comum especialmente com alimentos lácteos. No entanto, é crucial não ingerir alimentos além desse prazo, pois microrganismos como enterobactérias e *Salmonella* podem ultrapassar os níveis aceitáveis após o vencimento da validade do produto. (Nobile e Conte, 2023).

Não é recomendado lavar nenhum tipo de carne antes de seu cozimento (Kosa et al., 2014). O contato do fluxo rápido da água com a carne contaminada pode fazer patógenos serem espalhados por até 70 centímetros de distância da carne (Carmody et al., 2022). O ato de lavar as carnes cruas não apresenta remoção satisfatória de patógenos, além disso, a carne crua molhada transfere maiores cargas bacterianas para as superfícies as quais vai entrar em contato posteriormente a lavagem em comparação a carne seca (Júnior et al., 2021). Nesse estudo, 233 (22,2%) dos respondentes indicaram lavar pelo menos um tipo de carne antes de cozinhar, sendo que 111 (10,6%) lavam todas as carnes que cozinham.

A transferência de microrganismos de esponjas da cozinha para diferentes superfícies na hora da limpeza foi demonstrada em alguns estudos. As esponjas por serem úmidas e estarem geralmente em temperatura ambiente se tornam um importante meio de manutenção de bactérias (Rossi et al., 2013). *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp são patógenos já detectados em esponjas utilizadas nas cozinhas (Rossi et al., 2012). Dos respondentes, 251 (23,9%) troca semanalmente as esponjas, 449 (42,9%) quinzenalmente e 347 (33%) mensalmente.

Uma quantidade de 970 (92,4%) respondentes relatam lavar a tábua de cortar e utensílios após serem usados quando forem utilizados para outro alimento, porém 682 (65%) utilizam a mesma tábua para preparo/corte de carnes e legumes. Estudos mostram que a maioria das pessoas não lava as tabuas suficientemente para prevenir a contaminação cruzada. Esse fato somado à utilização da mesma tábua para o preparo de diferentes alimentos torna um ponto crucial de transmissão de bactérias e contaminação cruzada (de Jong et al., 2008; Abrishami et al., 1994).

Um conjunto de 605 (57,6%) respondentes indicaram que pelo menos uma vez algum membro da sua residência foi acometido por DTHA, com os principais sintomas relatados sendo vômito diarreia, náusea e dores abdominais. Essa porcentagem é superior às indicadas pelo Ministério de Saúde para a população brasileira, reforçando a ideia de que os números oficiais são uma sub-representação da realidade devido a não busca por atendimento médico e os sintomas mais comuns serem inespecíficos (Brasil, 2023).

#### 4. Conclusões

É possível inferir que existem diversas falhas de Boas Práticas de Manipulação de Alimentos nas cozinhas residenciais brasileiras e que é necessária a realização de educação sanitária à população para reduzir o risco de ocorrência de surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar. A maioria dessas falhas são de fácil correção e a conscientização da população sobre o risco ao qual é exposta pode contribuir para melhorias na Saúde Pública brasileira.

#### Agradecimentos

À Universidade Vila Velha por conceder uma bolsa de iniciação científica para a realização deste estudo e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES).

#### Referências

- ABRISHAMI, S. H.; TALL, B. D.; BRUURSEMA, T. J.; EPSTEIN, P. S.; SHAN, D. B. Bacterial adherence and viability on cutting board surfaces. *Journal of Food Safety*, v. 14, n. 2, p. 153-172, 1994.
- BORRUSO, P. A.; QUINLAN, J. J. Prevalence of pathogens and indicator organisms in home kitchens and correlation with unsafe food handling practices and conditions. *Journal of food protection*, v. 80, n. 4, p. 590-597, 2017
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Básica. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. Disponível em: <[https://bvms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_alimentar\\_populacao\\_brasileira\\_2ed.pdf](https://bvms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf)>. Acesso em 20 de dezembro de 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil - Informe 2023. 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2023>>. Acesso em 20 de dezembro de 2023.
- BYRD-BREDBENNER, C.; BERNING, J.; MARTIN-BIGGERS, J.; QUICK, V. Food safety in home kitchens: a synthesis of the literature. *International journal of environmental research and public health*, v. 10, n. 9, p. 4060-4085, 2013.
- CARDOSO, M. J. et al. Salmonella in eggs: From shopping to consumption—A review providing an evidence-based analysis of risk factors. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 20, n. 3, p. 2716–2741, 1 maio 2021.
- CARMODY, C. D. et al. Chickensplash! Exploring the health concerns of washing raw chicken. *Physics of Fluids*, v. 34, n. 3, p. 031910, mar. 2022.
- CHEN, F.; GODWIN, S. L.; KILONZO-NTHENGE, A. Relationship between cleaning practices and microbiological contamination in domestic kitchens. *Food Protection Trends*, v. 31, n. 11, p. 672-679, 2011.
- DE JONG, A. E. I.; VERHOEFF-BAKKENES, L.; NAUTA, M. J.; DE JONGE, R. Cross-contamination in the kitchen: effect of hygiene measures. *Journal of Applied microbiology*, v. 105, n. 2, p. 615-624, 2008.
- DEON, B. C.; MEDEIROS, L. B.; SACCOL, A. L. F.; HECKTHEUER, L. H.; SACCOL, S.; NAISSINGER, M. Good food preparation practices in households: A review. *Trends in food science & technology*, v. 39, n. 1, p. 40-46, 2014.
- DRAEGER, C. L.; AKUTSU, R. C. C. A.; ZANDONADI, R. P.; DA SILVA, I. C. R.; BOTELHO, R. B. A.; ARAÚJO, W. M. C. Brazilian foodborne disease national survey: Evaluating the landscape after 11 years of implementation to advance research, policy, and practice in public health. *Nutrients*, v. 11, n. 1, p. 40, 2018.
- DUCROCQ, J.; SIMON, A.; LEMIRE, M.; DE SERRES, G.; LÉVESQUE, B.. Exposure to *Toxoplasma gondii* through consumption of raw or undercooked meat: a systematic review and meta-analysis. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 21, n. 1, p. 40-49, 2021.
- EVANS, E. W.; REDMOND, E. C. Behavioral Risk Factors Associated with Listeriosis in the Home: A Review of

- Consumer Food Safety Studies. *Journal of Food Protection*, v. 77, n. 3, p. 510–521, 1 mar. 2014.
- FENG, Y.; BRUHN, C. M. Motivators and barriers to cooking and refrigerator thermometer use among consumers and food workers: A review. *Journal of food protection*, v. 82, n. 1, p. 128-150, 2019.
- GREIG, J. D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. *International journal of food microbiology*, v. 130, n. 2, p. 77-87, 2009.
- JAHAN, S. Epidemiology of foodborne illness. *Scientific, health and social aspects of the food industry*, v. 1, p. 321-342, 2012.
- JAMES, C.; ONARINDE, B. A.; JAMES, S. J. The use and performance of household refrigerators: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 16, n. 1, p. 160-179, 2017.
- KILONZO-NTHENGE, A.; CHEN, F.-C.; GODWIN, S. L. Occurrence of *Listeria* and *Enterobacteriaceae* in Domestic Refrigerators. *Journal of Food Protection*, v. 71, n. 3, p. 608–612, 1 mar. 2008.
- KIRCHNER, M. et al. Cross-Contamination to Surfaces in Consumer Kitchens with MS2 as a Tracer Organism in Ground Turkey Patties. *Journal of Food Protection*, v. 85, n. 11, p. 1594–1603, 1 nov. 2022.
- KOSA, K. M. et al. Consumer-Reported Handling of Raw Poultry Products at Home: Results from a National Survey. *Journal of Food Protection*, v. 78, n. 1, p. 43, 2015.
- MACÍAS-RODRÍGUEZ, M. E. et al. Microbiological safety of domestic refrigerators and the dishcloths used to clean them in Guadalajara, Jalisco, Mexico. *Journal of Food Protection*, v. 76, n. 6, p. 984–990, jun. 2013.
- MAZENGA, E. et al. Direct Observational Study of the Risk of Cross-contamination during Raw Poultry Handling: Practices in Private Homes. *Food Protection Trends*, v. 35, n. 1, 2015.
- NOBILE, D.; CONTE, A. Secondary Shelf Life of Foods: State of the Art and Future Perspective. *Food Engineering Reviews*, v. 15, n. 4, p. 748–762, 3 nov. 2023.
- RIBEIRO JÚNIOR, J. C. et al. Influence of dry and wet beef maturation on the microbiological quality and safety. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 42, n. 1, p. 155–166, 1 jan. 2021.
- ROSSI, E. M.; SCAPIN, D.; GRANDO, W. F.; TONDO, E. C. Microbiological contamination and disinfection procedures of kitchen sponges used in food services. *Food and Nutrition Sciences*, v. 3, n. 7, p. 975-980, 2012.
- ROSSI, E. M.; SCAPIN, D.; TONDO, E. C. Survival and transfer of microorganisms from kitchen sponges to surfaces of stainless steel and polyethylene. *The Journal of Infection in Developing Countries*, v. 7, n. 03, p. 229-234, 2013.
- SHALTOUT, F. A. Ways of Food Contamination, Its Impact and Prevention. *Food Science & Nutrition Technology*, v. 9, n. 1, p. 1–8, 17 jan. 2024.
- TAKEUCHI, M. T.; EDLEFSEN, M.; MCCURDY, S. M.; HILLERS, V. N. Educational intervention enhances consumers' readiness to adopt food thermometer use when cooking small cuts of meat: an application of the Transtheoretical Model. *Journal of Food Protection*, v. 68, n. 9, p. 1874-1883, 2005.
- VEGARA, A.; FESTINO, A. R.; DI CICCIO, P.; COSTANZO, C.; PENNISI, L.; IANIERI, A. The management of the domestic refrigeration: microbiological status and temperature. *British Food Journal*, v. 116, n. 6, p. 1047-1057, 2014.
- World Health Organization. WHO Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2015. Disponível em: <[https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165\\_eng.pdf?sequence=1](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1)>. Acesso em 20 de dezembro de 2023.

## Capítulo 12

### “OS EFEITOS DO PROGRAMA DE REABILITAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA GRUPAL APLICADO EM IDOSOS NÃO-INSTITUCIONALIZADOS COM DÉFICIT COGNITIVO LEVE”

#### Autores

Hannah Almeida Lima<sup>1</sup>, Jucineide Della Valentina De Oliveira Wandekoken<sup>2\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Curso de Psicologia, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Curso de Psicologia, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: jucineide.oliveira@uvv.br

Telefone: +55 27 99974-8018

#### Resumo

O envelhecimento é uma fase natural da vida do ser humano, composto por alterações que acontecem a nível fisiológico, cognitivo e executivo, e que afetam diretamente o funcionamento e a qualidade de vida do idoso. Nesse sentido, a reabilitação neuropsicológica, pode se apresentar como uma excelente ferramenta de intervenção terapêutica, visto que objetiva trabalhar os aspectos emocionais, cognitivos, comportamentais e psicossociais que se encontram em déficit ou lesionados no indivíduo. Além disso, quando realizada em grupo, pode ser enriquecida pelos fenômenos grupais, o que amplia os resultados. Considerando essas informações, o objetivo dessa pesquisa foi identificar os efeitos do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal (PRNG) quando aplicado em idosos entre 65 a 75 anos, não institucionalizados, com déficit cognitivo sem demência. Assim, trata-se de uma pesquisa qualitativa e quantitativa, de abordagem experimental e objetivo exploratório. O estudo permitiu compreender as contribuições da Neuropsicologia Geriátrica no processo de envelhecimento e delineou os possíveis benefícios do PRNG para o público idoso, destacando a importância de se ampliarem os estudos nessa temática.

#### Abstract

Aging is a natural phase of human life, marked by changes at the physiological, cognitive, and executive levels, which directly affect the functioning and quality of life of the elderly. In this context, neuropsychological rehabilitation can be an excellent therapeutic intervention tool, as it aims to address the emotional, cognitive, behavioral, and psychosocial aspects that are impaired or damaged in the individual. Furthermore, when conducted in groups, it can be enriched by group dynamics, which enhances the outcomes. Considering this, the objective of this research was to identify the effects of the Group Neuropsychological Rehabilitation Program (PRNG) when applied to non-institutionalized elderly individuals aged 65 to 75 years, with cognitive impairment but without dementia. This study is both qualitative and quantitative, with an experimental approach and an exploratory objective. The study provided insights into the contributions of Geriatric Neuropsychology to the aging process and outlined the potential benefits of the PRNG for the elderly population, emphasizing the importance of expanding research on this topic.

**Palavras-chave:** Envelhecimento; Neuropsicologia Geriátrica; Reabilitação neuropsicológica grupal.

## 1. Introdução

O processo de envelhecimento humano, segundo a neuropsicologia geriátrica, é caracterizado por uma série de alterações cerebrais e cognitivo-emocionais que ocorrem ao longo da vida do indivíduo. De acordo com pesquisas internacionais, esse processo envolve modificações no cérebro, como a diminuição do volume cerebral e a redução na densidade das sinapses, o que pode impactar funções cognitivas como a memória, velocidade de processamento e funções executivas (Sperling et al., 2015). Além disso, destaca-se que o envelhecimento não é homogêneo e pode ser influenciado por fatores genéticos, ambientais e estilo de vida, resultando em uma ampla gama de experiências e desafios (Oliveira et al., 2018). Dessa forma, entender o envelhecimento através da neuropsicologia envolve reconhecer tais limitações, porém valorizando a continuidade do desenvolvimento e adaptação ao longo da vida, focando nas possibilidades de intervenção a partir disso.

As alterações cognitivas e neurais decorrentes do envelhecimento são multifatoriais, e podem estar relacionadas à fatores como a solidão, idade avançada e pertença ao sexo feminino, baixa escolaridade, profissão prévia, sintomas depressivos e a depressão, doenças neurológicas, surdez e doenças cardiovasculares (Silva et al., 2015). Carvalho e Gonçalves (2020) destacam que essas alterações podem impactar negativamente a qualidade de vida, levando a desafios na adaptação a novas situações e na execução de tarefas diárias e, conseqüentemente, afetando a funcionalidade do idoso.

Há também uma associação direta do envelhecimento com a perda da função cognitiva, constituindo-se com um fator de risco bem estabelecido para as síndromes neurodegenerativas (Foroni e Santos, 2012), dentre elas, as síndromes demenciais, que apresentam maior incidência a partir dos 90 anos. Essas condições são caracterizadas por um agravamento das alterações cognitivas, incluindo déficits acentuados na memória e nas funções executivas (Oliveira et al., 2022). Alguns autores nomeiam essas alterações patológicas por déficit cognitivo leve (Lopez, 2013) outros como déficit cognitivo sem demência, no qual há o funcionamento cognitivo e executivo abaixo do normal para a idade e escolaridade, mas sem reunir os critérios de demência (Silva et al, 2015). Nesse sentido, a presença desses déficits cognitivos leves, como por exemplo a dificuldade na memória episódica e no processamento executivo, podem ser um indicador de doenças neurodegenerativas, o que permite intervenções mais precoces e potencialmente mais eficazes (Pereira et al., 2021).

O Déficit Cognitivo Leve (DCL) é uma condição caracterizada por uma diminuição nas funções cognitivas que vai além do esperado para a idade do indivíduo, mas que não interfere significativamente em suas atividades diárias. Entre as principais alterações neuropsicológicas observadas no DCL estão déficits de memória, principalmente na memória recente, dificuldades na atenção, e comprometimento das funções executivas, como planejamento e organização (Nitrini et al., 2020).

Apesar dessas mudanças, a plasticidade cerebral continua a desempenhar um papel crucial, permitindo a compensação parcial das perdas cognitivas através de estratégias adaptativas e aprendizado contínuo (Ferreira & Oliveira, 2019). De acordo com Konflanz, Costa e Mendes (2017) esse envelhecimento cognitivo patológico, pode ser prevenido ou estabilizado, principalmente ao estimular o cérebro e incentivar a aprendizagem, pois a neuroplasticidade, capacidade de renovação sináptica, compensa as perdas e otimiza o funcionamento das redes cerebrais. A compreensão dessas associações é fundamental para estratégias de diagnóstico e tratamento, enfatizando a importância da detecção precoce e da monitorização contínua dos sintomas cognitivos ao longo do envelhecimento.

Considerando tais informações, os estudos realizados dentro do campo da Neuropsicologia Geriátrica, documentam os efeitos relevantes e duradouros que os programas de reabilitação neuropsicológica, treino no funcionamento cognitivo e o envolvimento em atividades de estimulação continuada, podem oferecer mesmo em idades avançadas (Silva et al, 2015).

Sob essa perspectiva, emerge o Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal (PRNG), se caracterizando como uma abordagem terapêutica que visa a melhoria das funções cognitivas e a qualidade de vida de indivíduos com déficits neuropsicológicos por meio de intervenções coletivas. Por englobar técnicas de reabilitação neuropsicológica e treino cognitivo, pode ampliar os efeitos desse tipo de intervenção, já que proporciona não somente a estabilização das funções cognitivas e das competências em atividades diárias, como também o bem-estar psicológico, o desenvolvimento de relações interpessoais e envolvimento ativo no processo (Espírito-Santo & Lemos, 2012).

Esse programa é estruturado para atender a grupos de pacientes com condições neurológicas ou neuropsicológicas, como demências, lesões cerebrais traumáticas ou acidentes vasculares cerebrais, oferecendo atividades e exercícios que visam a reabilitação das capacidades cognitivas, emocionais e funcionais. A reabilitação neuropsicológica grupal envolve a implementação de estratégias para melhorar funções como memória, atenção, linguagem e habilidades de resolução de problemas, enquanto também busca promover o suporte social e a interação entre os participantes (Moraes et al., 2021).

Cabe reforçar que os idosos que convivem com o déficit cognitivo sem demência, podem desenvolver um nível satisfatório de independência e autonomia, entretanto, a sua funcionalidade em determinados aspectos como memória, agilidade, raciocínio executivo pode estar comprometido, o que gera estresse e dificuldades em atividades do dia a dia. Sendo assim, as intervenções realizadas no programa ganham importância acrescida, já que inclui ainda a terapia de orientação para a realidade e terapia por reminiscências (Silva et al, 2015). Além disso, a abordagem grupal permite a utilização de recursos e técnicas terapêuticas de forma mais eficiente, aproveitando o dinamismo das interações grupais para reforçar as habilidades cognitivas e promover a reabilitação funcional (Gonçalves & Almeida, 2022).

Considerando as informações acima descritas, conclui-se então que o Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal (PRNG) é referência quando se trata de intervenções em déficits cognitivos, por oferecer resultados quantitativos e qualitativos promissores, além de aproveitar a potencialidade dos fenômenos de grupo para estimular os relacionamentos interpessoais. Portanto, esse estudo teve como principal objetivo investigar os efeitos do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal no funcionamento cognitivo, emocional e executivo em idosos com déficit cognitivo leve, que não estão inseridos no contexto da institucionalização. Esse aprofundamento no tema, justifica-se pela importância da reabilitação neuropsicológica no auxílio ao público idoso, tendo em vista as alterações neurocognitivas e perda de habilidades, decorrentes do envelhecimento, com o propósito de melhorar sua qualidade de vida e retardar o avanço dos sintomas cognitivos.

## 2. Material e Métodos

Este estudo possui caráter quantitativo, visto que possibilitou a mensuração objetiva e a análise estatística dos dados, permitindo assim a identificação de padrões significativos (Santos & Silva, 2021), e simultaneamente, buscou explorar e compreender as percepções, experiências e contextos dos participantes, caracterizando-se também como qualitativo. Além disso, adotou a abordagem experimental, o que possibilitou a manipulação controlada de variáveis para observar seus efeitos sobre os resultados. Considerando que se propôs a identificar novas questões e hipóteses para futuras investigações, seus objetivos foram exploratórios (Gonçalves et al., 2020).

A integração dessas metodologias de pesquisa ofereceu uma análise detalhada e multifacetada sob os dados coletados, que visam não apenas descrever e compreender sobre os efeitos da reabilitação neuropsicológica grupal, como também fornecer uma compreensão abrangente sobre esse tipo de intervenção e delinear uma base sólida para o desenvolvimento de intervenções ou novas linhas de pesquisa.

## 2.1 Participantes

Participaram desta pesquisa 7 indivíduos com idade entre 65 a 75 anos, cadastrados na Clínica de Psicologia da UVV. Por questões logísticas, adotou-se o ambiente da clínica para a realização da pesquisa, a qual forneceu tanto o espaço quanto os materiais necessários.

Os critérios de inclusão foram: estar cadastrado como paciente da Clínica de Psicologia da UVV, ter déficit cognitivo sem demência (pontuações no MoCA entre 8 e 21 pontos), ter entre 65 e 75 anos, com capacidade de comunicação expressiva e compreensiva (a serem avaliadas subjetivamente) e de ouvir e ver bem o suficiente para participar do programa.

Os critérios de exclusão foram: não ser cadastrado na Clínica de Psicologia da UVV; ter déficit cognitivo significativo ou não apresentar nenhum déficit cognitivo (pontuações no MoCA inferior a 7 pontos e superior a 21); estar incluído nas síndromes demenciais; ter doença mental, estado de saúde física ou alteração sensorial que comprometa a participação no programa; fazer uso de medicação que afete significativamente o Sistema Nervoso Central; recusa; ou indisponibilidade.

Cabe frisar que todos os participantes que cumpriam os critérios de seleção e que aceitaram participar do estudo, foram considerados elegíveis, totalizando assim uma amostra de 7 idosos na faixa etária de 65 à 75 anos e que, dessa maneira, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), sendo informados sobre os objetivos, benefícios, riscos e procedimentos da pesquisa.

## 2.2 Instrumentos

Os idosos foram avaliados pré e pós a realização da intervenção, com instrumentos de avaliação cognitiva, executiva e emocional, sendo eles:

**Montreal Cognitive Assessment (MoCA):** É um instrumento breve para rastreio do déficit cognitivo. Este instrumento avalia diferentes domínios cognitivos: atenção e concentração, função executiva, memória, linguagem, capacidade visuo-constructiva, raciocínio abstrato, cálculo e orientação. O tempo de administração é de aproximadamente 10 minutos. A pontuação máxima possível é de 30 pontos, onde uma pontuação igual ou superior a 21 é considerada sem déficit cognitivo significativo e inferior a 7 pontos, déficit cognitivo significativo. O instrumento foi validado por Nasreddine et al. (2005).

**Mini Exame do Estado Mental (MEEM):** Foi elaborado por Folstein et al. (1975) nos EUA, como instrumento de rastreio do funcionamento cognitivo geral. Examina a orientação temporal e espacial, memória de curto prazo (imediate ou atenção) e evocação, cálculo, praxia construtiva e habilidades viso-espaciais. Esse instrumento pode ser usado isoladamente ou ser incorporado a baterias de testes, permitindo o rastreio de quadros demenciais, o estagiamento evolutivo de doenças e avaliação de respostas aos tratamentos. Qualquer pontuação igual ou superior a 27 (de um total de 30) é efetivamente normal (intacto). Abaixo disso, a pontuação pode indicar perda cognitiva grave ( $\leq 9$  pontos), moderada (10 a 20 pontos) ou leve (21 a 24 pontos). A pontuação bruta pode precisar ser corrigida de acordo com a escolaridade e idade.

**Escala Baptista de Depressão (EBADEP-ID):** Desenvolvida por Baptista (2019) com base em manuais psiquiátricos e teorias psicológicas específicas no caso das depressões, sendo uma ferramenta complementar no processo diagnóstico, na detecção de sintomas depressivos clinicamente significativos e no acompanhamento de intervenções clínicas e medicamentosas (rastreamento e acompanhamento). Além de ser uma versão curta, são apenas 20 itens, justamente pensando que os idosos podem apresentar fadiga ou terem dificuldades específicas para responderem escalas, ela também tem em seu formato de resposta itens dicotômicos, o que também facilita a resposta e economiza tempo. Possui, além dessas características, itens com semântica positiva e negativa, com o objetivo de se tentar avaliar o contínuo da sintomatologia depressiva

(alegria/tristeza). As normas foram desenvolvidas no sentido de propiciar faixas de comportamentos/cognições e emoções positivas (saúde mental) até faixas de normas que indicam necessidade de atenção em um processo maior de avaliação psicológica (sintomatologia leve, moderada e severa).

#### 2.4 Procedimentos

Após a avaliação prévia de todos os participantes, foi implementado o Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal (PRNG), proposto por Espírito-Santo e Lemos (2012) em Portugal. O PRNG integra atividades de dificuldade crescente relativa a domínios cognitivos (atenção, linguagem receptiva, gnosis, praxia, memória, funções executivas e linguagem expressiva) e emocionais. Os exercícios seguem o pressuposto do treino cognitivo, da terapia orientada para a realidade e da terapia por reminiscência. A sua implementação decorre num total de 10 sessões, com uma sessão semanal de 90 minutos, com um intervalo de 15 minutos, em grupos de até cinco idosos. Cada sessão foi iniciada com um exercício orientado para a realidade ou reminiscência, seguido de três tarefas de estimulação cognitiva/executiva e concluindo com um exercício de memória e de orientação para a realidade.

#### 3. Resultados e Discussão

O presente estudo consistiu na análise do efeito do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal quando aplicado em idosos não-institucionalizados com déficit cognitivo leve. Esse programa foi delineado visando a implementação para indivíduos com déficit cognitivo sem demência, cujos exercícios seguem os pressupostos da reabilitação cognitiva, do treino cognitivo, da terapia orientada para a realidade e da terapia de reminiscência (Silva et al., 2015). A pesquisa objetivou investigar os efeitos do PRNG no funcionamento cognitivo, emocional e executivo de idosos não institucionalizados. Os resultados serão comentados a partir das tabelas 1, 2, 3 e 4, conforme segue abaixo. Frisa-se que, em consideração aos aspectos éticos, os nomes dos participantes foram substituídos por nomes de flores e países na tabela.

**Tabela 1.** Comparações entre antes e após a implementação do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal (PRNG) das pontuações do Mini Exame do Estado Mental (MEEM), Montreal Cognitive Assessment (MoCA) e Escala Baptista de Depressão (EBADEP-ID).

Nome	Avaliação pré-intervenção			Avaliação pós-intervenção		
	MEEM	MOCA	EBADEP-ID	MEEM	MOCA	EBADEP-ID
Margarida	24	20	3	24	22	3
Girassol	18	14	2	19	17	1
Orquídea	25	21	0	26	24	0
Rosa	24	18	3	25	20	2
Lírio	22	16	0	21	16	0
Tulipa	19	18	0	20	20	0
Hortênsia	18	17	0	18	17	0

**Tabela 2.** Comparação entre a média das pontuações do Mini Exame do Estado Mental (MEEM), Montreal Cognitive Assessment (MoCA) e Escala Baptista de Depressão (EBADEP-ID), antes e após a implementação do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal.

	Avaliação pré-intervenção	Avaliação pós-intervenção	P
<b>MEEM</b>	21,42	21,85	0,43
<b>MOCA</b>	17,71	19,42	1,71
<b>EBADEP-ID</b>	1,14	0,85	0,29

\*P = comparação da significância estatística entre as médias pré e pós-intervenção

**Tabela 3.** Informações básicas a respeito de cada indivíduo participante do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal.

Nomes	Idade	Gênero	Escolaridade	Estado Civil	Ocupação anterior
<b>Margarida</b>	68	Fem.	Fundamental Inc.	Viúva	Operadora
<b>Girassol</b>	66	Fem.	Alfabetização Inc.	Divorciada	Aux. Serviços gerais
<b>Orquídea</b>	70	Fem.	Superior Completo	Divorciada	Aux. Administrativa
<b>Rosa</b>	72	Fem.	Médio Inc.	Casada	Costureira
<b>Lírio</b>	72	Masc.	Médio Completo	Casado	Sapateiro
<b>Tulipa</b>	72	Fem.	Fundamental Inc.	Casada	Cozinheira
<b>Hortênsia</b>	70	Masc.	Alfabetização Inc.	Casado	Aux. Pedreiro

**Tabela 4.** Informações básicas a respeito dos indivíduos *não-elegíveis* para a participação do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal. Pontuações do Mini Exame do Estado Mental (MEEM), Montreal Cognitive Assessment (MoCA) e Escala Baptista de Depressão (EBADEP-ID), na avaliação prévia, a qual constatou a não-elegibilidade de tais candidatos.

Nome	Avaliação inicial			Idade	Gênero	Escolaridade	Estado Civil	Ocupação anterior
	MEEM	MOCA	EBADEP-ID					
<b>China</b>	26	27	0	71	Fem.	Médio completo	Casada	Bancária
<b>Brasil</b>	28	28	0	72	Fem.	Superior completo	Casada	Aux. Administrativa
<b>Itália</b>	28	28	0	69	Masc.	Médio completo	Casado	Líder religioso
<b>Canadá</b>	29	28	5	73	Masc.	Superior completo	Casado	Aviador

### 3.1 Avaliação pré-intervenção

Não se verificam diferenças significativas entre as pontuações dos indivíduos de participantes do PRNG, no que tange à avaliação pré-intervenção. Observa-se que no Mini Exame do Estado Mental, obteve-se uma média de 21,42 indicando perda cognitiva leve. Já no Montreal Cognitive Assessment, a média obtida foi de 17,71 o que se caracteriza como déficit cognitivo leve.

Além disso, algumas participantes pontuaram entre 1 a 3 no EBADEP-IJ, entretanto, segundo o manual de correção do próprio teste, tal pontuação não denota sintomatologia depressiva. Cabe destacar que essas participantes em específico, relataram que estavam passando por momentos de vida mais complexos, como luto recente e dificuldades socioeconômicas.

Ao correlacionar as tabelas 1, 3 e 4, pode-se observar dados relevantes, como a influência do grau de escolaridade sobre as pontuações nos instrumentos de avaliação. Nota-se que os participantes e candidatos com escolaridade mais elevada, como superior completo por exemplo, obtiveram melhores resultados no MoCA e no MEEM, sendo inclusive caracterizados como não-elegíveis. Segundo Dias (2020), o nível de educação formal pode representar um importante fator protetivo das reservas cognitivas durante o envelhecimento, visto que propicia uma nova forma de aquisição, recuperação e armazenamento de informações na memória, melhorando a qualidade das conexões neurais e o desempenho em tarefas lógicas e lexicais. O autor afirma que

"Esta é uma medida complexa porque a educação na primeira infância modifica a estimulação cognitiva irreversivelmente e contribui para a oportunidade de atingir vocações e ocupações cognitivamente desafiadoras, levando a uma ampliação ao longo da vida de seu efeito sobre a cognição (...) No entanto, essas variáveis são difíceis de avaliar retrospectivamente, considerando que a educação, ao considerarmos todos os fatores que estão relacionados a ela, é provavelmente uma medida muito geral de todas essas influências (Dias, 2020)."

Também foi possível compreender a influência de outros fatores como gênero, estado civil e ocupação profissional, sob o desempenho dos participantes e candidatos nos testes. De acordo com Silva et al. (2015), as alterações cognitivas e neurais decorrentes das síndromes demenciais, são multifatoriais, onde concorrem fatores como a idade avançada, pertença ao sexo feminino, baixa escolaridade, profissão prévia e sintomas depressivos. Segundo Silva & Eulálio (2022), a vulnerabilidade social e ausência de uma rede de apoio podem acentuar os sintomas demenciais, pois percebe-se que o vínculo advindo das relações estabelecidas e o sentido elaborado a partir de modos de comunicação entre os sujeitos, propiciam um contexto relacional saudável para o exercício das habilidades cognitivas. Além disso, conforme destacado anteriormente, a profissão também pode ser um fator importante para a constante manutenção e desenvolvimento dessas habilidades.

### 3.2 Comparação entre as pontuações pré e pós-intervenção

As pontuações totais dos instrumentos e suas respectivas médias, assim como as diferenças entre os dados pré e pós intervenção, podem ser encontradas nas tabelas 1 e 2. Destacam-se evoluções mais significativas nos resultados do Montreal Cognitive Assessment (MOCA), onde obteve-se uma diferença de 1,71 entre as médias pré e pós implementação da reabilitação. A respeito dos instrumentos MEEM e EBADEP-IJ, também se verificam incrementos nas pontuações após a reabilitação, mas estes não foram estatisticamente relevantes. Tal informação aponta para um efeito importante, ainda que mínimo, do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal.

Assim, entende-se que o PRNG não necessariamente proporciona efeitos importantes na melhoria do funcionamento cognitivo, mas que pode potencialmente impedir a piora ou declínio dos sintomas de um déficit cognitivo leve o que, nesse sentido, demonstra ser um resultado de eficácia considerando que as síndromes demenciais são condições degenerativas (Silva et al., 2015). Ou seja, tendo em vista que para esse tipo de

quadro não existem prognósticos de remissão total, o mínimo sinal de melhora ou estabilização dos sintomas, já pode ser considerado como um achado estatístico relevante dentro desse contexto.

É importante destacar que os indivíduos não participaram de todas as sessões do PRNG, tendo uma frequência média de 7 para cada participante, o que impacta diretamente nos resultados obtidos, visto que não se obteve 100% do programa.

### 3.3 Os efeitos do PRNG no funcionamento cognitivo, executivo e emocional

De acordo com Silva et al. (2015) a reabilitação neuropsicológica é um tipo de intervenção terapêutica que pode englobar a reabilitação cognitiva, o treino cognitivo, a terapia de orientação para a realidade e a terapia por reminiscências, o que amplia os seus efeitos. Assim, proporciona não só a melhora do funcionamento dos aspectos cognitivos, mas também do bem-estar psicológico, de competências de atividades diárias e das relações interpessoais (Moraes et al., 2021). Diante disso, demonstra ser uma ferramenta terapêutica aplicável aos quadros demenciais, visto que descreve uma estratégia estruturada que se dirige aos aspectos cognitivos, emocionais e comportamentais do indivíduo, visando a melhora da qualidade de vida.

Conforme apresentado no tópico acima, não foram encontradas diferenças significativas entre o antes e após a implementação do Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal, no funcionamento cognitivo dos participantes. Assim, revela-se a necessidade de replicação da pesquisa, para obtenção de dados mais assertivos. Entretanto, de acordo com Moraes et al. (2021), considerando a característica degenerativa das síndromes demenciais, quaisquer tipos de melhoras, preservação ou ausência de declínios nos aspectos cognitivos, podem ser considerados como resultados de eficácia pois mitigam os sintomas e conservam as funções cognitivas.

Segundo o relato dos participantes, o PRNG proporcionou à eles melhora na atenção, na memória e na orientação, o que os beneficiava na execução de suas atividades diárias. Relataram que sentiram melhora em sintomas como esquecimento frequente, confusão mental, distração, desânimo e desorientação, o que comprova que mesmo tais evoluções não aparecendo diretamente nos resultados dos instrumentos avaliativos, houve melhora da sintomatologia demencial. Além disso, também alegaram que o fato do programa ser realizado em grupo, permitiu que construíssem uma rede de apoio para além de seus familiares e amigos próximos, com quem podiam semanalmente compartilhar desafios e estratégias de enfrentamento.

Tendo em vista todas as informações citadas acima, reafirma-se que o PRNG pode proporcionar efeitos importantes para os participantes, auxiliando-os a mitigar os sintomas do déficit cognitivo leve, ou aprimorando ainda que minimamente as habilidades cognitivas (Silva et al., 2015). Conforme alegam Oliveira, Silva e Santos (2021), os principais efeitos do PRNG em idosos com déficit cognitivo leve são: o estímulo cognitivo e funcional, o suporte social adequado, a motivação, o treinamento de habilidades sociais e estratégias de adaptação e enfrentamento mais eficazes. Sob esse olhar, o presente estudo comprovou que o programa proporciona estímulos cognitivos estruturados que ajudam a melhorar ou estabilizar as funções cognitivas afetadas pelo déficit cognitivo leve.

## 4. Conclusões

Os resultados dessa pesquisa indicam que o Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal tem o potencial de melhorar o funcionamento executivo e emocional de idosos não institucionalizados, com déficit cognitivo leve. Demonstra-se também promissor o seu poder de estabilizar o declínio do funcionamento cognitivo e de evitar o agravamento da sintomatologia demencial, revelando eficácia em promover a estabilização de funções cognitivas como a atenção e a memória.

Esses dados denotam que, apesar das alterações decorrentes do déficit cognitivo, a plasticidade cerebral continua a desempenhar um papel crucial, permitindo a compensação parcial das perdas cognitivas através de estratégias adaptativas e aprendizado contínuo. Também permitiram compreender a influência direta de fatores como o nível de escolaridade, profissão prévia, gênero e situação socioeconômica, sob o nível e a gravidade das alterações cognitivas decorrentes do processo de envelhecimento.

Além disso, apontam que a prática de interações sociais e a participação em atividades coletivas ajudam a melhorar habilidades sociais e comportamentais, em um contexto seguro e controlado.

Assim, conclui-se que o PRNG representa uma ferramenta valiosa para ajudar idosos com déficit cognitivo leve a melhorar sua qualidade de vida e a retardar o avanço dos sintomas demenciais, visto que possui efeito terapêutico significativo nos aspectos cognitivos, conforme comprovado através dessa pesquisa.

Entretanto, esse estudo apresentou limitações importantes de serem salientadas para pesquisas posteriores. Considera-se que a amostra de participantes selecionada não foi o suficiente para delimitar com maior exatidão os efeitos do PRNG, dado que as características socioculturais e socioeconômicas não divergiram tanto conforme o adequado. A frequência do grupo também impediu que os dados fossem apurados com maior precisão, já que o programa não foi completamente aproveitado. Além disso, seria importante o uso instrumentos de avaliação dos aspectos neuropsicológicos mais sensíveis, capazes de detectar com maior assertividade os resultados visto que o MOCA e o MEEM são testes de rastreio, assim como ferramentas para avaliação dos aspectos relacionais e sociointeracionais, obtidos através do programa, como por exemplo o relato escrito. Outro aspecto a se considerar é a necessidade de proceder com avaliações de seguimento, pois o déficit cognitivo leve é uma condição degenerativa com altas taxas de conversão para a demência. Por fim, este trabalho permitiu concluir que é necessário ainda ampliar os estudos e pesquisas nessa temática, a fim de agregar em resultados mais assertivos e propor melhorias no Programa de Reabilitação Neuropsicológica Grupal, quando aplicado no público idoso não-institucionalizado, com déficit cognitivo leve.

#### Agradecimentos

Agradeço à professora Jucineide Della Valentina De Oliveira Wandekoken, pelo aceite em supervisionar e orientar essa pesquisa. Sem você nada teria sido possível!

Agradeço igualmente à Coordenação de Iniciação Científica pelo apoio financeiro para que essa pesquisa acontecesse.

Também agradeço à equipe da Clínica de Psicologia da UVV, ao prof. Eduardo Lopes e à prof<sup>a</sup>. Hildicéia Affonso, que sempre me auxiliaram em tudo que me era necessário.

Por fim, agradeço profundamente à todos os idosos que aceitaram participar dessa pesquisa, se engajando no projeto e colaborando com a presença inestimável de cada um. Os afetos que compartilhamos durante esse tempo, me tornaram uma psicóloga melhor!

## Referências

- Carvalho, F. M., & Gonçalves, S. A. (2020). Aspectos neuropsicológicos do envelhecimento: impacto das alterações cognitivas na qualidade de vida dos idosos. *Revista Brasileira de Neuropsicologia*, 14(2), 95-108.
- Dias, C. A. (2020). Reservas cognitivas no envelhecimento típico e com declínio cognitivo: ênfase na leitura e na escolaridade (Master's thesis, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul).
- Espírito-Santo, H. & Lemos, L. (2012). *Manual de Reabilitação Neuropsicológica Grupal*. Coimbra: Instituto Superior Miguel Torga.
- Foroni, P. M. & Santos, P. L. (2012) Fatores de risco e proteção associados ao declínio cognitivo no envelhecimento. *Revisão Sistemática de Literatura; Revista Brasileira em Promoção de Saúde*, Fortaleza; v. 25; n. 3; 364-373.
- Ferreira, A. J., & Oliveira, C. R. (2019). Funcionalidade cognitiva no envelhecimento: uma revisão dos principais fatores envolvidos. *Jornal Brasileiro de Psicologia*, 11(3), 77-92.
- Gonçalves, M. D., & Almeida, T. M. (2022). Abordagens grupais na reabilitação neuropsicológica: uma revisão das práticas e resultados. *Psicologia: Teoria e Prática*, 25(2), 103-118.
- Gonçalves, M. D., Almeida, T. M., & Rocha, P. S. (2020). Abordagens experimentais e exploratórias em pesquisa: tendências e aplicações. *Psicologia: Pesquisa e Prática*, 21(1), 33-48.
- Konflanz, F., Costa, K. & Mendes, T. (2017). A neuropsicologia do envelhecer: as “faltas” e “falhas” do cérebro e do processo cognitivo que podem surgir na velhice. *Psicologia: O portal dos psicólogos*. Disponível em: <http://www.psicologia.pt/artigos/textos/A1103.pdf>.
- Lopez, O. L. (2013). Mild cognitive impairment. *Continuum*, 19(2), 411–424.
- Moraes, E. N., et al. (2021). Processo de envelhecimento e bases da avaliação multidimensional do idoso. In: Borges, A. P. & Coimbra, A. M. *Envelhecimento e Saúde da Pessoa Idosa*. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz (pp. 151-175).
- Nitrini, R., et al. (2020). *Revista Brasileira de Psiquiatria*.
- Oliveira, M. F., & Ribeiro, L. R. (2021). Impactos da institucionalização na funcionalidade e na progressão das síndromes demenciais em idosos. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 24(2), 121-134.
- Oliveira, A. L., Sousa, S. S., & Almeida, O. P. (2018). Alterações cerebrais e funções cognitivas no envelhecimento: uma revisão. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 21(4), 468-477.
- Oliveira, A. M., Silva, J. R., & Santos, A. P. (2022). Alterações cognitivas e doenças neurodegenerativas: uma revisão dos principais marcadores e impactos. *Revista Brasileira de Neurologia*, 14(2), 34-46.
- Santos, L. M., & Silva, F. R. (2021). A importância da combinação de métodos na pesquisa científica: uma revisão das práticas atuais. *Revista Brasileira de Pesquisa*, 17(3), 112-125.
- Silva, F., Espírito-Santo, H., Costa, M., Cardoso, D., Vicente, F., Martins, S. & Lemos, L. (2015). Reabilitação Neuropsicológica Grupal de Idosos institucionalizados com Défice Cognitivo sem Demência. *Revista Portuguesa de Investigação Comportamental e Social*, 1(2), pp. 15-30.
- Silva, E. G. D., & Eulálio, M. D. C. (2022). Resiliência para uma velhice bem-sucedida: mecanismos sociais e recursos pessoais de proteção. *Psicologia: Ciência e Profissão*, 42, e234261.
- Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., et al. (2015). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 11(3), 275-284.

## Capítulo 13

### “PRAÇA COSTA PEREIRA, VITÓRIA/ES E OS ATRADORES VISUAIS DA PAISAGEM URBANA”

#### Autores

Heitor Ambrozini Soares<sup>1</sup>, Karita de Souza Nunes<sup>2</sup> Melissa Ramos da Silva Oliveira<sup>3\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Curso de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Arquitetura e Cidade (PPGAC), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Docente do Curso de Arquitetura e Urbanismo; Programa de Pós-Graduação em Arquitetura e Cidades (PPGAC), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: melissa.oliveira@uvv.br

Telefone: +55 11 96744-4302

#### Resumo

A paisagem urbana é uma categoria de análise que expressa o desenvolvimento social, econômico e urbano de um local, pode despertar o sentimento de pertencimento da população local, assim como evocar emoções, sentimentos e memórias. O objetivo principal deste artigo é analisar a percepção da paisagem da Praça Costa Pereira para verificar quais são os elementos atratores da paisagem urbana. Como método, a pesquisa exploratória, de abordagem qualitativa, utiliza questionários e o rastreamento ocular para avaliar a percepção dos usuários. Os resultados demonstram a importância da Praça Costa Pereira como espaço público e sua contribuição histórica, arquitetônica, paisagística e cultural para a paisagem urbana da capital e que tais aspectos se destacam aos olhos dos voluntários.

#### Abstract

Urban landscape is a category of analysis that reflects the social, economic, and urban development of a place, capable of evoking a sense of belonging in the local population, as well as emotions, feelings, and memories. The main objective of this article is to analyze the perception of the landscape of Costa Pereira Square to identify the key elements that attract attention in the urban landscape. As a method, the exploratory research with a qualitative approach uses questionnaires and eye tracking to assess users' perceptions. The results demonstrate the importance of Costa Pereira Square as a public space and its historical, architectural, landscape, and cultural contributions to the urban landscape of the capital, with these aspects standing out to the volunteers.

**Palavras-chave:** Centro de Vitória; percepção visual; percepção afetiva; rastreamento ocular; foco e atenção.

## 1. Introdução

Gordon Cullen, em seu livro *Paisagem Urbana*, destaca que a cidade gera um grande impacto sobre seus habitantes e os edifícios possuem um poder significativo na atração visual. Nesse contexto, Cullen (2022, p. 10) destaca que se consolida uma “arte do relacionamento” que reúne os elementos que concebem um ambiente e, conseqüentemente, podem despertar emoções ou interesses distintos.

No seu livro *a Imagem da Cidade*, Kevin Lynch (2011) afirma que cada habitante pode possuir diversas associações com a cidade. O autor destaca ainda que as interações entre o indivíduo e o meio consolidam imagens que são moldadas por experiências individuais ou em grupos, sendo influenciadas por fatores físicos e sociais que configuram a paisagem urbana. Desse modo, a construção das imagens resulta de um processo bilateral entre o observador e o ambiente, que organiza e confere significados diversos de acordo com aquilo que se observa. Ou seja, a imagem de um determinado ambiente pode variar significativamente entre diferentes observadores, pois cada um “seleciona, organiza e dota de sentido aquilo que vê” (Lynch. 2011, p. 17), pois está sempre impregnada de lembranças e significados.

A interação da paisagem com os seres humanos desperta estímulos ligados às emoções, sentimentos e memórias que são demonstradas por reações corporais. A percepção de uma paisagem requisita o acionamento dos processos neurológicos a partir dos elementos afetivos absorvidos pelo contato com determinado espaço e dos estímulos sensoriais. Merleau-Ponty (1999, p. 24) afirma que através da experiência mental, “somente a estrutura da percepção efetiva pode ensinar o que é perceber”. Nessa trama, o encéfalo humano recorre a outros recursos neurais que atuam paralelamente na percepção como as emoções, os sentimentos, as memórias e a consciência.

O presente artigo tem como objetivo analisar a percepção da paisagem da Praça Costa Pereira a partir da identificação dos elementos atratores da paisagem urbana. Como objetivos específicos almeja: a) investigar quais os pontos de fixação da paisagem urbana ident, b) identificar os pontos de foco e atenção nos mapas de calor gerados pelo rastreamento ocular; b) mensurar o número de fixações capturados pelo rastreamento ocular; c) analisar os aspectos que mais agradam e atraem os usuários da praça.

A Praça Costa Pereira situa-se no centro da cidade de Vitória/ES, se configura como um local de contrastes: apresenta um conjunto arquitetônico de gabaritos, épocas e tipologias distintas, a praça abriga monumentos e um conjunto de árvores bastante denso, enfim apresenta elementos de importância arquitetônica, histórico, paisagística, artístico e afetivo, tanto para o estado do Espírito Santo quanto para sua população.

A pesquisa exploratória, de abordagem qualitativa, utiliza questionários e o rastreamento ocular para avaliar a percepção dos usuários. O rastreamento do movimento dos olhos permite identificar os elementos visuais observados e fixados pelos voluntários enquanto os questionários permitem analisar os elementos atratores a partir de aspectos sensoriais e afetivos. Para a investigação, foram definidos dois grupos controles de voluntários: um com vínculos afetivos e outro sem vínculos afetivos com o centro de Vitória. A pesquisa foi dividida em quatro etapas principais: a) revisão de literatura e conceitos; b) investigação; c) compilação de dados; d) análise dos resultados.

## 2. Metodologia

Trata-se de uma pesquisa exploratória, de abordagem qualitativa, que foi realizada em quatro etapas. A primeira etapa - revisão de literatura e conceitos, realizou uma caracterização histórica sobre a Praça Costa Pereira. Buscou compreender e interpretar os fundamentos teóricos e conceituais relacionados à técnica do rastreamento ocular e sua aplicação na arquitetura, sobretudo no contexto urbano. A segunda parte da pesquisa - denominada investigação - contemplou a coleta de dados com os voluntários a partir de questionários e do rastreamento ocular. Na fase de compilação de dados, realizou-se a tabulação dos questionários, categorização das

informações e elaboração de gráficos. A partir do rastreamento ocular, foram gerados os mapas de calor e a planilha indicativa do número de fixações. Pautados nesses dados, efetuou-se a análise dos resultados - última etapa da pesquisa.

### 2.1 Protocolo experimental

A coleta de dados foi realizada in loco, na Praça Costa Pereira. Primeiramente o voluntário era recepcionado pelos pesquisadores, onde era convidado a participar do experimento após assinatura do TCLE.

Para análise da percepção visual, o equipamento utilizado no experimento foi o Eye Tracker modelo NEON, produzido pela empresa Pupilabs. Os testes ocorreram com o óculos conectado a um smartphone, que funciona com o aplicativo desenvolvido pela empresa do produto. Neste APP foram gravados os testes que ficaram salvos em uma conta na nuvem - a Pupil Cloud.

Desse modo, a experiência em campo consistiu em utilizar o dispositivo Neon com participantes voluntários, para analisar a percepção visual do entorno da Praça Costa Pereira, durante um percurso guiado no sentido da Av. Jerônimo Monteiro em direção a Avenida Barão de Itapemirim, tendo ao fundo o Teatro Carlos Gomes. O percurso linear teve três paradas em pontos de observação estratégicos, definidas a partir da noção de visão serial de Gordon Cullen (2022). Em cada parada, o equipamento foi ligado durante 60 segundos para que o dispositivo pudesse captar as movimentações do globo ocular durante a visualização da paisagem.

Para definição do percurso de análise, utilizou-se como base os conceitos pressupostos por Cullen (2022, p. 19) a respeito da visão serial, que trata de uma “sucessão de pontos de vista” obtida durante um percurso, evidenciando as variações nos elementos que constituem a paisagem urbana, ou seja, “os contrastes que tem grande impacto visual e dão vida ao percurso”. Segundo Cullen (2022), na medida que o caminhante vai progredindo a paisagem urbana vai contrastando, criando uma diversidade de pontos de vista ao observador, que conforme o caminhar o usuário vai desvendando o local.

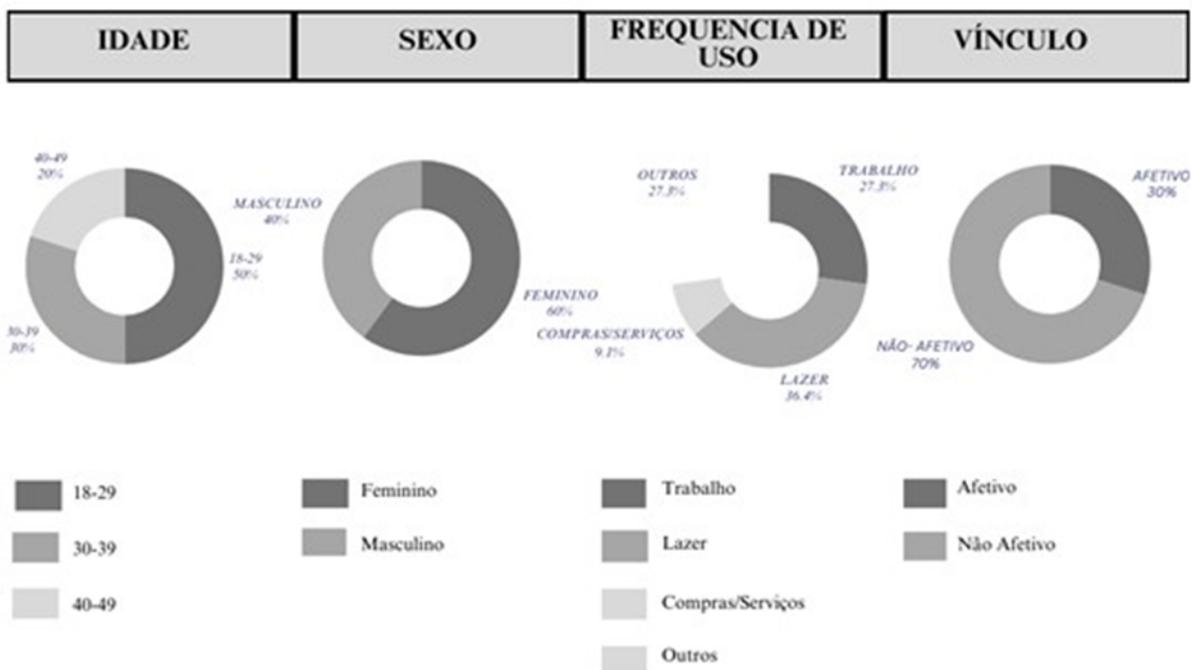
Após o percurso guiado utilizando o óculos de rastreamento ocular, o voluntário foi convidado para se sentar em um banco da Praça sob as árvores e responder um questionário, sem controle de tempo. De próprio punho, o voluntário escrevia no papel suas respostas a cinco perguntas: o que chama atenção na Praça Costa Pereira; quais elementos o voluntário reconhece como mais importante na paisagem da Praça Costa Pereira; o que agrada o voluntário na Praça Costa Pereira e se a Praça traz um sentimento positivo ou negativo e por qual motivo.

### 2.2 Caracterização dos voluntários

Para a pesquisa foram definidos dois grupos controles de voluntários: um com vínculos afetivos e outro sem vínculos afetivos com a Praça Costa Pereira. O conceito que norteia se o voluntário possui vínculo com a Praça Costa Pereira é a sua interação com o meio, ou seja, se o sujeito consegue conceber o que Cullen (2022) denominou de “arte do relacionamento”, ou seja, um lugar onde relações de afeto, interesse ou emoções podem ser despertadas. Desse modo, considerou-se como fator de inclusão no grupo com vínculos afetivos se o voluntário estuda, trabalha ou mora próximo a praça, isto é, possui uma vivência no lugar que cria, de certa maneira, uma conexão do indivíduo com o meio, a partir de experiências pessoais.

O grupo que não possui vínculo afetivo contempla participantes que meramente utilizam a praça como passagem esporadicamente e não criaram uma ligação interpessoal com o local por não vivenciarem experiências cotidianas que possibilitam a criação de memórias afetivas. Desse modo, a experiência pessoal desses indivíduos não desenvolve o sentimento de pertencimento, decorrente da vivência e da apropriação com o lugar. Esses fatores são importantes para que o usuário crie uma percepção sobre o espaço.

A pesquisa teve a participação de 09 voluntários, sendo 3 integrantes do G1 (com vínculo afetivo) e 6 integrantes do G2 (sem vínculo afetivo com a praça). A Figura 1 apresenta a caracterização dos voluntários.



**Figura 1. Caracterização dos voluntários**

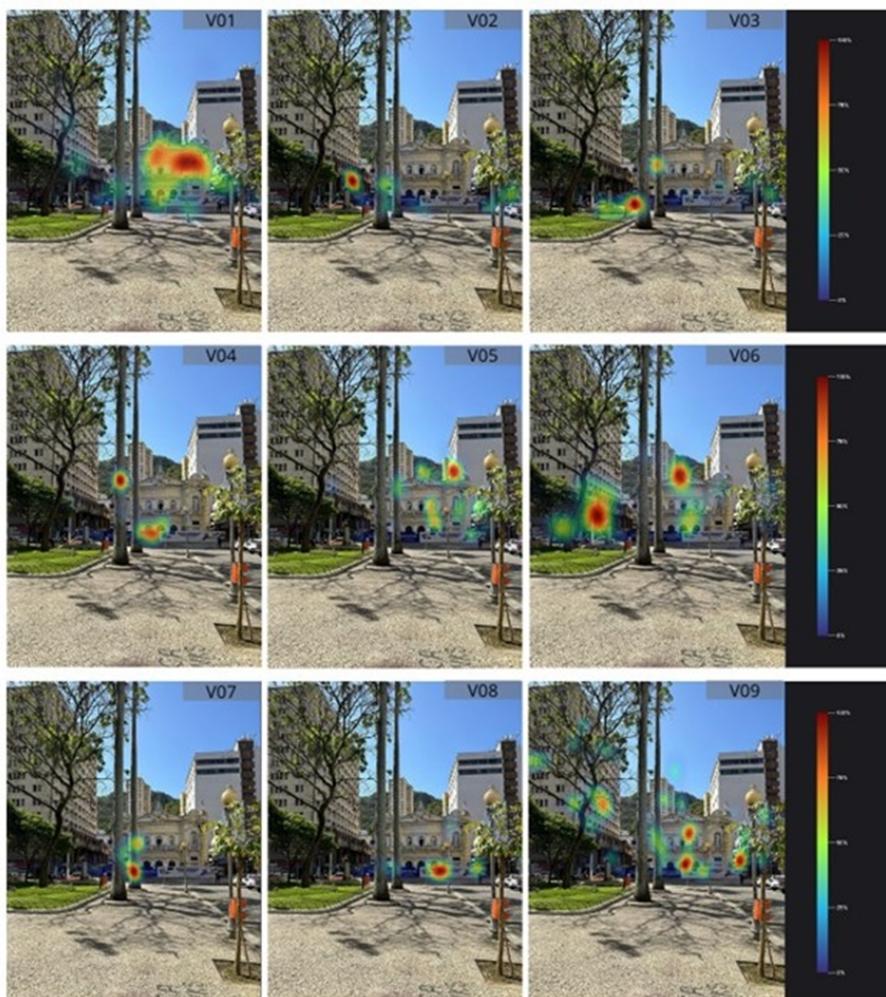
No que se refere ao gênero dos participantes, seis são do sexo feminino e 4 do sexo masculino. A faixa etária dos voluntários variou entre 18 a 49 anos, sendo 60% entre 18-29 anos, 30% entre 30-39 anos e 20% entre 40-49 anos. A frequência de uso foi outro fator analisado, onde constatou-se que 36,4% dos participantes tiveram experiências na Praça Costa Pereira ligadas ao lazer, 27,3% possuem relação com o trabalho próximo a praça e 9,2% usam o entorno para compras/serviços.

### 2.3 As métricas do rastreamento ocular

As investigações com o dispositivo do eye tracker contemplam métricas específicas que possuem a função de nortear a análise e a interpretação dos dados. As métricas usadas nesta pesquisa - fixações e sacadas - contemplam os dados fornecidos pelo aplicativo da Pupil Cloud após a execução do rastreamento ocular. Segundo Zou e Ergan (2019, p.4), define-se “fixação” como uma “pausa no movimento ocular da cena visual” quando se estabelece um olhar relativamente imóvel em relação ao objeto observado e “sacadas” como os “movimentos rápidos dos olhos que separam as fixações”. Nessa pesquisa a fixação será a principal métrica de análise, podendo ser observada nos mapas de calor e na tabela que ilustra o número de fixações. Destaca-se que a fixação permite identificar os atratores visuais da Praça a partir dos elementos com maior frequência de visualização. A Tabela 1 demonstra a quantidade de fixações dos voluntários durante a observação da paisagem da Praça Costa Pereira, captados pelo dispositivo Neon.

O equipamento utilizado no experimento é o eye tracker modelo NEON, produzido pela empresa PupilLabs. Os testes ocorrem com o óculos conectado a um smartphone, o mesmo funciona com o aplicativo desenvolvido pela empresa do produto. Neste aplicativo são gravados os testes que ficam salvos em uma conta na nuvem, o qual permite que os dados gravados sejam transmitidos para o Pupil Cloud - que contém um software onde são obtidos os resultados de cada teste. É possível analisar diversas variantes de pesquisas, tais como os mapas

de calor (heat maps), as áreas de interesse (AI), o gaze plot. Os mapas de calor servem para indicar por meio de uma escala de cores o tempo que o olhar do usuário se manteve fixo em determinado objeto. O gaze plot mapeia o trajeto do olhar de cada usuário. As áreas de interesse (AI) delimitam recortes na paisagem com destaque para os aspectos que tiveram maior quantidade de fixação.



**Figura 2. Mapas de calor**

**Tabela 1.** Quantidade de fixações dos voluntários durante a observação da paisagem da Praça Costa Pereira.

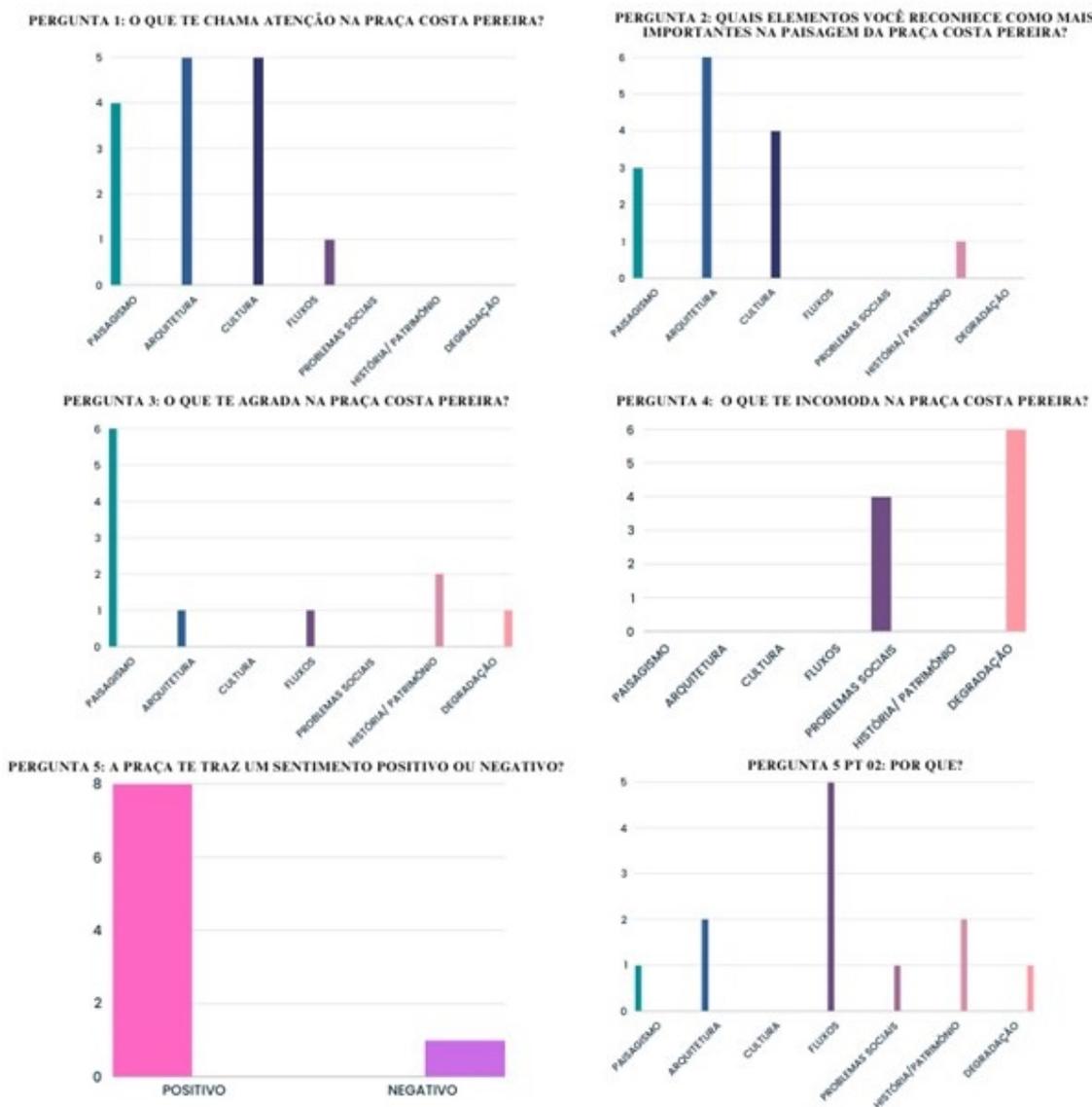
	Número de Fixação <sup>1</sup>								
	VOL. 01	VOL. 02	VOL. 03	VOL. 04	VOL. 05	VOL. 06	VOL. 07	VOL. 08	VOL. 09
Teatro	79	22	14	30	20	32	10	27	21
Verticalização	32	10	01	07	06	34	03	03	35
Natureza	31	14	16	28	16	44	13	16	22

<sup>1</sup>Grupos de voluntários que realizaram o rastreamento ocular com o equipamento Pupil NEOM, A tabela demonstra a quantidade de fixações dos voluntários durante a observação da paisagem da Praça Costa Pereira.

Em suma, para análise da percepção visual utiliza-se o eye tracker para captar os movimentos sacádicos dos olhos permitindo identificar quais elementos da paisagem tiveram maior destaque quando observados pelos voluntários e quais fatores contribuem para identificação das áreas de interesse (AI).

### 2.4 Categorização dos resultados

A partir das perguntas feitas por meio de formulários aos voluntários, houve a transcrição das narrativas e análise do conteúdo. Verificou-se que muitos voluntários descreveram o mesmo objeto com sinônimos diferentes. Desse modo, foi necessário criar uma categorização para tabular os dados. Desse modo, as sete categorias se relacionam com as respostas obtidas. A tabulação desses dados foi expressa por meio de gráficos que expressam de maneira objetiva quais elementos foram indicados pelos participantes, ilustrados na Figura 3.



**Figura 3.** Gráficos com a tabulação das respostas por categoria

A categoria paisagismo englobou respostas ligadas ao verde, árvores, vegetação, arborização - elementos que se referem ao paisagismo que compõe a Praça Costa Pereira. Outra categoria que é apontada pelos participantes é a arquitetura, onde os voluntários pontuaram em palavras como: arquitetura, prédios e edificações de outros períodos.

No tocante a cultura, foram englobadas as respostas cultura, Teatro, Teatro Carlos Gomes, Teatro Sesc Glória. Referente a categoria fluxos, considerou-se respostas que abrangem movimento, tais como: a vivência, movimento de carros e pessoas, “é possível observar a vida aqui”, “Transparece a vitalidade”, comércio ativo. A categoria problemas sociais contemplou respostas como prédios moradores de rua, lixo, insegurança, sujeira. História e patrimônio foram consideradas uma categoria única que juntou respostas como construções antigas, figuras históricas, monumentos históricos, história, história do local. No tocante a categoria degradação, foi mencionado os prédios abandonados e mau cuidados, espaços abandonados, falta de cuidado visível nos arredores, falta de administração e limpeza dos locais públicos.

### 3. Revisão de Literatura

#### 3.1 A Praça Costa Pereira e a paisagem urbana

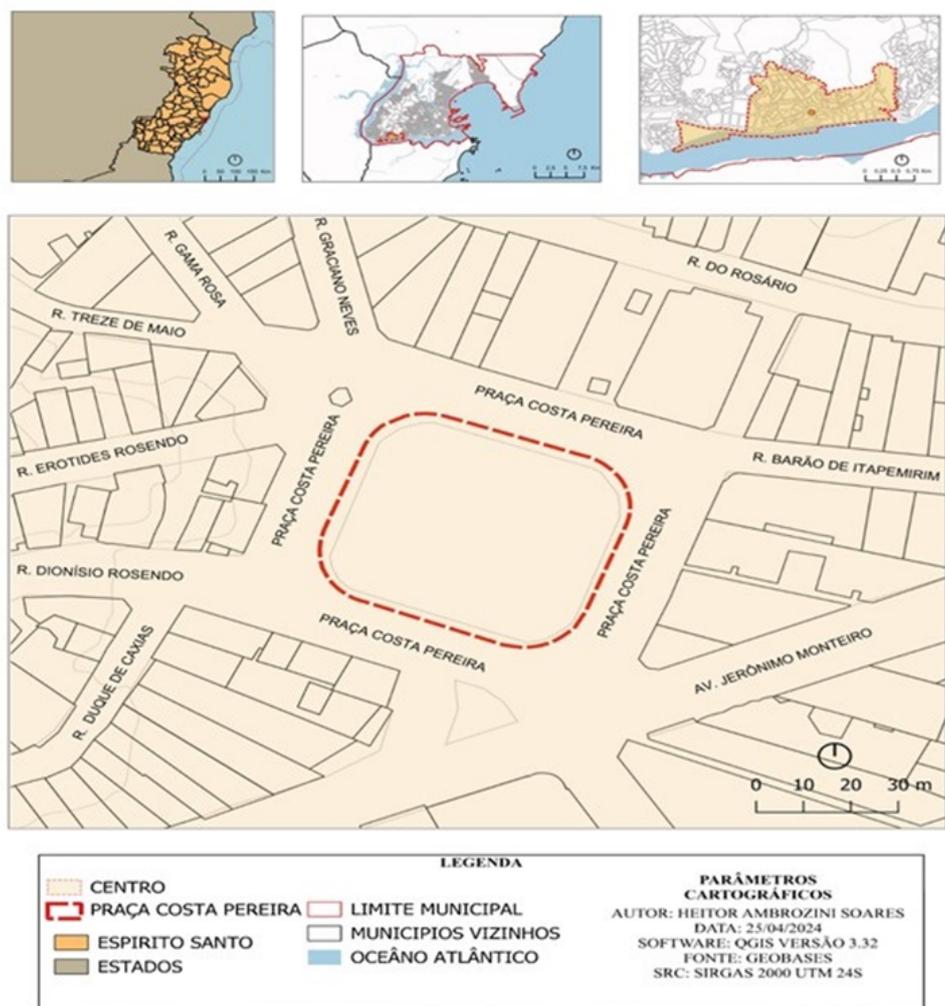
A relação entre o edifício e a paisagem urbana se fundem de maneira interdependente, por meio das transformações na morfologia da cidade e do contexto político-social. Essas transformações corroboram para a construção de uma identidade ao espaço físico. Ao longo da história urbanística das metrópoles brasileiras o embasamento de suas características morfológicas eram típicas de cidades europeias, sobretudo da cidade portuguesa. Apesar da independência do Brasil, as cidades preservaram muitas das suas características originais, desde os traçados da malha viária de uma cidade colonial portuguesa até na tipologia da edificação e o paisagismo inserido nos espaços públicos e privados.

Em Vitória esse processo não foi diferente. No contexto da ocupação portuguesa na ilha, segundo Pegoretti (2022) a mesma ocorreu na região sul da porção insular, onde em meio a topografia do maciço central foram inseridos os primeiros espaços públicos, em suma atrelados às edificações de caráter religioso. Conforme Vitória se desenvolveu economicamente, principalmente pela abertura do porto e pela exportação de café, as transformações físicas foram realizadas em grande escala, onde os primeiros aterros foram realizados com intuito de ordenamento da malha urbana da cidade, que durante o período colonial era predominantemente orgânica.

Mais adiante, segundo Nemer (2018) no início do século XX uma nova ordem foi estabelecida nas capitais brasileiras com a intenção de criar cidades dignas e belas. Nesse contexto, os ideais do urbanismo sanitário também foram colocados em pauta por meio do ordenamento das malhas viárias, da criação de lugares salubres e arborizados, que modificaram o desenho da cidade, visando sua modernidade. A aplicação desse modelo na ilha de Vitória foi marcada por eventos que deram início a esse novo momento da capital. Dentre eles se destaca o aterro do Largo da Conceição, a demolição da capela de Nossa Senhora da Conceição e a construção do Teatro Melpômene (Klug, 2009).

Conforme Nemer (2018), a Praça Costa Pereira (Figura 4) foi implantada pautada nos preceitos de embelezamento urbano e do higienismo, ou seja, essa área foi essencial para emergir a prática do convívio da sociedade moderna. Esses espaços serviam de ideário moderno que regulava as vestimentas e comportamentos dos usuários.

A Praça Costa Pereira foi um marco para arte, arquitetura e cultura local. Seu entorno possuía uma variedade de tipologias de edifícios: de teatros, como o Teatro Carlos Gomes, Teatro Sesc Glória, à edifícios residenciais que são um marco na modernidade da engenharia e arquitetura capixaba, como por exemplo o Edifício Antenor Guimarães, que com sua estrutura em concreto armado e possuindo elevador dá início ao processo de verticalização do centro histórico de Vitória. Essas transformações moldaram o desenho urbano atual da Praça Costa Pereira (Figura 4).



**Figura 4.** Mapa de localização da Praça Costa Pereira, Vitória- ES

A paisagem da Praça Costa Pereira sofreu significativas alterações desde 1550. Ainda assim, e apesar da paulatina degradação do seu entorno, Nunes (2023) conta, que atualmente preserva visuais do seu sítio natural e é um importante espaço público e comercial localizado no Centro Histórico da cidade de Vitória-ES. Possui um tráfego considerado diverso e concentra ilustres equipamentos culturais da cidade, tais como o Teatro Carlos Gomes e o Centro Cultural SESC-Glória, ambos, edifícios históricos inaugurados no início do século XX, mesmo período em que data outras destacadas edificações da praça. Através de diferentes estilos arquitetônicos - o colonial, o eclético e o modernista - a paisagem expressa o desenvolvimento social, econômico e urbano da cidade e inspira um sentimento de pertença entre a população local.

#### 4. Considerações Finais

A pesquisa evidenciou que a paisagem da Praça Costa Pereira sofreu significativas alterações. Nesse sentido, é pertinente indagar-se sobre a atual percepção deste lugar que não está imune aos principais problemas contemporâneos dos antigos centros urbanos que abarcam em si um rico patrimônio cultural, todavia está sujeito à desvalorização, à falta de manutenção e preservação, o que pode acarretar problemas de insalubridade, insegurança, entre outros.

A pesquisa mostrou que a Praça Costa Pereira configura-se como um local que abriga artefatos que representam as transformações históricas e culturais, constituindo um panorama único. Dessa forma tais artefatos adquirem valor simbólico e afetivo para seus moradores e visitantes. Para Lynch (2006), a imagem da cidade trata-se de

um processo bilateral em torno do observador e observado. Onde o que ele vê é baseado na forma exterior, entretanto a maneira com que ele interpreta, organiza e dirige sua atenção, afeta aquilo que ele vê. Além disso, por o organismo humano ser extremamente adaptável e flexível, grupos diferentes podem ter imagens diferentes de uma mesma realidade exterior.

Desse modo, em detrimento do contexto espacial de implantação da Praça Costa Pereira vale destacar a persistência de seu caráter histórico, como o Teatro Carlos Gomes, que foi o aspecto mais percebido na paisagem, em virtude da sua importância histórica, cultural e arquitetônica no cenário da capital capixaba. Esse fato é evidenciado tanto nas respostas dos voluntários na entrevista quanto nos resultados dos mapas de calor realizados com o dispositivo eye tracker Neon que indicou um maior número de fixações na fachada do teatro. Contudo, constata-se a importância do espaço público e que a inserção do mesmo no cenário urbano, se estruturado e bem posicionado criam uma experiência imersiva aos usuários, como a Praça Costa Pereira que está inserida ao entorno de um meio urbano dinâmico, mas por ser um ambiente arborizado, sombreado e caminhável, configura um espaço de permanência.

A Pesquisa identificou uma lacuna de trabalhos que aplicam o rastreamento ocular na arquitetura, essa investigação buscou trazer contributos para essa lacuna, com dados quantitativos para avaliar a percepção da Praça Costa Pereira. Todavia destaca-se a necessidade de futuras pesquisas que utilizem o rastreamento ocular, sobretudo na escala urbana.

#### Agradecimentos

Agradecimentos à Universidade Vila Velha (UVV) pela bolsa de iniciação científica e pela Capes pela bolsa de mestrado. Agradecimentos especiais à Fapes pelo financiamento do LEMC - Laboratório Espaço, Mente e Comportamento (edital 21/2021- Apoio à infraestrutura de pesquisa, desenvolvimento e inovação em laboratórios interdisciplinares). Agradecimento especial a todos os voluntários que participaram da pesquisa.

#### Referências

- Cullen, G. Paisagem urbana. Rio de Janeiro: Edições 70, 2022.
- Lisińska-Kuśnierz, M. & Krupa M. Suitability of Eye Tracking in assessing the visual. Buildings, 2020, 10, 20, 1-24. Doi:10.3390/buildings10020020.
- Klug, L. Vitória: sítio físico e paisagem. Vitória: EDUFES, 2009.
- Lynch, K. A Imagem da Cidade. São Paulo: Martins Fontes, 2011. Coleção Cidades.
- Merleau-Ponty, M. Fenomenologia da percepção. São Paulo: Martins Fontes, 2006.
- Nemer, L. Centro de Vitória: habitação social ontem e hoje. Serra: Milfontes, 2018.
- Mendonça, E. M. S. & Pegoretti, M. S. Entre pretérito e presente, entre transformações e permanências : inserção urbana e práticas socioespaciais a partir da praça Costa Pereira em Vitória/ES, Brasil 299 f. tese ( Doutorado em Geografia) - Universidade Federal Espírito Santo, Vitória, 2022
- Nunes, K. Paisagem afetiva do lugar: Praça Costa Pereira, Vitória-ES. 275 f. Dissertação (Mestrado em Arquitetura e Cidade) - Universidade Vila Velha, Vila Velha, 2023. Disponível em: <https://repositorio.uvv.br/handle/123456789/996>
- Mendonça, E. M. S. & Pegoretti, M. S. Forma Urbana de áreas centrais no século XXI: reflexões e possibilidades. Oculum Ensaios, 2022, 19, 1–22. <https://doi.org/10.24220/2318-0919v19e2022a527>
- Sussman, A.; Ward, J.; Hollander, J. How biometrics can help designers build better places for people. Common Edge, essays, mai. 2018. Disponível em: <https://commonedge.org/how-biometrics-can-help-designers-build-better-places-for-people/>.
- Zou, Z.; Ergan, S. Where do we look? An eye-tracking study of architectural features in building design. In: Mutis, I., Hartmann, T. (orgs.). Advances in Informatics and Computing in Civil and Construction Engineering. Springer, Cham., 2019, p. 439-446.
- Pegoretti, M. S.; Torezani, C. C. A forma urbana em perspectiva histórica: um olhar a partir da praça Costa Pereira, Vitória/ES. In Anais do XVI SIMPURB, v. 1, p. 2219-2238. Vitória: Milfontes, 2019.

## Capítulo 14

### “AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE FEZES DE GATOS DE ABRIGOS NA CIDADE DE VILA VELHA/ES”

#### Autores

Helena Reingard Leão de Melo<sup>1</sup>, Fernanda Albani Rodrigues<sup>1</sup>, Paulo Henrique P. Kuster<sup>2</sup>, Fabio Porto Sena<sup>3</sup>, Emy Hiura<sup>4</sup>, Cristiane dos Santos Honsho<sup>5\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade de Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade de Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>4</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>5</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: cristiane.honsho@uvv.br

Telefone: +55 027 99204-6535

#### Resumo

O abandono de animais é um problema global que afeta o meio ambiente, a saúde dos animais e a saúde pública. Abrigos, como em Vila Velha, Espírito Santo, são cruciais para o resgate e cuidado de animais vulneráveis. Este estudo analisou a saúde de felinos resgatados em um abrigo local, focando na presença de parasitas gastrointestinais e suas implicações. Foram coletadas amostras de sangue e fezes para exames coproparasitológicos, hematológicos e bioquímicos. Os resultados mostraram que 100% das amostras fecais tinham infecções mistas com *Ancylostoma* spp. e *Cystoisospora* spp., destacando a importância dos exames laboratoriais para um manejo adequado.

#### Abstract

Animal abandonment is a global problem that affects the environment, animal health, and public health. Shelters, such as those in Vila Velha, Espírito Santo, are crucial for the rescue and care of vulnerable animals. This study analyzed the health of felines rescued from a local shelter, focusing on the presence of gastrointestinal parasites and their implications. Blood and fecal samples were collected for coproparasitological, hematological, and biochemical examinations. The results showed that 100% of the fecal samples had mixed infections with *Ancylostoma* spp. and *Cystoisospora* spp., highlighting the importance of laboratory tests for proper management.

**Palavras-chave:** hematologia, parasitas, saude unica

## 1. Introdução

O abandono de animais constitui um problema global crescente, com repercussões significativas para o meio ambiente, a saúde dos animais e a saúde pública. Em resposta a esse desafio, abrigos de animais desempenham um papel crucial ao oferecer resgate e cuidados a animais em situação de vulnerabilidade. Em Vila Velha, estado do Espírito Santo, diversos abrigos têm se dedicado a mitigar os impactos desse problema. Neste contexto, a presente pesquisa busca aprofundar o entendimento das condições de saúde dos felinos resgatados, com foco na análise de parasitas gastrointestinais e suas possíveis implicações clínicas.

O estudo epidemiológico das doenças parasitárias em animais de companhia é fundamental para identificar e compreender a prevalência de parasitas e implementar medidas de controle apropriadas. Parasitas gastrointestinais não apenas causam sérios problemas de saúde em felinos, como desidratação, enterites, vômitos e perda de peso, mas também têm relevância significativa para a saúde pública, podendo ser zoonóticos e comprometer a saúde humana. A detecção e monitoramento desses parasitas são, portanto, essenciais para o desenvolvimento de estratégias preventivas e educativas eficazes (Gonzalez, 2005; De Lima Prado, 2022.).

O presente estudo empregou uma abordagem multifacetada para a avaliação da saúde dos gatos acolhidos por um abrigo local, incluindo exames coproparasitológicos, hematológicos e bioquímicos. O exame coproparasitológico visa identificar os gêneros de parasitas gastrointestinais por meio da detecção de ovos e larvas no caso de helmintos e cistos e oocistos de protozoários nas amostras de fezes, fornecendo dados críticos sobre a contaminação populacional (Silva, 2024) O hemograma, que inclui a contagem de glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas, bem como a avaliação da morfologia celular, oferece informações sobre possíveis condições hematológicas, como anemia e leucocitos como descrito por Weiser, (2015). Destaca-se a importância dos eosinófilos, cuja elevação pode indicar uma resposta a infecções parasitárias. A bioquímica sanguínea complementa a avaliação ao fornecer insights sobre a função hepática e renal, frequentemente comprometida por infecções parasitárias (Antunes et al., 2020)

O objetivo deste estudo é identificar e analisar os gêneros de parasitas intestinais presentes nos gatos resgatados, correlacionando essas infecções com alterações observadas nos exames hematológicos e bioquímicos. Embora alterações hematológicas sejam frequentemente observadas em gatos naturalmente infectados por endoparasitas, poucos estudos têm detalhado quais parâmetros hematológicos são afetados. Esses dados são cruciais para entender a prevalência de parasitas intestinais e desenvolver estratégias de manejo e medidas preventivas eficazes, contribuindo para a proteção da saúde dos felinos e a saúde pública em geral.

## 2. Material e Métodos

Foram coletadas 10 amostras de sangue e fezes, no mês de março de 2024, em um abrigo de animais localizado em Vila Velha, Espírito Santo. Este estudo está registrado junto ao Comitê de Ética da Universidade Vila Velha, sob o protocolo 652/2023.

As amostras foram coletadas de gatos até um ano de idade, utilizando o manejo baseado no conceito cat friendly, totalizando 10 amostras. As coletas ocorreram no período da manhã, sendo as fezes armazenadas em coletor universal e as amostras de sangue em microtubo roxo com EDTA e tubo vermelho com ativador de coágulo armazenados em caixa com gelo e transportadas para o laboratório clínico para processamento.

O exame coproparasitológico foi realizado pela técnica de Willis-Mollay (1921), baseada na flutuação de ovos leves em solução hipersaturada de NaCl. Foram obtidas 10 lâminas em todo o experimento, analisadas por microscopia óptica, em objetiva de 10x e de 40x. O resultado se deu pela identificação morfológica de ovos e oocistos nas bordas das lamínulas. Para o exame de sangue utilizou-se seringas de 5ml com scalp descartáveis e tubos de ensaio para coleta, além de gases e álcool para a higienização da pele do animal. Sendo encaminhadas para o laboratório clínico veterinário do hospital da UVV para processamento por bioquímica e

hematologia automatizadas, bem como a leitura das lâminas para o leucograma diferencial pelo patologista clínico responsável pelo laboratório.

As lâminas foram feitas por meio da técnica de esfregaço e fixação, onde se coloca uma gota do material, no caso sangue, na região próxima a parte fosca da lâmina. Depois disso, foi utilizada outra lâmina para a realização do esfregaço, onde se posiciona a lâmina em 45° sob a superfície da lâmina com o sangue, arrastando o material em direção a outra extremidade (Amedee & Dhurandhar, 2001; Kline, 1988). Feito esse processo, foi então realizada a fixação do sangue na lâmina com a utilização do corante tipo panótico rápido para coragem das lâminas, usando microscopia eletrônica para avaliação morfológica e quantitativa das células.

### 3. Resultados e Discussão

A análise das amostras fecais felinas foi realizada por meio de amostragem, visto que todos os animais compartilham das mesmas caixas de areia. Do total de 6 amostras fecais de gatos coletadas, 100% foram encontradas infecções mistas, revelando presença de dois gêneros de endoparasitas, um helminto e um protozoário respectivamente: *Ancylostoma* spp. e *Cystoisospora* spp. (tabela 1). Sendo *Cystoisospora* spp. foi o agente mais prevalente, sendo encontrado em 4 gatos (66,7%). Foram encontrados *Ancylostoma* spp. em apenas 2 gatos (33%), um helminto, refletindo uma exposição ambiental e a persistência de infecções parasitárias. Dados da literatura mostram, como citado por Silva (2024) que o diagnóstico de endoparasitoses baseia-se geralmente nos sinais clínicos e na detecção de oocisto nas fezes por meio de exames parasitológicos.

**Tabela 1.** Ocorrência da presença de ovos de protozoários e helmintos em fezes de gatos resgatados na cidade de Vila Velha.

Parasitas	Nº de amostras positivas	Ocorrência (%)
<i>Cystoisospora</i> spp.	4	66,7%
<i>Ancylostoma</i> spp.	2	33,3%

A avaliação hematológica dos gatos ocorreu através da divisão de 2 grupos baseados nos valores de referência, animais com idade igual ou inferior a 6 meses e animais acima de 6 meses até a idade adulta. Dentre as amostras, todos estavam parasitados por helmintos e/ou protozoários revelando uma grande amplitude de variação nos valores constituintes do eritrograma e do leucograma quando comparados aos valores fisiológicos, 70% dos animais apresentaram leucocitose, no diferencial de leucócitos, foram apresentadas as seguintes alterações :70% dos animais apresentaram leucocitose por neutrofilia, 60% deles monocitose e 20% eosinofilia.

**Tabela 2.** Média, desvio padrão e amplitude de variação dos valores dos parâmetros hematológicos de 05 (cinco) felinos resgatados com idade até seis meses, naturalmente co-parasitados por helmintos e protozoários.

Parâmetros Avaliados	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Valores de referência
Hemácias (10 <sup>6</sup> /µl)	4,65	0,36	4,27	5,10	3,5 – 8,0
Hemoglobina (g/dl)	7,96	0,95	7,0	9,4	7 – 14
Hematócrito (%)	25,6	0,98	24	29	22 – 38
VCM (fl)	55,58	0,82	54,18	56,21	40 – 55
CHCM (%)	31,04	1,59	29,2	32,7	31 – 35
Proteína plasmática(g/dl)	6,96	0,46	6,2	7,4	4,5 – 7,8
Leucócitos (/µl)	19.960	3.179,3	15400	24.000	6.000 - 17.000
Bastonetes (%)	0	0	0	0	0 – 150
Segmentados (%)	15907,6	3500,84	12628	20.160	2.400 – 12.750
Linfócitos (%)	2.640	947,13	1.728	4.074	1.200 – 8.500
Monócitos (%)	713,2	327,48	388	1.200	100 – 680
Eosinófilos (%)	699,2	736,44	0	1.746	0 – 1.700
Basófilos (%)	0	0	0	0	raros
Plaquetas (/µl)	305.200	121,58	148.000	435.000	230.000 - 680.000

Fonte: SCHALM's Veterinary Hematology (2010).

A leucocitose pode ser atribuída tanto à resposta frente à infecção, quanto à resposta de excitação, visto que eram filhotes recém resgatados. A resposta à excitação libera epinefrina aumentando o fluxo sanguíneo pela microcirculação levando ao desvio dos leucócitos do compartimento marginal para a circulação. A monocitose pode estar relacionada à resposta inflamatória, mesmo que esta seja uma alteração com pouca relevância, pois é entendida como o aumento na demanda de células mononucleares nos tecidos (Weiser, 2015).

Gonzáles (2005) cita que a eosinofilia é uma alteração comumente observada em infecções parasitárias e também pode ocorrer em infecções causadas por parasitas que invadem tecidos durante seu ciclo de vida. Os eosinófilos, apesar de não realizarem fagocitose, desempenham um papel crucial nesses casos ao promover a exocitose da proteína básica maior (PBM), que é tóxica para os helmintos e contribui para sua eliminação, o seu aumento é uma resposta do organismo para eliminar a presença do *Ancylostoma* spp. presente. Apenas 20%(2/10) dos animais apresentavam eosinofilia acentuada enquanto, 80% dos animais mantiveram-se dentro dos limites de referência para eosinófilos, dentre esses, 30%(3/10) dos animais apresentaram níveis de eosinófilos  $\geq 800$  eosinófilos/ $\mu\text{l}$ , enquanto apenas 20% (2/10) apresentaram níveis  $\geq 400$  eosinófilos/ $\mu\text{l}$ . Notavelmente, 20%(2/10) dos animais não apresentaram eosinófilos detectáveis em seus hemogramas. Esses resultados demonstram uma variação na resposta eosinofílica entre os indivíduos, com a maioria apresentando contagens dentro dos intervalos normais para a faixa etária específica.

Diversas alterações hematológicas foram identificadas nos gatos parasitados por helmintos e/ou protozoários. No entanto, não foi possível determinar alterações específicas relacionadas a um único parasito, o que poderia ser de grande ajuda no diagnóstico parasitológico. Assim, as alterações hematológicas observadas como leucocitose, monócitos e eosinofilia (no caso dos helmintos), podem servir como um indicativo da presença dos parasitos. Estes dados podem ser utilizados em conjunto com as técnicas de diagnóstico coproparasitológico, para se obter uma melhor avaliação da gravidade do parasitismo em seu hospedeiro.

**Tabela 3.** Média, desvio padrão e amplitude de variação dos valores dos parâmetros hematológicos de 05 (cinco) felinos resgatados com idade superior a seis meses, naturalmente co-parasitados por helmintos e protozoários.

Parâmetros Avaliados	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Valores de referência
Hemácias ( $10^6/\mu\text{l}$ )	5,55	0,56	4,99	6,19	5,0 - 10,0
Hemoglobina (g/dl)	10,14	1,58	8,4	11,7	8 - 15
Hematócrito (%)	31,2	4,44	26	37	24 - 45
VCM (fl)	56,98	2,51	55,68	61,45	39 - 55
CHCM (%)	32,48	2,04	30	34,5	30 - 36
Proteína plasmática (g/dl)	7	0,61	6,0	7,6	6,0 - 8,0
Leucócitos ( $/\mu\text{l}$ )	24.480	8.181,8	14.900	36.500	5.500 - 19.500
Bastonetes (%)	56,2	125,8	0	281	0 - 300
Segmentados (%)	16.928	9.311,24	10.800	31.390	2.500 - 12.500
Linfócitos (%)	5.832	1.929,8	3.834	8.424	1.500 - 7.000
Monócitos (%)	761	459,71	436	1.405	0 - 850
Eosinófilos (%)	902,4	750,21	447	1.944	0 - 1.500
Basófilos (%)	0	0	0	0	raros
Plaquetas ( $/\mu\text{l}$ )	453.000,4	305,63	97.000	940.000	230.000 - 680.000

Fonte: SCHALM 'S' s Veterinary Hematology (2010).

Os achados deste estudo reforçam a importância de animais errantes na epidemiologia dos parasitas gastrintestinais, em especial, das zoonoses. Devido ao fato dos gatos hospedarem a maioria desses agentes durante toda a vida, estes animais adquirem especial importância na epidemiologia das parasitoses dos animais e homens (Souza, 2023). O estudo revelou uma alta prevalência de infecções parasitárias mistas em gatos resgatados, com a presença de *Ancylostoma* spp. e *Cystoisospora* spp. As alterações hematológicas observadas, incluindo leucocitose, monocitose e eosinofilia, estão consistentemente associadas a infecções parasitárias e fornecem informações valiosas sobre o estado de saúde dos felinos (Fadila, 2024).

As infecções parasitárias mistas observadas nos gatos de abrigo, especialmente por *Ancylostoma* spp. e *Cystoisospora* spp., representam um risco significativo à saúde pública. O *Ancylostoma* spp. é amplamente conhecido por seu potencial zoonótico, causando larva migrans cutâneas em humanos, o que reforça a importância de estratégias de prevenção em locais onde o contato com animais de abrigos é frequente. Já o *Cystoisospora* spp., embora menos comum em humanos, pode resultar em quadros de diarreia e desidratação severa, especialmente em indivíduos imunocomprometidos. Esse cenário aponta para a necessidade de ações conjuntas entre saúde pública e veterinária, visando reduzir a transmissão zoonótica em áreas urbanas (CDC, 2024).

A infecção por *Ancylostoma* spp. pode resultar em anemia e desnutrição, provocadas pela perda contínua de sangue e ferro, o que compromete a saúde tanto dos animais quanto dos humanos expostos a ambientes contaminados. Estudos recentes indicam uma prevalência elevada desse parasita em populações de gatos de abrigos, com taxas que variam entre 8% e 47%, reforçando a necessidade de intervenções eficazes para reduzir a transmissão zoonótica (Silva et al., 2024).

Embora *Cystoisospora* spp. não seja diretamente zoonótica, suas infecções podem agravar quadros clínicos em animais imunocomprometidos, especialmente filhotes, que sofrem de severas diarreias. A coexistência de parasitas como *Ancylostoma* spp. e *Cystoisospora* spp. exige estratégias de manejo aprimoradas e intervenções de saúde pública, visando controlar a disseminação de zoonoses, como evidenciado em estudos realizados tanto no Brasil quanto em outras regiões do mundo (CDC, 2024; Weiss, 2015). O uso de desparasitantes regulares, somado a medidas de higiene rigorosas, é essencial para minimizar a prevalência de infecções zoonóticas, como descrito por Ramos et al. (2023) e corroborado por evidências globais sobre o impacto dessas parasitoses em ambientes urbanos (Weiss, 2015).

#### 4. Conclusões

Embora este estudo tenha identificado a presença de infecções parasitárias mistas em todos os gatos analisados, destacando a importância de exames laboratoriais na avaliação da saúde felina em abrigos, é evidente que medidas de manejo mais rigorosas e estratégias preventivas são necessárias para minimizar os riscos para a saúde dos animais e a saúde pública. A implementação de programas de controle de parasitas, aliados a práticas de higiene e saneamento adequadas, é crucial para o controle efetivo dessas infecções. Os achados, embora baseados em uma amostra limitada, sugerem que os resultados observados podem refletir condições mais amplas nos abrigos de animais, justificando estudos adicionais para confirmar essas observações e orientar intervenções mais eficazes.

#### Agradecimentos

Agradeço à Universidade Vila Velha (UVV) pela oportunidade de realizar esta pesquisa e ao Laboratório de Patologia Clínica pelo suporte técnico essencial ao desenvolvimento deste trabalho. Expresso minha gratidão aos colaboradores e professoras envolvidas, cujo auxílio foi fundamental para o andamento da pesquisa. Agradeço especialmente à minha orientadora, por seu ensino contínuo e dedicação durante todo o processo de orientação e desenvolvimento deste projeto.

## Referências

- Antunes, T. A. Frequência de helmintos em amostras fecais de cães em praças públicas de Pelotas-RS. PUBVET. 14(8): 1-6 (2020)
- CDC. DPDx - Cystoisosporiasis. Atlanta: CDC, 2024. Disponível em: <https://www.cdc.gov/cystoisospora/hcp/clinical-care/index.html>. Acesso em: 03 set. 2024.
- De Lima Prado, M. C. M. et al. Avaliação hematológica e bioquímica sérica de cães portadores de parasitos intestinais do município de Lagoa Santa, Minas Gerais. 2022.
- Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 4. ed. ampl. -- Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
- Fadila, KA e Kusumarini, S. . (2024). Diagnóstico, perfil hematológico e tratamento da cistoisosporíase em cães domésticos. Veterinário Jurnal Medik , 7 (1), 205–211. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol7.iss1.2024.205-211>
- Gonzáles, F. H. D. & SANTOS, A. P. (2005). Anais do 2 Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região sul do Brasil, realizado em Porto Alegre, no ano de 2005. Porto Alegre: UFRGS.
- Souza, Juliana Bruno Borges et al. Prevalence of intestinal parasites, risk factors and zoonotic aspects in dog and cat populations from Goiás, Brazil. Veterinary Sciences, v. 10, n. 8, p. 492, 2023.
- Silva, Júlia Cristina Oliveira da. Isosporose em felino: relato de caso. Orientador: Manuella Rodrigues de Souza Mello. 2023. 21f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - UNICEPLAC - Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, 2023.
- Urquhart, G. M. et al. Parasitologia veterinária. Acribia, 2001
- Weiser, Glade. Interpretação da Resposta Leucocitária nas Doenças. In: THRALL, Mary Anna et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. São Paulo: Roca Ltda, 2015. Cap. 12. p. 276-305.
- Weiss, D. J.; WARDROP, K. J. (Ed.). Schalm 's veterinary hematology. John Wiley & Sons, 2011.

## Capítulo 15

### “MEMÓRIAS DAS MULHERES POMERANAS DA OASE DE SANTA MARIA DE JETIBÁ”

#### Autores

Hennely Campos Rosa<sup>1</sup>, Karla Fernanda da Silva Kiister<sup>2</sup>, Melissa Ramos da Silva Oliveira<sup>3\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Faculdade do Centro Leste (UCL), Serra, ES

<sup>3</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Arquitetura e Cidades (PPGAC), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: melissa.oliveira@uvv.br

Telefone: +55 11 96744-4302

#### Resumo

Os imigrantes pomeranos, no contexto do Espírito Santo/ES, foram importantes no processo de ocupação do território, ao fundarem algumas cidades, como Santa Maria de Jetibá. O objetivo principal deste artigo é caracterizar aspectos da cultura pomerana a partir das memórias evocadas do grupo de senhoras da Oase-Jequitibá. O estudo evidencia a riqueza cultural de Santa Maria de Jetibá e a importância das práticas de preservação da memória coletiva na manutenção da identidade pomerana, ressaltando a relevância da história oral como um método eficaz para documentar e preservar as tradições de uma comunidade.

#### Abstract

The Pomeranian immigrants, in the context of Espírito Santo/ES, played a significant role in the process of territorial occupation by founding several towns, such as Santa Maria de Jetibá. The main objective of this article is to characterize aspects of Pomeranian culture through the memories evoked by the group of women from Oase-Jequitibá. The study highlights the cultural richness of Santa Maria de Jetibá and the importance of preserving collective memory in maintaining Pomeranian identity, emphasizing the relevance of oral history as an effective method for documenting and preserving a community's traditions.

**Palavras-chave:** Pomeranos, memória coletiva, culinária pomerana, língua pomerana, OASE, Santa Maria de Jetibá.

## 1. Introdução

Os pomeranos, originários da Pomerânia, uma região situada entre a Alemanha e a Polônia, chegaram ao Brasil em meados do século XIX. O primeiro grupo de imigrantes desembarcou no porto de Vitória, Espírito Santo, por volta de 1859 (Rölke, 1996). A chegada desses colonos marcou o início de uma jornada de adaptação a um novo ambiente, onde enfrentaram desafios como o clima tropical e a geografia montanhosa. A maioria dos imigrantes pomeranos se fixou na região de Luxemburgo e, posteriormente, em Jequitibá por volta de 1880 (Rölke, 1996) - que anos mais tarde deu origem ao município de Santa Maria de Jetibá. Nesse contexto, difundiram seus costumes e tradições, perpetuando sua cultura e consolidando sua ocupação no território.

Santa Maria de Jetibá se destaca por ser o município brasileiro com a maior concentração de descendentes pomeranos. Esta comunidade conseguiu preservar sua identidade cultural ao longo dos séculos, em grande parte devido ao isolamento geográfico e à forte coesão social. A língua pomerana, por exemplo, ainda é falada por muitos habitantes, e as práticas religiosas luteranas continuam a desempenhar um papel central na vida comunitária.

A história da igreja Luterana de Jequitibá se difundiu em paralelo à ocupação da região de Jequitibá. Em decorrência das longas distâncias e do terreno bastante acidentado, os fiéis perceberam a dificuldade para chegar ao templo, tanto para o culto quanto para educação das crianças diariamente. Assim, em 1882 inauguraram o primeiro templo oficial da igreja luterana, conhecido como “templo mãe”.

A Ordem Auxiliadora de Senhoras Evangélicas (OASE) constitui um grupo de mulheres vinculada à Paróquia evangélica de confissão Luterana de Jequitibá, localizada no distrito de Caramuru, município de Santa Maria de Jetibá-ES. Fundada em 1971, a OASE reúne mulheres da comunidade que, além de se dedicarem ao estudo bíblico, são responsáveis por manter vivas as práticas culturais pomeranas, como o preparo de alimentos tradicionais e a organização de eventos comunitários. Esse grupo foi escolhido como objeto de estudo porque desempenha um papel vital na preservação dessas tradições.

O objetivo principal deste artigo é caracterizar aspectos da cultura pomerana a partir das memórias evocadas do grupo de senhoras da Oase-Jequitibá. Como objetivo secundário, a pesquisa buscou: a) documentar as narrativas dessas mulheres; b) produzir um livreto com o registro dessas narrativas. A pesquisa teórico-exploratória, de abordagem qualitativa, utilizou a história oral para evocar as memórias dessas mulheres. A pesquisa foi dividida em quatro etapas: a) revisão de literatura e conceitos; b) análise das narrativas; c) produção do livreto.

## 2. Metodologia

O presente estudo foi realizado junto a um grupo específico de senhoras pertencentes à Ordem Auxiliadora de Senhoras Evangélicas (OASE), uma organização de mulheres da Igreja Evangélica de Confissão Luterana no Brasil. Adotou-se a metodologia de Kiister (2024), que trabalhou com participantes, com idades variando de 36 a 84 anos, residem na comunidade luterana pomerana de Jequitibá, localizada no município de Santa Maria de Jetibá, Espírito Santo. Essa comunidade é reconhecida por sua forte herança cultural pomerana e as senhoras envolvidas são guardiãs das tradições, memórias e práticas religiosas que caracterizam a identidade coletiva desta região.

A pesquisa utilizou a história oral como método principal para coletar e preservar as memórias e narrativas dessas senhoras. Paul Thompson (2002) define a história oral como uma forma de interpretar a história e as transformações nas sociedades e culturas por meio de relatos orais que capturam memórias e experiências. Esses relatos são registrados através da percepção auditiva do entrevistador. Além disso, a história oral é vista como interdisciplinar, pois ilustra a interação humana de maneira que ultrapassa as fronteiras das diversas disciplinas envolvidas.

Neste estudo, a história oral foi utilizada para documentar as experiências individuais e coletivas das mulheres da Oase, capturando suas memórias de infância, práticas religiosas, culinária tradicional, e outros aspectos da vida cotidiana que formam a base da cultura pomerana. Destaca-se que as narrativas foram coletadas pela dissertação de mestrado “Memórias de Jequitibá: história oral e patrimônio cultural pomerano da comunidade luterana de Santa Maria de Jetibá reconhecido pelas senhoras da Oase” da pesquisadora Ms. Karla Fernanda da Silva Kiister. Esse trabalho efetuou a análise dessas narrativas para produzir o livreto.

## 2.1. Etapas da Pesquisa

A metodologia foi estruturada em três etapas principais:

- a) Revisão de literatura e conceitos: realização de uma revisão extensiva da literatura sobre a cultura pomerana, história da imigração e as tradições orais, para contextualizar a pesquisa e fornecer um embasamento teórico robusto.
- b) Análise das narrativas: a partir das transcrições da pesquisa de Kiister (2024), realizou-se a análise das falas das senhoras para identificar temas recorrentes, símbolos culturais e elementos que poderiam caracterizar a identidade coletiva da comunidade de Jequitibá. Esta etapa permitiu a compreensão das principais narrativas que moldam a memória das senhoras da Oase.
- c) Produção do Livreto "Memórias de Jequitibá": Com base na análise das narrativas, as falas foram divididas em cinco categorias (gastronomia, casamento, religiosidade, língua pomerana e trabalho e vida cotidiana) para caracterizar a cultura pomerana e organizar as histórias e memórias das senhoras da OASE. A produção do livro contemplou tanto a produção textual quanto a sua produção gráfica (Figura 6).

## 3. Revisão de Literatura

### 3.1 Memórias

Halbwachs (1990) descreve a memória como um fenômeno social, no qual ela é construída coletivamente. Para o autor, a memória pode ser individual ou coletiva, demonstrando a relação do indivíduo com o seu meio.

Do ponto de vista antropológico, as memórias orais são essenciais para a preservação cultural, especialmente em sociedades onde a transmissão escrita é limitada. Paul Connerton (2000) destaca que as práticas de memória, assim como a narração de histórias e tradições orais são fundamentais para a perpetuação da cultura e da identidade comunitária.

A memória é como um tecido a ser bordado, onde cada lembrança é um fio delicado que se entrelaça para formar a trama única da nossa história. A preservação da memória coletiva e a identidade cultural da comunidade pomerana de Santa Maria de Jetibá ressoa profundamente com os temas discutidos por Ecléa Bosi em seu livro *Memória e Sociedade: Lembranças de Velhos*. Bosi (1987) aborda a memória dos idosos como um patrimônio imaterial que carrega a história e a cultura de uma sociedade, algo que é particularmente relevante no contexto de Santa Maria de Jetibá, onde a oralidade e as lembranças das senhoras da Ordem Auxiliadora de Senhoras Evangélicas (OASE) desempenham um papel crucial na manutenção da identidade cultural pomerana.

Bosi (1987) argumenta que a memória dos mais velhos não é apenas um depósito de lembranças individuais, mas um repositório da memória coletiva de um grupo social. Da mesma forma, na comunidade em questão, as memórias das senhoras não pertencem apenas a elas como indivíduos, mas são representativas da história e das tradições da comunidade pomerana. Esses relatos pessoais, transmitidos oralmente, funcionam como um elo entre o passado e o presente, mantendo viva a cultura de um povo.

Bosi (1987) também enfatiza o papel do idoso como transmissor de cultura e valores, destacando a importância da continuidade geracional para a preservação das tradições. Este conceito está presente na pesquisa sobre as memórias das senhoras, onde a transmissão de práticas culturais como a culinária, a língua pomerana, e as tradições religiosas são elementos centrais para a perpetuação da identidade pomerana na comunidade.

### 3.2 Igreja Luterana

A história da Paróquia Luterana de Jequitibá está vinculada à história da paróquia de Luxemburgo, que desde o início da colonização foi o local de culto dos colonos da localidade. Vale destacar que essa região, foi no passado denominada de “Alta Pomerânia”, por ter sido colonizada pela primeira leva de imigrantes que vieram para o interior do Espírito Santo. A grande distância a ser percorrida pelos colonos de Jequitibá até Luxemburgo culminou na necessidade de construção de um novo templo, de mais fácil acesso, de modo a permitir que as crianças pudessem frequentar as aulas e os cultos (Kiister, Oliveira e Campos, 2024). Nesse contexto, em 1881, decidiu-se construir uma igreja na comunidade de Jequitibá. A igreja, construída em regime de mutirão, consistia de uma construção simples, “sem uma torre central, apenas com uma estrutura de madeira ao lado que serviria de apoio para os sinos. Atrás da igreja foi construída a casa pastoral” (Kiister, Oliveira e Campos, 2024, p. 15).

Com a fundação do município de Santa Maria de Jetibá, a Igreja Luterana continuou a desempenhar um papel crucial na formação e coesão da comunidade pomerana. Além de ser um local de culto e espiritualidade, a igreja serviu como um espaço de perpetuação da cultura pomerana. O idioma pomerano, por exemplo, foi mantido vivo por meio de cultos e eventos religiosos, que ajudaram a garantir que as tradições fossem passadas de geração em geração. Assim, a Igreja Luterana neste espaço é mais do que uma instituição religiosa. Ela é um pilar da comunidade, um espaço de integração social e um guardião das tradições e valores que moldaram a vida dos imigrantes pomeranos e seus descendentes na região. Para Kiister (2024), a igreja de Jequitibá representa a força e a fé pomerana, pois a maneira pela qual ela foi estruturada representa um verdadeiro exemplo da importância da religião luterana na vida dessa comunidade.

### 3.3 Patrimônio pomerano

A partir das narrativas coletadas e das memórias evocadas durante as rodas de conversa e das entrevistas individuais foi possível identificar os elementos singulares da cultura pomerana, tais como a gastronomia (Figura 1), o casamento pomerano (Figura 2), a forte religiosidade (Figura 3), a língua pomerana (Figura 4) e artefatos singulares do cotidiano vinculados a casa ou ao trabalho (Figura 5). Todas essas categorias foram analisadas separadamente no livreto (Figura 6) produzido sobre a cultura pomerana, disponível no repositório pelo link: <https://repositorio.uvv.br//handle/123456789/1278>.



Figura 1. Gastronomia. Produção do Brot (pão pomerano)



Figura 2. Casamento. Registros fotográficos de casamentos pomeranos, com destaque aos aspectos culturais e tradicionais do evento.



Figura 3. Religiosidade. a) Senhoras do grupo Oase-Jequitibá; b) Altar principal da Paróquia Evangélica de Confissão Luterana em Santa Maria de Jetibá; c) Altar da Igreja Luterana da Comunidade de Jequitibá.



Figura 4. Língua Pomerana  
 A: Placas de ambiente da casa em pomerano com tradução para o português  
 B: Bíblia na língua pomerana



Figura 5. Trabalho e vida cotidiana. a) Objetos residenciais cotidianos presentes numa casa pomerana tradicional; b) Artefatos utilizados em atividades agrícolas e domésticas cotidianas; c) Ferramentas de trabalho utilizadas na agricultura e marcenaria

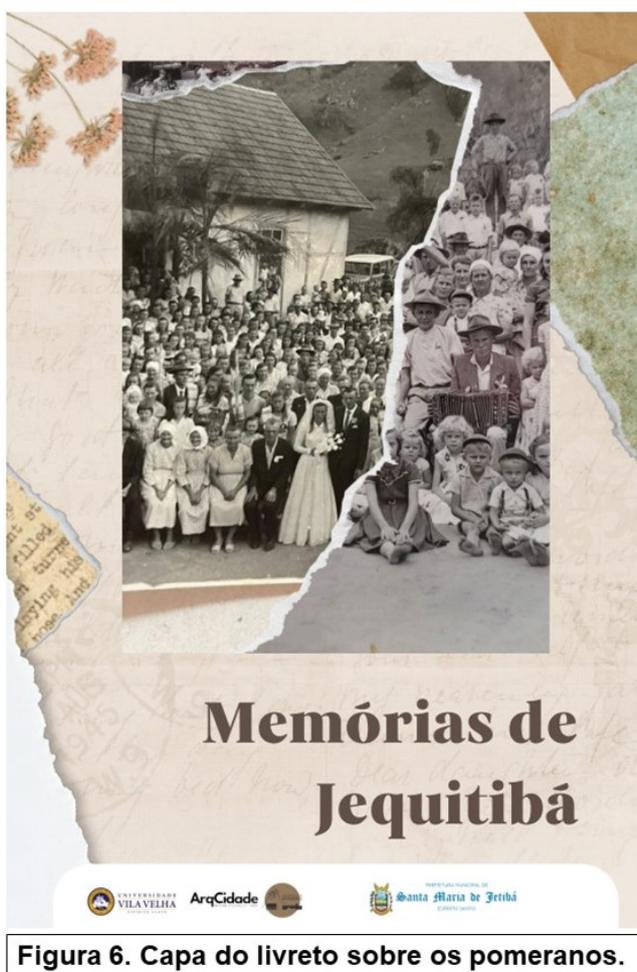


Figura 6. Capa do livreto sobre os pomeranos.

#### 4. Considerações Finais

A pesquisa mostrou que as memórias coletivas desempenham um papel vital na manutenção da identidade e do sentimento de pertencimento dentro de uma comunidade. Elas permitem que as histórias e tradições da comunidade sejam transmitidas para as futuras gerações, garantindo a continuidade de sua cultura única. No nível individual, as memórias evocadas durante as entrevistas não constituem apenas lembranças pessoais, mas também carregam o peso da memória coletiva da comunidade. Isso é particularmente evidente nas histórias, lembranças e receitas que foram compartilhadas, refletindo tanto a trajetória pessoal dessas mulheres quanto a herança cultural da comunidade pomerana à qual pertencem. Desse modo, esse estudo foi essencial para registrar as memórias individuais e coletivas das mulheres da Oase-Jequitibá, abordando suas histórias de vida, lembranças e receitas tradicionais.

Essa pesquisa contribui significativamente para os estudos de memória, identidade e patrimônio cultural, ressaltando a importância de se documentar e valorizar as histórias de vida de comunidades tradicionais, especialmente em um contexto onde as transformações sociais e culturais são inevitáveis. O estudo sublinhou o papel fundamental das memórias na transmissão de valores culturais e na perpetuação da identidade pomerana para as gerações futuras. As histórias e lembranças compartilhadas pelas participantes servem como uma ponte entre o passado e o presente, assegurando que a herança cultural continue viva e relevante.

O projeto resultou na criação de um livreto que cumpre uma dupla função: serve tanto como um registro valioso das memórias da comunidade pomerana de Santa Maria de Jetibá quanto como um recurso educativo para as gerações futuras. O livreto "Memórias de Jequitibá" (Kiister, Oliveira e Campos, 2024) captura e preserva as histórias, tradições e práticas culturais das senhoras da Ordem Auxiliadora de Senhoras Evangélicas (OASE), oferecendo um retrato vivo da identidade pomerana.

O livro não é apenas um registro histórico, mas uma ferramenta educativa que permitirá às futuras gerações compreender e valorizar a rica herança cultural de Santa Maria de Jetibá. Ao perpetuar essas memórias, o projeto assegura que a cultura pomerana continue a ser uma parte vibrante e reconhecida na história do Brasil. Além disso, o livreto apresenta uma coletânea de memórias fotográficas, tanto as antigas quanto as recentemente tiradas, de uma riqueza única. Em suma, o livro serve como um registro permanente e acessível dessas tradições orais, contribuindo para a preservação da cultura pomerana em Santa Maria de Jetibá.

### Agradecimentos

Agradecimento especial às senhoras da Oase por compartilharem suas memórias.

### Referências

- Bahia, Joana. O tiro da bruxa: identidade, magia e religião na imigração alemã. Rio de Janeiro: Garamond, 2011.
- Bosi, Ecléa. Memória e Sociedade: Lembranças de Velhos. São Paulo: Edusp, 1987.
- Connerton, Paul. Como as sociedades recordam. Oeiras: Celta, 1999.
- Foerste, Erineu. Cultura e língua pomeranas: diálogos interculturais sobre ensino bilíngue. In: Anais Seminário Ibero-americano de Diversidade Linguística, Foz do Iguaçu, 2014. Cultura e Língua Pomeranas: diálogos interculturais sobre ensino bilíngue (unila.edu.br)
- Halbwachs, Maurice. A memória coletiva. São Paulo: Vértice/Ed. dos Tribunais, 1990.
- Kiister, Karla Fernanda da Silva. Memórias de Jequitibá: história oral e patrimônio cultural pomerano da comunidade luterana de Santa Maria de Jetibá reconhecido pelas senhoras da Oase. Dissertação (Mestrado em Arquitetura e Cidade), Universidade Vila Velha, Vila Velha, 2024. Disponível em: COLLAB UVV: Memórias de Jequitibá: história oral e patrimônio cultural pomerano da comunidade luterana de Santa Maria de Jetibá reconhecido pelas senhoras da OASE
- Kiister, Karla Fernanda da Silva; Oliveira, Melissa Ramos da Silva; Rosa, Hennely Campos. Memórias de Jequitibá. Vitória: Diálogo, Comunicação e Marketing, 2024. Disponível em: COLLAB UVV: Memórias de Jequitibá
- Rölke, Helmar Reinhard. Descobrimos raízes, aspectos geográficos, históricos e culturais da Pomerânia. Vitória: Edufes, 1996.
- Thompson, Paul. A voz do passado: história oral. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 2002.

## Capítulo 16

### “EFEITO DO PROBIÓTICO KEFIR SOBRE OS SINAIS CLÍNICOS E PERMEABILIDADE INTESTINAL EM MODELO EXPERIMENTAL DE COLITE ULCERATIVA”

#### Autores

Homero Gava Valani<sup>1</sup>, Laura Campos Patez<sup>1</sup>, Alice Rosa Fernandes Bis<sup>2</sup>, Raquel Fernandes Paiva<sup>3</sup>, Larissa Zambom Côco<sup>4</sup>, Rafaela Aires<sup>5</sup>, Bianca Prandi Campagnaro<sup>5\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Medicina, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Discente do Curso de Nutrição, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Faculdade Multivix Vitória, Vitória, ES

<sup>4</sup>Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>5</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: bianca.campagnaro@uvv.br

Telefone: +55 027 99942-5168

#### Resumo

A colite ulcerativa é uma doença intestinal inflamatória e crônica de caráter debilitante. O estudo investiga o efeito do Kefir em um modelo experimental de colite ulcerativa em camundongos, visando avaliar sua capacidade de reduzir sintomas clínicos e modular a permeabilidade intestinal. Os camundongos foram tratados com Kefir após a indução da colite, e os sintomas foram monitorados por cinco dias. Os resultados mostram que o Kefir reduz significativamente os sinais clínicos da doença, como diarreia e perda de peso, mas não altera a permeabilidade intestinal. Portanto, o trabalho demonstrou o kefir como uma promissora terapia para a Colite Ulcerativa.

#### Abstract

Ulcerative colitis is a chronic inflammatory bowel disease that is debilitating in nature. The study investigates the effect of kefir in an experimental model of ulcerative colitis in mice, aiming to assess its ability to reduce clinical symptoms and modulate intestinal permeability. The mice were treated with kefir after the induction of colitis, and symptoms were monitored for five days. The results show that kefir significantly reduces the clinical signs of the disease, such as diarrhea and weight loss, but does not alter intestinal permeability. Therefore, the study demonstrated kefir as a promising therapy for ulcerative colitis.

**Palavras-chave:** Doença inflamatória intestinal; Microbiota intestinal; Terapia probiótica;

## 1. Introdução

A colite ulcerativa é classificada como uma doença inflamatória intestinal, que tem início, em geral, entre a segunda e quarta décadas de vida (DU; HA, 2020). Porém, essa faixa etária tem diminuído em muitos países, devido a mudanças nos padrões alimentares, no estilo de vida e ao aumento dos poluentes ambientais, principalmente em áreas urbanas. Essas transformações também afetam a prevalência da doença, que vem crescendo em todo mundo, com destaque para países em desenvolvimento, como o Brasil (DU; HA, 2020; KOBAYASHI et al, 2020). A barreira intestinal é composta pelo conteúdo luminal, incluindo a microbiota, e pelo epitélio revestido por uma camada de muco que juntos protegem o intestino contra agressores e sua funcionalidade pode ser prejudicada com agressões em cada um desses níveis (CAMILLERI et al, 2012). Por exemplo, o uso prolongado de antibióticos ou uma mudança no padrão alimentar podem levar a um desequilíbrio da composição da microbiota intestinal, conhecido como disbiose (DU; HA, 2020; KOBAYASHI et al, 2020). Na disbiose, a substituição de cepas de bactérias que produzem ácidos graxos de cadeia curta, que possuem propriedades protetoras e anti-inflamatórias, pode reduzir secreção de mucina, aproximação da microbiota com o epitélio intestinal e favorecer a apresentação de antígenos às células T da lâmina própria. Esse processo pode desencadear inflamação local afastando as células e por conseguinte aumentado a permeabilidade intestinal, conferindo à doença um caráter crônico, progressivo e debilitante (PORTER; HALLA; HO, 2020; KOBAYASHI et al., 2020; GUO; LIU; HAO, 2020; KESHTLI et al, 2019). A lesão da colite ulcerativa se restringe a mucosa, iniciando na região do reto e progredindo ao cólon (DU; HA, 2020; KOBAYASHI et al, 2020). Os indivíduos com essa condição podem apresentar sintomas clínicos, como hematoquezia, diarreia com muco, perda de peso, sangramento retal e dor abdominal, que incapacitam suas rotinas habituais (KAENKUMCHORN; WAHBEH, 2020; KOBAYASHI et al, 2020). Dessa forma, a qualidade de vida do paciente pode ser afetada nos âmbitos psicológico, familiar, social e profissional (PALAMENGI et al, 2022; KOBAYASHI et al, 2020). Atualmente, o manejo terapêutico visa a remissão da doença com a utilização do ácido 5-aminossalicílico presente na sulfassalazina. Contudo, esse fármaco apresenta efeitos adversos como dispepsia, náuseas, diarreia e cefaleia, que prejudicam a qualidade de vida (G GAJENDRAN et al, 2019). Em busca de alternativas terapêuticas para a colite, diversos estudos têm mostrado que os probióticos podem ser eficazes no tratamento da colite, no alívio dos sintomas e prevenção de sua recidiva. Os probióticos são organismos vivos, normalmente produtores de ácido lático que, apesar de possuírem diversas funções dependendo das cepas bacterianas, são, em sua totalidade, capazes de modular o sistema imune local e modular a disbiose do paciente, tornando-os altamente relevantes para a fisiopatologia da doença. (JAKUBCZYK; LESZCZYŃSKA; GÓRSKA, 2020; KAUR et al, 2020; MARTYNIAK et al, 2021). Neste contexto, trabalhos recentes destacam o uso do probiótico Kefir como uma terapia adjuvante promissora, para promover melhora da qualidade de vida e dos sinais e sintomas clínicos da colite ulcerativa (YILMAZ; DOLAR; ÖZPINAR et al, 2019). O uso de Kefir na colite ulcerativa é justificado não apenas por suas propriedades anti-inflamatórias, mas também por sua capacidade de corrigir a disbiose, e produzir metabolitos antimicrobianos, prevenir o câncer colorretal, uma complicação comum em pacientes com colite, e produzir ácidos graxos de cadeia curta, que atuam na proteção da barreira intestinal (AZIZI et al, 2021). Assim, visão objetivo do estudo foi avaliar o efeito do Kefir de leite sobre os sintomas clínicos da doença e a permeabilidade da barreira intestinal em modelo experimental de colite ulcerativa.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Seleção de animais

A pesquisa foi realizada com camundongos machos da linhagem Balb/c, com peso de 20 a 25g, do biotério da Universidade Vila Velha (UVV) e mantidos em gaiola, com água e comida à vontade e mantendo o ciclo claro/escuro (12h/12h). O projeto foi aprovado Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA UVV: N° 606-2021) e os procedimentos realizados de acordo com as diretrizes de cuidados recomendados pelo National Institutes of Health.

## 2.2. Kefir

O Kefir utilizado foi adquirido no formato de capsula da Active Kefir composta pelas espécies *Bifidobacterium longum* BL986, *Lactobacillus acidophilus* LA1063, *Lactobacillus fermentum* LF26, *Lactobacillus helveticus* LH43, *Lactobacillus Paracasei* LPC12, *Lactobacillus rhamnosus* LRH10 e *Streptococcus thermophilus* ST30. Esta foi aberta e diluída em solução salina 0,9% m/v. Por fim, o líquido foi dividido em amostras de 1ml contendo 108 UFC e congelado a -20°C (FRIQUES et al, 2015).

## 2.3. Desenho experimental e indução da colite

Para a indução da colite, os animais foram anestesiados com solução de cetamina (75 mg/kg, i.p.) e xilazina (10 mg / kg, i.p.), em seguida, administrado, por via retal, de 1ml de solução de 50% TNBS e 50% etanol no lúmen do cólon do animal (2cm do ânus) com cateter de poliuretano 3,5F conectado em uma seringa de 1ml. Os animais ficaram em posição vertical para garantir o contato com a mucosa do colón por 5 minutos (Zhu et al, 2019). Os animais foram então divididos aleatoriamente em 5 grupos: CONTROLE: Os animais receberam somente solução 50% etanol via retal, sem TNBS então não foram induzidos para colite e foram tratados por via oral com Veículo (0,1 ml de solução salina 0,9% m/v diariamente); A partir daqui todos os animais foram induzidos para colite conforme mostrado acima: COLITE: Os animais foram tratados com veículo (0,1 ml de solução salina 0,9% m/v diariamente); KEFIR: Os animais foram tratados com a solução da capsula de Kefir com solução salina 0,9% m/v na dose de 107 UFC que correspondem a 0,1 ml. O tratamento iniciou um dia após a indução e se estendeu por 5 dias. O peso corporal, a consistência fecal e o comportamento dos animais foram medidos diariamente. Os animais foram eutanasiados no sétimo dia com tiopental 60mg/kg avaliação da permeabilidade intestinal (KUMAR et al, 2015).

## 2.4. Índice da atividade da doença (DAI)

O DAI é uma métrica utilizada para medir os sintomas clínicos da doença, essa métrica utiliza os parâmetros de perda de peso, consistência das fezes, dor e alterações comportamentais, colhidos diariamente nos dias 2 ao 6 de tratamento dos animais e são apresentados conforme a tabela 1 (Bueno et al, 2022).

## 2.5. Permeabilidade intestinal

a obtenção do nível de permeabilidade intestinal foi realizada através da administração de FITC-dextrano (4-kDa). Os animais foram mantidos em jejum por 16 horas e em seguida realizada a administração do FITC-dextrano na concentração de 600mg/kg via oral. Após 2 horas da aplicação, os animais foram eutanasiados com 150mg/kg de tiopental para coleta do sangue. Então o sangue foi centrifugado por 10 minutos a 7200G. em seguida o plasma foi analisado para avaliar a concentração do FITC absorvido para o sangue através do espectrofotômetro (Spectra-MAX-190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) com comprimento de onda de excitação de 485nm e de emissão de 528nm. Os resultados foram expressos pela curva padrão em pg/ml de FITC-dextrano (Volynets et al, 2015; Woting et al, 2018).

**Tabela 1:** Índice da atividade da doença

Observações	Escores
Aparência visual	<b>0:</b> Normal (Pelo liso e brilhante) <b>1:</b> Moderado (pelo um pouco desorganizado ao redor do pescoço) <b>2:</b> Médio (pelagem levantada ao redor do pescoço e barriga) <b>3:</b> Elevado (pelagem levantada em todo o animal) <b>4:</b> Elevado (olho/boca/ânus com crostas, postura anormal)
Comportamento	<b>0:</b> normal (Contato social, interessado, dorme em grupo, reage ao toque) <b>1:</b> moderado (agitado) <b>2:</b> médio (marcas de estresse nos olhas, nariz e patas) <b>3:</b> elevado (marcas de estresse com curva no corpo)
Atividade	<b>0:</b> normal (movimento ao levanta a tampa) <b>1:</b> moderado (Movimento uma vez que a mão é colocada perto dos camundongos) <b>2:</b> médio (Movimento somente após pegar os camundongos; inativo, isola-se do grupo) <b>3:</b> elevado (mobilidade reduzida - Sem movimentos ao manusear os camundongos)
Dor	<b>0:</b> normal (sem sinais de dor) <b>1:</b> baixo (contrações abdominais raras, mas existentes, ativo em grupo, subida normal) <b>2:</b> moderado (padrão de marcha ligeiramente alterado, espasmos abdominais raros, postura curvada não permanente) <b>3:</b> médio (padrão de marcha alterado, contrações abdominais mais frequentes, padrão respiratório alterado) <b>4:</b> elevado (contrações abdominais frequentes, pelo áspero, temperatura corporal diminuída, respiração elevada)
Perda de peso (%)	<b>0:</b> estável/ganhando <b>1:</b> perda de peso <5% <b>2:</b> perda de peso 5-10% <b>3:</b> perda de peso 11-15% <b>4:</b> perda de peso ≥15%
Consistência fecal	<b>0:</b> normal (grânulos normais) <b>1:</b> fezes levemente úmidas ou macias (diarreia leve) <b>2:</b> pellets moderadamente úmidos ou macios, e não formados (diarreia moderada) <b>3:</b> fezes aquosas ou soltas (diarreia grave)
Sangue nas fezes	<b>0:</b> normal (sem sangue nas fezes) <b>1:</b> baixo (vestígios de sangue isolados nas fezes) <b>2:</b> moderado (sangue nas fezes claramente visível) <b>3:</b> médio (sangue isolado na gaiola visível) <b>4:</b> elevado (sangue na gaiola claramente visível)
Sangue perianal	<b>0:</b> normal (sem sangramento) <b>2:</b> médio (pouco sangramento) <b>4:</b> elevado (sangramento maciço / sem defecação)
Score total	

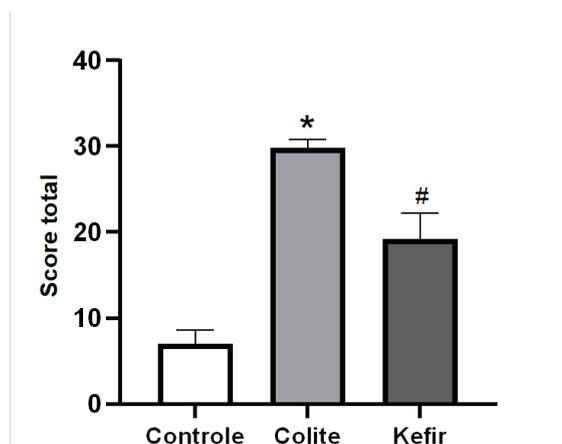
## 2.6. Análise estatística

O teste de normalidade foi avaliado utilizando teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados foram analisados com ANOVA uma via, seguido de teste post-hoc de Tukey. Foi utilizado o software Prisma (Prisma 8.0, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM e as diferenças serão consideradas significativas quando  $p \leq 0,05$ .

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Efeito da administração do Kefir sobre os sinais e sintomas clínicos da Doença

Os sinais e sintomas clínicos foram avaliados pelo score do índice da doença resultante no último dia de tratamento como mostra a figura 1. Dessa forma, observa-se que os sinais e sintomas apresentados pelos animais do grupo colite ( $29,8 \pm 0,9$ ) acumularam um escore DAI significativamente maior comparado com o grupo controle ( $7,0 \pm 1,6$ ) indicando uma atividade maior da doença durante todo o ciclo de tratamento. O grupo Kefir ( $19,1 \pm 3,0$ ) por sua vez apresentou um DAI significativamente menor que o grupo colite, indicando que os sinais e sintomas clínicos da doença foram menores que o grupo colite.



**Figura 1:** Resultante do Índice da doença (DAI) ao final do tratamento. Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  erro padrão da média. \* $p < 0,05$  vs. Controle. # $p < 0,05$  vs. Colite (ANOVA – uma via, seguido de *post hoc* de Tuckey).

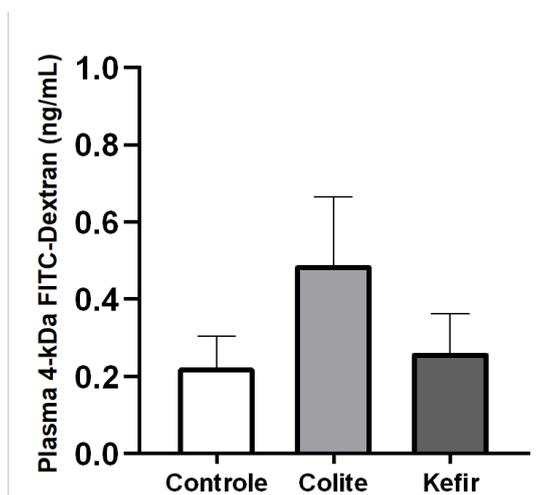
O trabalho em questão demonstrou benefícios clínicos na administração de Kefir por 5 dias em modelos experimentais de colite induzida por TNBS. A Colite ulcerativa por se tratar de uma doença crônica de caráter progressivo, gera sintomas como diarreia, disenteria, dor abdominal e perda de peso que são impactantes para a qualidade de vida do indivíduo (PALAMENGGHI et al, 2022; KOBAYASHI et al, 2020). Esses sinais clínicos foram contabilizados a partir do DAI que leva em consideração o comportamento, peso, consistência das fezes e presença de sangue nas fezes dos animais avaliados. Para tanto, foi observado que a resultante final dos 5 dias de administração de Kefir foi significativamente menor do que o grupo Colite, demonstrando uma diminuição dos sinais clínicos ao curso da doença e uma considerável melhora na qualidade de vida dos tratados.

Em modelo experimental de colite induzida por TNBS tratada com kefir comercial por 14 dias, Sevencan e colaboradores (2019) conseguiram concluir que a administração deste tratamento fosse capaz de diminuir a incidência de diarreia e sangramento retal colaborando para a melhora clínica da doença, resultado de acordo com os achados nesse estudo. O estudo de Nascimento da Silva e colaboradores (2022) com modelo experimental de colite induzida por DSS em ratos Wistar tratados com kefir de leite por 6 dias obteve resultados que também tiveram uma melhora clínica significativa no DAI. Senol e colaboradores (2015) também realizaram um trabalho semelhante com colite induzida por DSS tratado com kefir comercial por 5 dias e demonstrou um

resultado favorável com a diminuição significativa do DAI do grupo tratado com kefir desde o terceiro dia de tratamento. A causa dessa melhora clínica, pode ser atribuída a uma melhora significativa nos scores histológicos do grupo tratado com kefir comparado com o grupo não tratado também apresentado por esse estudo. Por outro lado, Curciarello e colaboradores (2021) avaliaram o potencial anti-inflamatório de Lactobacilos probióticos isolados de kefir nas células da lâmina própria de indivíduos com doença inflamatória intestinal (DII) in vitro. O resultado obtido foi que o *Lactobacillus Kefiri* conseguiu reduzir a secreção espontânea de IL-6 e IL-8 em células da lâmina própria de pacientes com DII e conseguiu reduzir a secreção de IL-8 em células saudáveis estimuladas com TNF- $\alpha$ , mostrando a capacidade anti-inflamatória das bactérias produtoras de ácido lático e contribuindo para a melhora clínica e histológica da doença.

### 3.2. Efeito da administração do Kefir sobre a permeabilidade intestinal

Investigou-se a influência do kefir em diminuir a permeabilidade intestinal como mostrado na figura 2. O tratamento da colite induzida por TNBS com Kefir comercial não foi capaz de aumentar significativamente a permeabilidade intestinal (Controle:  $0,22 \pm 0,07$  ng/mL; Colite:  $0,48 \pm 0,17$  ng/mL; Kefir:  $0,26 \pm 0,10$  ng/mL).



**Figura 2:** Avaliação da permeabilidade intestinal. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. ANOVA uma via, seguido de teste *post hoc* de Tukey.

Neste estudo não houve um resultado estatisticamente significativo para a avaliação do efeito do kefir sobre a permeabilidade intestinal avaliada com FITC dextran. Contudo, outros trabalhos conseguiram resultados positivos para a permeabilidade intestinal como e o caso de Zakostelska e colaboradores (2011) que analisaram a permeabilidade intestinal de camundongos BALB/c fêmeas com colite induzida com DSS e tratadas por 21 dias com *Lactobacillus casei* DN-114 001 e *Lactobacillus plantarum* CCDM 185 liofilizados por 21 dias com 4 doses nos dias 0, 7, 14 e 21 e mostrou uma diminuição significativa de FITC dextran após o tratamento comparando o grupo doente com o grupo tratado e também um aumento comparando o grupo doente com o controle. Chen e colaboradores (2012) conseguiram analisar a permeabilidade intestinal in vitro com células Caco-2 co-cultivadas por 24 horas com *Lactobacillus kefirifaciens* M1 isolado de grãos de Kefir e posteriormente tratada com DSS por 30 horas. Dessa forma eles conseguiram demonstrar uma diminuição significativa da absorção de FITC dextran após o tratamento com DSS das amostras pré-tratadas com *Lactobacillus kefirifaciens* M1 derivadas do kefir, mostrando o poder do kefir na proteção da barreira intestinal. O trabalho de Kaur e colaboradores (2022) também obteve êxito em demonstrar diferença estatística na análise da permeabilidade intestinal. Neste modelo experimental de colite induzida por DSS em camundongos Swiss albinos machos pré-tratados com um soro doce com cultura probiótica de *Lactobacillus fermentum* MTCC-5898, conseguiram mostrar uma

diminuição da permeabilidade do intestinal do grupo tratado comparado com o grupo que não recebeu o pré-tratamento. Todos os estudos apresentados mostraram um resultado positivo em diferentes modelos experimentais, dessa maneira, provavelmente o presente resultado obtido pode ser devido ao tamanho amostral ou tempo de tratamento com o probiótico que não foi capaz de obter efeitos sobre a permeabilidade intestinal.

#### 4. Conclusões

A administração de Kefir em modelo experimental de colite ulcerativa demonstrou benefícios clínicos significativos, com redução dos sinais e sintomas da doença, como diarreia, dor abdominal e perda de peso, sugerindo seu potencial como terapia adjuvante. No entanto, o tratamento não mostrou impacto na permeabilidade intestinal. Embora os resultados sejam promissores, estudos adicionais são necessários para entender melhor seus mecanismos de ação, otimizar a dosagem e determinar sua eficácia em diferentes contextos clínicos como a manutenção do tempo de remissão da doença, especialmente em longo prazo e com amostras maiores.

#### Agradecimentos

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) (Edital 15/2022 - PROFIX: 630/2022 e 708/2022; Edital 20/2022 - Chamada de Apoio a Núcleos Capixabas Emergentes em Pesquisa: 1042/2022; Nº 21/2023 - MULHERES NA CIÊNCIA 726/2024 - P: 2024-F42RD), e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (308220/2021-8; 309431/2022-0 and 305740/2019-9) pelo financiamento. À Universidade Vila Velha pelo apoio e estrutura. Aos professores e integrantes do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Translacional (LFFT) pelos ensinamentos, parcerias e colaborações.

#### Referências

- ATIQU, A.; SHAL, B.; NAVEED, M. et al. Diadzein ameliorates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis by suppressing oxidative stress and inflammatory mediators in rodents. *European Journal of Pharmacology*, v. 843, p. 292-306, 2019. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.12.014.
- BODY-MALET, M.; DJOUINA, M.; WAXIN, C. et al. The RAGE signaling pathway is involved in intestinal inflammation and represents a promising therapeutic target for Inflammatory Bowel Diseases. *Mucosal Immunology*, v. 12, n. 2, p. 468-478, 2019.
- BUENO, L. R.; DA SILVA SOLEY, B.; ABOUD, K. Y. et al. Protective Effect of Dietary Polysaccharides from Yellow Passion Fruit Peel on DSS-Induced Colitis in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2022, p. 6298662, 15 out. 2022. doi: 10.1155/2022/6298662.
- CHEN, Y. P.; HSIAO, P. J.; HONG, W. S. et al. Lactobacillus kefirifaciens M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis in vitro and in vivo. *Journal of Dairy Science*, v. 95, n. 1, p. 63-74, 2012.
- CURCIARELLO, R.; CANZIANI, K. E.; SALTO, I. et al. Probiotic Lactobacilli Isolated from Kefir Promote Down-Regulation of Inflammatory Lamina Propria T Cells from Patients with Active IBD. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 658026, 2021.
- DU, L.; HA, C. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis. *Gastroenterology Clinics of North America*, v. 49, n. 4, p. 643-654, 2020.
- FRIQUES, A. G.; ARPINI, C. M.; KALIL, I. C. et al. Chronic administration of the probiotic kefir improves the endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Translational Medicine*, v. 13, p. 390, 2015.
- GAJENDRAN, M.; LOGANATHAN, P.; JIMENEZ, G. et al. A comprehensive review and update on ulcerative colitis. *Disease Monographs*, v. 65, n. 12, p. 100851, 2019.
- GUO, X. Y.; LIU, X. J.; HAO, J. Y. Gut microbiota in ulcerative colitis: insights on pathogenesis and treatment. *Journal of Digestive Diseases*, v. 21, n. 3, p. 147-159, 2020.
- JAKUBCZYK, D.; LESZCZYŃSKA, K.; GÓRSKA, S. The Effectiveness of Probiotics in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease (IBD) - A Critical Review. *Nutrients*, v. 12, n. 7, p. 1973, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/7/1973>. Acesso em: 25 ago. 2024.

- KAENKUMCHORN, T.; WAHBEH, G. Ulcerative Colitis: Making the Diagnosis. *Gastroenterology Clinics of North America*, v. 49, n. 4, p. 655-669, 2020.
- KAUR, H.; GUPTA, T.; KAPILA, S.; KAPILA, R. Lactobacillus fermentum (MTCC-5898) based fermented whey renders prophylactic action against colitis by strengthening the gut barrier function and maintaining immune homeostasis. *Microbial Pathogenesis*, v. 173, p. 105887, 2022.
- KAUR, L.; GORDON, M.; BAINES, P. A. et al. Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, v. 3, n. 3, p. CD005573, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005573.pub4>. Acesso em: 25 ago. 2024.
- KESHTELI, A. H.; MADSEN, K. L.; DIELEMAN, L. A. et al. Diet in the Pathogenesis and Management of Ulcerative Colitis; A Review of Randomized Controlled Dietary Interventions. *Nutrients*, v. 11, n. 7, p. 1498, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu11071498>. Acesso em: 25 ago. 2024.
- KOBAYASHI, T.; SIEGMUND, B.; LE BERRE, C. et al. Ulcerative colitis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 6, n. 1, p. 74, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0180-9>. Acesso em: 25 ago. 2024.
- KUMAR, C. S. S.; KONDAL REDDY, K.; REDDY, A. G. et al. Protective effect of Lactobacillus plantarum 21, a probiotic on trinitrobenzenesulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats. *International Immunopharmacology*, v. 25, n. 2, p. 504-510, 2015.
- MARTYNIAK, A.; MEDYŃSKA-PRZĘCZEK, A.; WĘDRYCHOWICZ, A. et al. Prebiotics, Probiotics, Synbiotics, Paraprobiotics and Postbiotic Compounds in IBD. *Biomolecules*, v. 11, n. 12, p. 1903, 2021. doi: 10.3390/biom11121903.
- PALAMENGI, L.; FIGLIUC, P.; LEONE, S. et al. Food and Inflammatory Bowel Diseases: A scoping review on the impact of food on patients' psychosocial quality of life. *Health & Social Care Community*, v. 30, n. 5, p. 1695-1712, 2022.
- PAVAN, E.; DAMAZO, A. S.; ARUNACHALAM, K. et al. Copaifera malmei Harms leaves infusion attenuates TNBS-ulcerative colitis through modulation of cytokines, oxidative stress and mucus in experimental rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 267, p. 113499, 2021.
- PORTER, R. J.; KALLA, R.; HO, G. T. Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. *F1000Research*, v. 9, p. F1000 Faculty Rev-294, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.12688/f1000research.22137.1>. Acesso em: 25 ago. 2024.
- SENOL, A.; ISLER, M.; SUTCU, R. et al. Kefir treatment ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *World Journal of Gastroenterology*, v. 21, n. 46, p. 13020-13029, 2015.
- VOLYNETS, V.; REICHHOLD, A.; BÁRDOS, G. et al. Assessment of the Intestinal Barrier with Five Different Permeability Tests in Healthy C57BL/6J and BALB/cJ Mice. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 61, n. 3, p. 737-746, mar. 2016. doi: 10.1007/s10620-015-3935-y.
- WOTING, A.; BLAUT, M. Small Intestinal Permeability and Gut-Transit Time Determined with Low and High Molecular Weight Fluorescein Isothiocyanate-Dextrans in C3H Mice. *Nutrients*, v. 10, n. 6, p. 685, 28 maio 2018. doi: 10.3390/nu10060685.
- YILMAZ, İ.; DOLAR, M. E.; ÖZPINAR, H. Effect of administering kefir on the changes in fecal microbiota and symptoms of inflammatory bowel disease: A randomized controlled trial. *Turkish Journal of Gastroenterology*, v. 30, n. 3, p. 242-253, 2019.
- ZAKOSTELSKA, Z.; KVERKA, M.; KLIMESOVA, K. et al. Lysate of probiotic Lactobacillus casei DN-114 001 ameliorates colitis by strengthening the gut barrier function and changing the gut microenvironment. *PLoS One*, v. 6, n. 11, p. e27961, 2011.
- ZHU, L.; GU, P.; SHEN, H. Gallic acid improved inflammation via NF-κB pathway in TNBS-induced ulcerative colitis. *International Immunopharmacology*, v. 67, p. 129-137, 2019.

## Capítulo 17

### “FERRAMENTA “QUALIFICAURB”: DESENVOLVIMENTO DE UMA VERSÃO MOBILE”

#### Autores

Igor Peli Resende<sup>1</sup>, Luciana Aparecida Netto de Jesus<sup>2</sup>, Larissa Leticia Andara Ramos<sup>3\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Ciência da Computação, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia Civil; Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil

<sup>3</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Arquitetura e Cidades (PPGAC), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: larissa.ramos@uvv.br

Telefone: +55 27 99956-4421

#### Resumo

O presente artigo apresenta e discute as etapas de desenvolvimento da versão mobile da ferramenta “QualificaURB”, instrumento analítico-classificatório direcionado à avaliação da qualidade socioambiental de praças urbanas, desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa “Paisagem Urbana e Inclusão”. Para o desenvolvimento do aplicativo, foram utilizadas as ferramentas Visual Studio, React Native, Strapi e PostgreSQL, visando oferecer uma flexibilização da antiga plataforma. Como resultado, a nova versão mostra-se mais acessível, funcional e intuitiva, permitindo edições e visualização de praças avaliadas, além da interação por meio de comentários, contribuindo, assim, para a consolidação e disseminação do método.

#### Abstract

This article presents and discusses the development stages of the mobile version of the “QualificaURB” tool, an analytical-classification instrument aimed at assessing the socio-environmental quality of urban squares, developed by the “Urban Landscape and Inclusion” Research Group. For the development of the application, tools such as Visual Studio, React Native, Strapi, and PostgreSQL were used, aiming to offer greater flexibility compared to the old platform. As a result, the new version is more accessible, functional, and intuitive, allowing for editing and viewing of evaluated squares, as well as interaction through comments, thus contributing to the consolidation and dissemination of the method.

**Palavras-chave:** Arquitetura; Aplicativo Mobile; QualificaURB

## 1. Introdução

Segundo o empresário Steve Jobs, “a tecnologia move o mundo” (Jobs, 2012). Seguindo essa premissa, vê-se a necessidade e a importância da tecnologia disponível a todas as pessoas. Com isso, surge a necessidade da implementação da tecnologia nos mais diversos âmbitos da nossa sociedade, incluindo nos processos de projeto de arquitetura e urbanismo, do planejamento à avaliação do ambiente construído.

Como afirma Satya Nadella, CEO da Microsoft, “a tecnologia não é uma solução mágica, mas pode ajudar a resolver problemas, melhorar a eficiência e criar oportunidades. No fim, a tecnologia deve ser uma força para o bem, ajudando as pessoas a alcançarem mais e a viver melhor”. A informatização tecnológica dos tem transformado a maneira de viver, morar e trabalhar onde com apenas alguns cliques em telas é possível realizar atividades inimagináveis, tornando processos mais eficientes e práticos. O mundo está se tornando cada vez mais globalizado, sendo o progresso tecnológico o maior responsável e com os smartphones, as pessoas estão mais próximas, mas, ao mesmo tempo, mais distantes.

Segundo Andy Ruben (2013), “o celular é o dispositivo que vai juntar tudo. É o controle remoto de nossas vidas”. Até a década de 2000, eram necessárias várias ferramentas e equipamentos para realizar tarefas distintas. Porém, com o surgimento dos celulares do tipo smartphone em 2007, com o lançamento do iPhone e o crescimento de outras tipologias, é possível utilizar um só aparelho para multitarefas e carregá-lo para lugares remotos. O celular tornou-se indispensável tanto no ambiente de trabalho como no pessoal, com a existência de aplicativos que se tornaram, para a sociedade contemporânea, essenciais, apresentando softwares de mensagens, de videochamada, calculadora, GPS, registro de vídeo e fotografais, dentre outros.

Bill Gates, fundador da Microsoft ressalta que “um dia, você será capaz de colocar todos esses livros e pilhas de papéis em um CD.” Com a informatização tecnológica, a necessidade do registro no papel tornou-se cada vez menor. Todos os dados podem ser armazenados em nuvem, ou seja, armazenando em servidores remotos, os quais possibilitam acesso pela internet, fornecendo uma grande escalabilidade, onde pode-se reduzir ou expandir os recursos que são necessários, o custo é menor, uma vez que não é necessário investir em infraestrutura local (Marston et al., 2011).

Tal prática, reduz a perda ou a alteração de dados. Não é mais necessário preencher grandes formulários manualmente, deixando vulnerável a segurança dos dados, mas tornam-se necessária a criação de aplicativos que auxiliem nesse processo, possibilitando uma melhor gestão dos dados. Com os aplicativos, é possível realizar consultas complexas, fazer relações entre os dados, criar gráficos e estruturas (Stallings, 2019), visualmente mais agradáveis e amigáveis, com um desempenho considerado “extraordinário” quando comparado ao de um ser humano.

Nesse contexto, buscando informatizar a coleta e tabulação de dados, o grupo de pesquisa “Paisagem Urbana e Inclusão”, que inclui pesquisadores da Universidade Vila Velha e da Universidade Federal do Espírito Santo, tem desenvolvido uma ferramenta analítico-classificatória que investiga a qualidade socioambiental de praças urbanas, nomeada “QualificaURB”. A ferramenta além permitir caracterizar os espaços livres públicos da praça, identifica critérios de melhoria que podem ser aplicados em futuras reformas.

Na ferramenta, os parâmetros de análise estão organizados em 04 (quatro) categorias: “Proteção e Segurança”, “Conforto e Imagem”, “Acessos e Conexões” e “Sociabilidade, Usos e Atividades”. Cada uma delas abrange agrupamentos de temáticas a serem avaliadas e são organizadas em 23 (vinte e três) indicadores, com parâmetros de análise específicos que permitem atribuir um nível de classificação, a partir de uma pontuação unitária. As pontuações unitárias de cada indicador podem receber notas de 0 (zero), 1 (um), 2 (dois) e 3 (três) que correspondem, respectivamente, aos níveis “insuficiente”, “regular”, “bom” e “ótimo” dos parâmetros avaliados, o que possibilita a classificação do indicador, mas também de cada categoria e de cada praça.

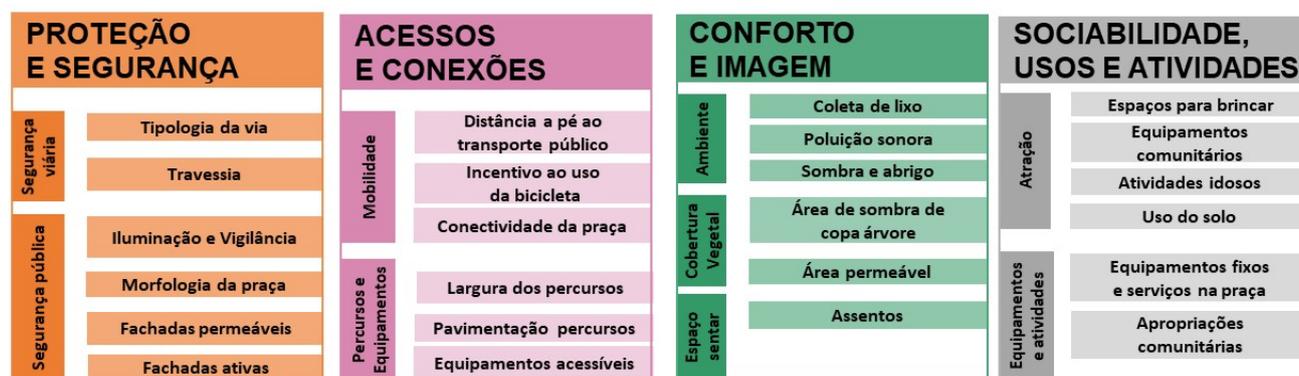
Em sua primeira fase, a ferramenta foi desenvolvida dentro da plataforma de livre acesso CognitoForms, que consegue desenvolver formulários e gerar tabelas com os resultados obtidos. Entretanto, a plataforma possui limitações que dificultam o seu uso, tais como: não permitir edições, não possibilitar dar continuidade no preenchimento, não possibilitar acessar o formulário sem internet e nem verificar as respostas enviadas. Tendo em vista tais aspectos, fez-se necessário consolidar e aprimorar o método, a partir do desenvolvimento de uma versão digital móvel da ferramenta “QualificaURB”, de modo a torná-la mais amigável, funcional e intuitiva, agregando valor ao instrumento analítico-classificatório.

Deste modo, o presente trabalho tem como objetivo apresentar o desenvolvimento da plataforma mobile da ferramenta “QualificaURB”, e sua aplicação na avaliação de uma praça no município de Vila Velha-ES, de modo a contribuir com a consolidação e disseminação do método analítico-classificatório direcionado à avaliação de praças urbanas.

## 2. Metodologia

A pesquisa é de natureza aplicada e envolve o desenvolvimento de um produto técnico, do tipo aplicativo mobile. O trabalho é dividido em três etapas: 1) Compreensão da ferramenta "QualificaURB" e seus parâmetros de análise. 2) Desenvolvimento da versão mobile, seguindo as etapas de levantamento de requisitos, prototipagem, implementação, testes e manutenção. 3) Divulgação do aplicativo e de seus resultados.

Na primeira fase, foi necessário compreender a estruturação e organização da ferramenta “QualificaURB” (essa disponível na plataforma CognitoForms), bem como os temas envolvendo as categorias de análise e seus parâmetros de avaliação. Foi também necessário entender toda a lógica matemática existente, bem como o funcionamento das somatórias, o sistema de média e o preenchimento das respostas, onde a ordem do preenchimento poderia afetar a experiência do usuário. A figura 1 ilustra a estruturação da ferramenta “QualificaURB” com suas 4 categorias de análise, subdivididas em 9 atributos e 23 indicadores específicos (Figura1).



**Figura 1.** Ferramenta “QualificaURB” com as divisões em categorias, atributos e indicadores de avaliação.

Na sequência, foi realizado o desenvolvimento da ferramenta como um aplicativo móvel, a partir das perguntas disponibilizados na plataforma Cognitoforms e o conhecimento relacionado na primeira etapa. Como exigência da equipe, foi necessário criar um sistema de registro, com login e senha para segurança dos dados, um menu contendo informações necessárias para realizar o uso do aplicativo, possibilidade de seguir as avaliações com apenas uma categoria por vez ou a avaliação completa, um local onde fosse possível visualizar e consultar as praças avaliadas e uma seção com avisos, onde todos as pessoas que possuem acesso podem ver esses comentários. Na sequência, foram realizados testes no aplicativo mobile desenvolvido, onde foi usado como parâmetro a antiga plataforma do CognitoForms. Foi necessário utilizar dados reais para a calibragem da plataforma, com ajustes e adequações.

Em uma última etapa, foi preparado um vídeo explicativo que oferece uma visão geral do aplicativo, com o objetivo de aumentar a visibilidade e a abrangência de sua utilização. O vídeo detalha as principais funcionalidades da ferramenta, proporcionando uma compreensão clara e acessível das suas capacidades. Além de demonstrar como utilizar a plataforma de maneira eficaz, o vídeo visa facilitar o processo de adaptação dos usuários, destacando os benefícios e recursos chave do aplicativo.

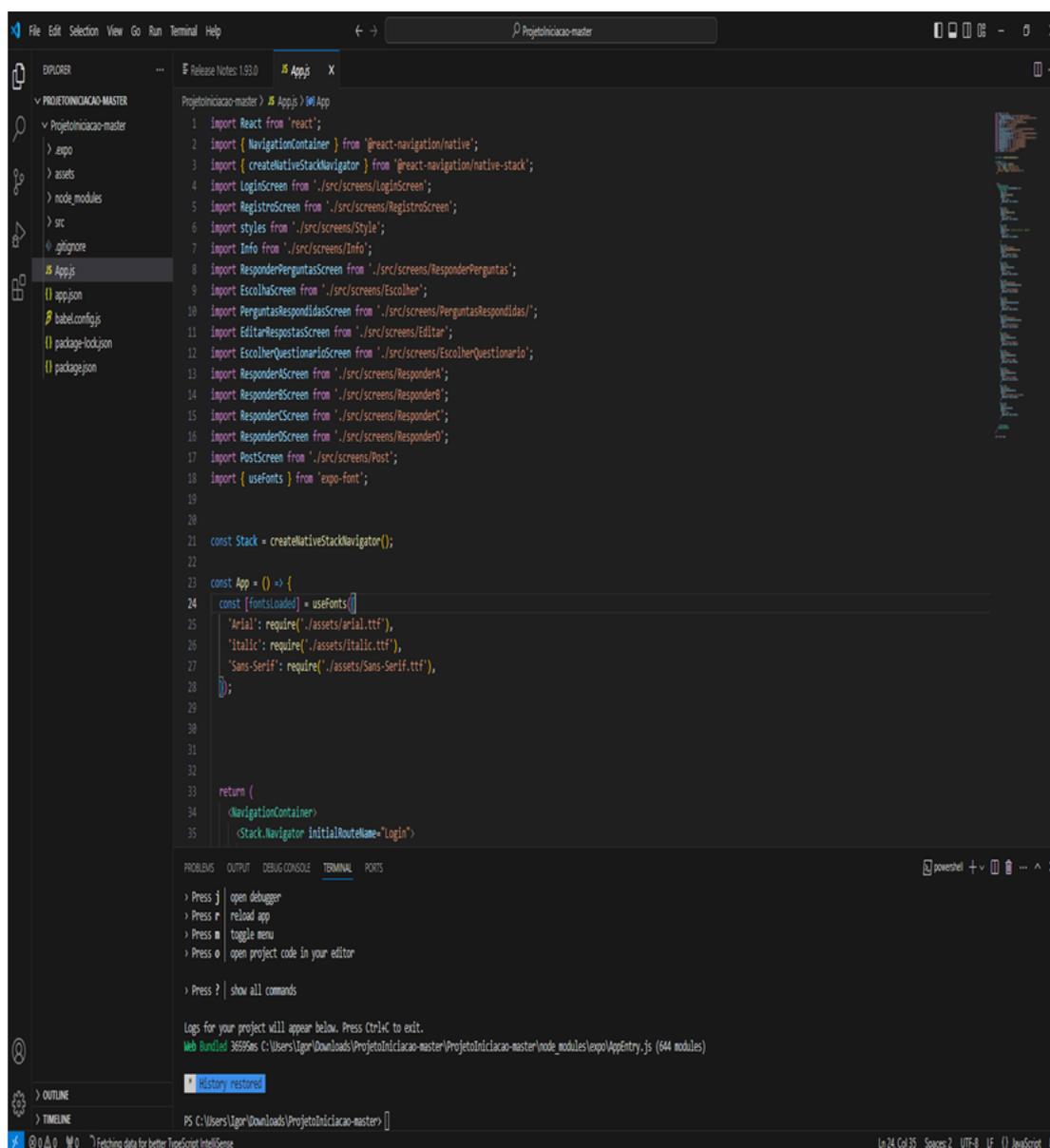
## 3. Resultados e Discussão

Para o desenvolvimento do aplicativo mobile, foram utilizadas 6 (seis) ferramentas, são elas: o Ambiente de Desenvolvimento Integrado (IDE), a Linguagem de Programação, o Sistema de Gerenciamento de Conteúdo (CMS), o Banco de dados e Controle de versão como ferramentas indispensáveis para a forma que realizamos

esse projeto, além da ferramenta opcional, que é um API Client. Todas essas ferramentas trabalham em conjunto, onde uma é como uma consequência da outra.

Para o local onde foi realizada a programação, mais conhecido como Ambiente de Desenvolvimento Integrado (IDE), foi escolhido o *software Visual Studio*, que conta com sua alta qualidade de desempenho, sua interface intuitiva e facilidade com integração com outras ferramentas e plataformas. O *Visual Studio* foi identificado com IDE a ser utilizado devido à experiência prévia da equipe, seu reconhecimento e uso global, além da recomendação por especialistas, professores e pesquisadores na área.

A Linguagem de Programação escolhida foi React Native (Figura 2), própria para o desenvolvimento mobile, ou seja, especializada no desenvolvimento de aplicativos móveis que funcionam de maneira nativa no celular. Ela é responsável pelo front-end, ou seja, pela estilização, escolha das cores, tamanho da fonte das palavras, alinhamento dos textos, entre outros. Também contém a lógica existente por trás do aplicativo, como parte das médias, soma das opções selecionadas pelo nosso usuário, chamada das funções em determinados momentos, como quando clica para enviar algo, envio das respostas para o banco de dados e outras lógicas.



```
1 import React from 'react';
2 import { NavigationContainer } from '@react-navigation/native';
3 import { createStackNavigator } from '@react-navigation/native-stack';
4 import LoginScreen from './src/screens/LoginScreen';
5 import RegistroScreen from './src/screens/RegistroScreen';
6 import styles from './src/screens/Style';
7 import Info from './src/screens/Info';
8 import ResponderPerguntasScreen from './src/screens/ResponderPerguntas';
9 import EscolhaScreen from './src/screens/Escolher';
10 import PerguntasRespondidasScreen from './src/screens/PerguntasRespondidas';
11 import EditarRespostasScreen from './src/screens/Editar';
12 import EscolherQuestionarioScreen from './src/screens/EscolherQuestionario';
13 import ResponderAScreen from './src/screens/ResponderA';
14 import ResponderBScreen from './src/screens/ResponderB';
15 import ResponderCScreen from './src/screens/ResponderC';
16 import ResponderDScreen from './src/screens/ResponderD';
17 import PostScreen from './src/screens/Post';
18 import { useFonts } from 'expo-font';
19
20
21 const Stack = createStackNavigator();
22
23 const App = () => {
24   const [fontsLoaded] = useFonts([
25     'Arial': require('./assets/arial.ttf'),
26     'Italic': require('./assets/italic.ttf'),
27     'Sans-Serif': require('./assets/Sans-Serif.ttf'),
28   ]);
29
30
31   return (
32     <NavigationContainer>
33       <Stack.Navigator initialRouteName="Login">
```

Problems OUTPUT DEBUG CONSOLE TERMINAL PORTS

- Press j | open debugger
- Press r | reload app
- Press m | toggle menu
- Press o | open project code in your editor
- Press ? | show all commands

Logs for your project will appear below. Press Ctrl+K to exit.

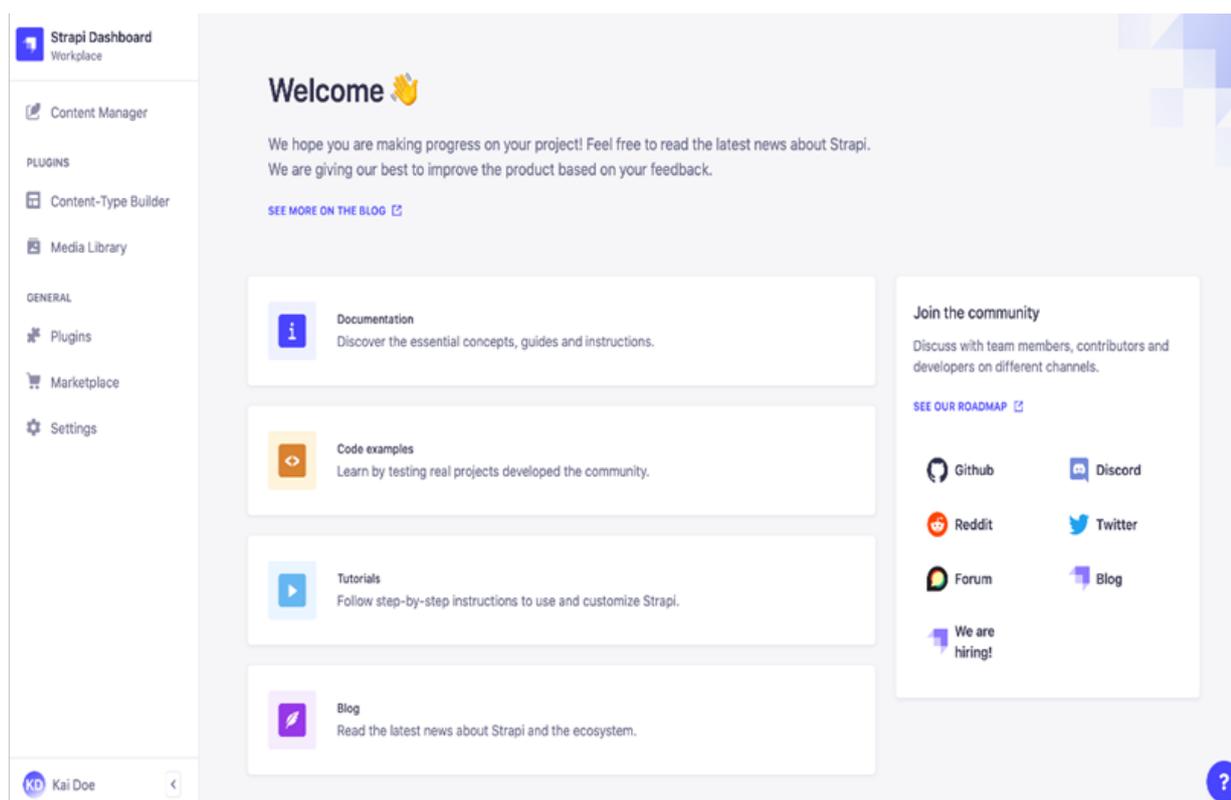
Web Bundled 3695ms C:\Users\Igor\Downloads\ProjetoIniciacao-master\ProjetoIniciacao-master\node\_modules\expo\AppEntry.js (644 modules)

History restored

PS C:\Users\Igor\Downloads\ProjetoIniciacao-master\

**Figura 2.** Linguagem de Programação no Ambiente de Desenvolvimento Integrado (IDE). Na imagem consegue-se visualizar a interface da IDE utilizando a linguagem de programação *React Native*.

Outra ferramenta utilizada foi o Strapi, que é um Sistema de Gerenciamento de Conteúdo (CMS) cuja vantagem é a facilidade de gerenciamento e escalonamento (Figura 3). O Strapi é conhecido como uma ferramenta low-code, ou seja, uma plataforma de fácil entendimento, altamente interativa, onde qualquer pessoa sem conhecimento de programação consegue entender e fazer a manutenção e escalonamento do programa. O CMS é voltado para a parte back-end do programa, ou seja, ele é responsável, em partes, pelo armazenamento de dados do aplicativo e pela Interface de Programação de Aplicação (API). Em outras palavras, o CMS é o meio-termo entre o banco de dados e código do aplicativo, e essa API tem como função adicionar uma camada de segurança para o aplicativo.

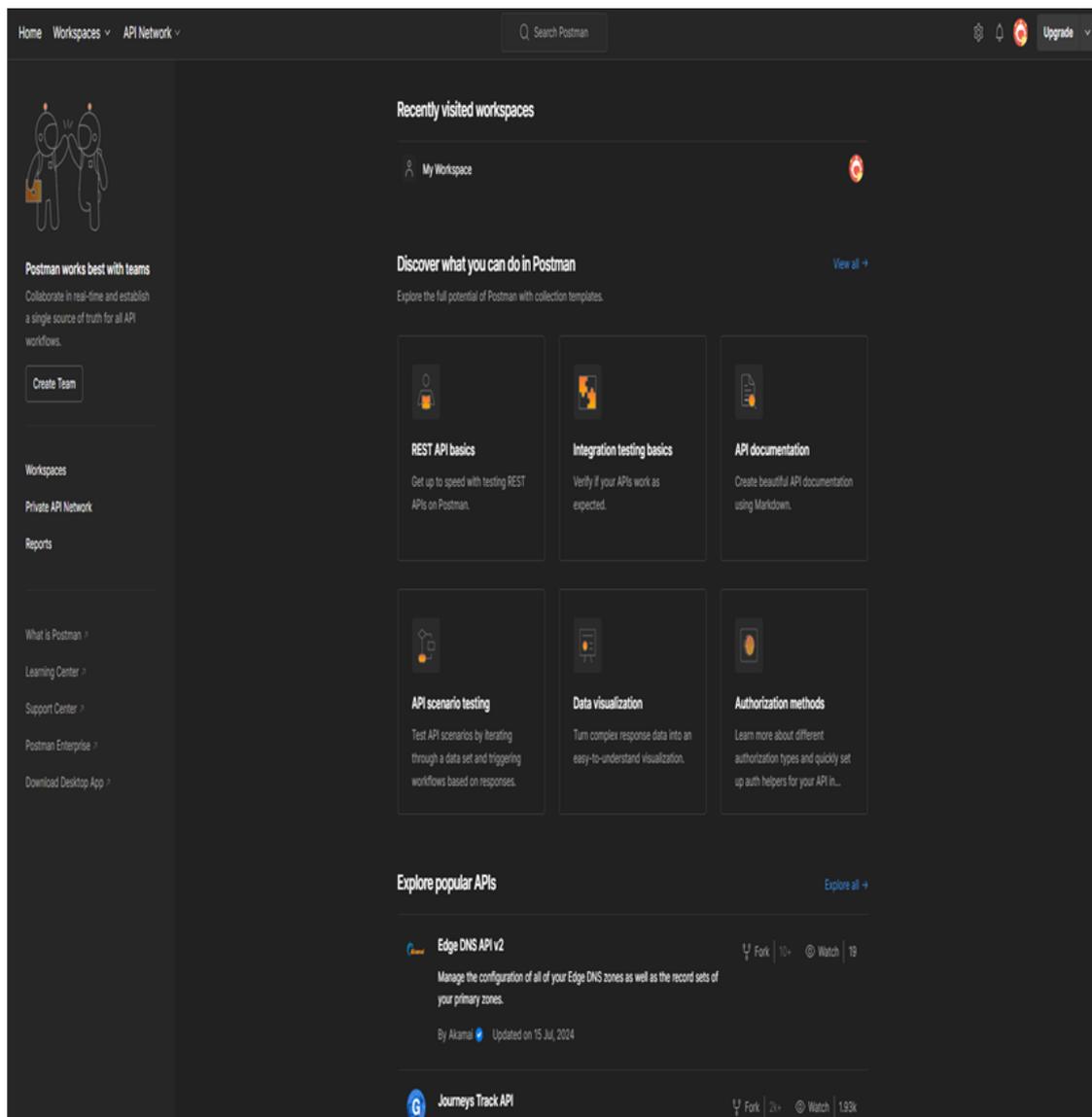


**Figura 3.** Sistema de Gerenciamento de Conteúdo(CMS): Imagem ilustrativa do Strapi, que foi o CMS utilizado.

Como banco de dados, foi escolhido o PostgreSQL, que é um banco de dados relacional, ou seja, ele trabalha com os dados em forma de tabelas e colunas. O motivo da escolha do PostgreSQL é o reconhecimento mundial pela sua qualidade, compatibilidade com a ferramenta anterior, o Strapi, e a facilidade de manuseamento e de realizar backups, que é uma cópia dos dados como forma de segurança, caso algo aconteça com os dados atuais.

Outra ferramenta utilizada foi o Git e GitHub, que são o controle de versão do código utilizado, onde todos com acesso ao código têm a possibilidade de ver todas as mudanças realizadas e quando foram realizadas, com a oportunidade de, se necessário, de voltar ao estado anterior, em caso de alguma emergência, e um local onde todos os desenvolvedores do código possam publicar no mesmo lugar, facilitando o desenvolvimento colaborativo.

Essas ferramentas funcionam em conjunto, onde o Git é utilizado no Command Line e o GitHub é a parte visual do que foi feito pelo Git. O API Client utilizado foi o Postman (Figura 4), onde ele é globalmente reconhecido, e conta com seu alto desempenho e facilidade de utilização, no nosso desenvolvimento ele foi focado para realizar de testes na API, explicada anteriormente, para verificação. Essa plataforma também conta com a opção de construir e projetar APIs.



**Figura 4.** Interface do Postman API Client.

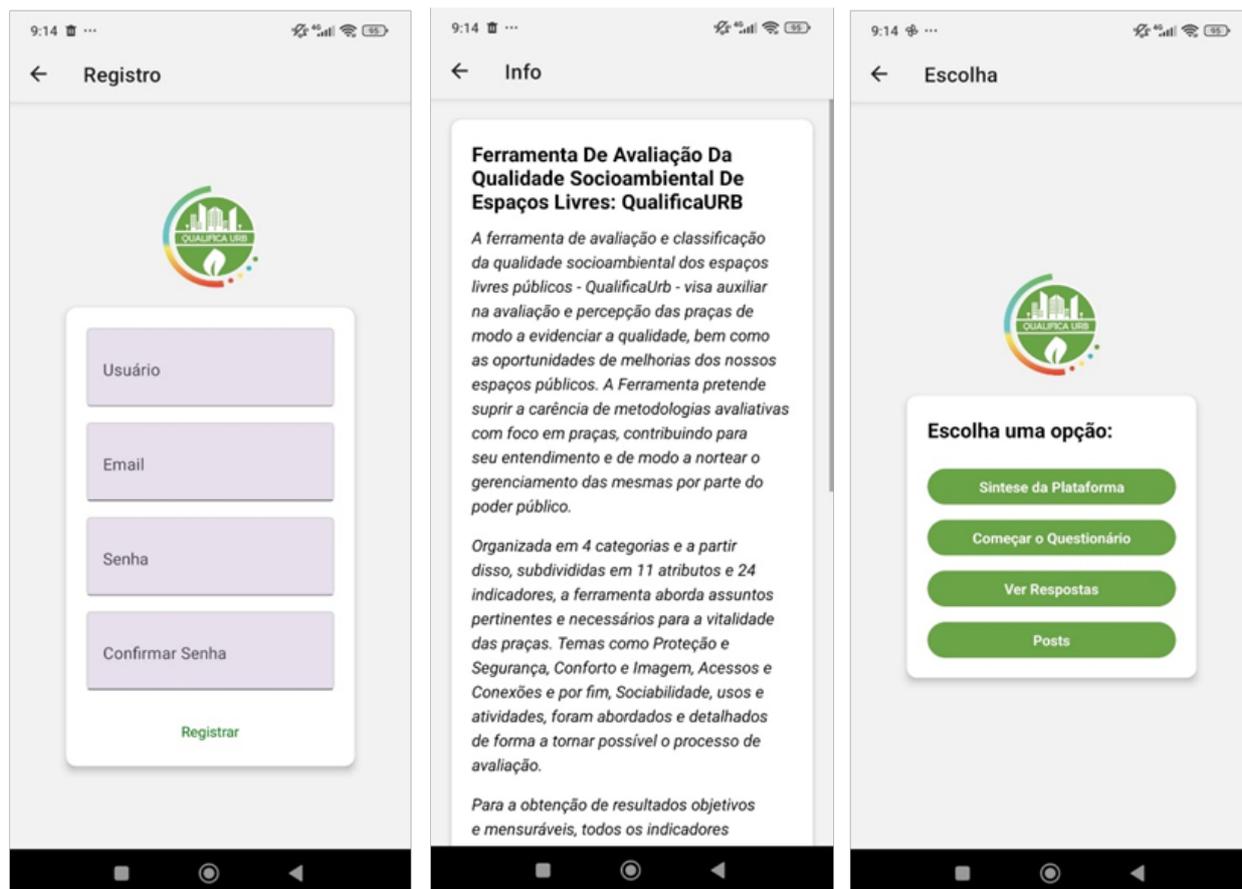
A Tabela 1, a seguir, sintetiza todas as ferramentas e softwares utilizados para o desenvolvimento do aplicativo mobile “QualificaURB”.

**Tabela 1.** Síntese das ferramentas e softwares utilizados para o desenvolvimento do aplicativo mobile.

Ferramenta	Software	Descrição/Funcionalidade
Ambiente de Desenvolvimento Integrado	<i>Visual Studio Code</i>	Editor de código-fonte, com suporte para várias linguagens.
API Client	<i>Postman</i>	Ferramenta de teste e desenvolvimento de API's
Sistema de Gerenciamento de Conteúdo	<i>Strapi</i>	Criação e gestão de API's
Controle de Versão	<i>Git e Github</i>	Um sistema de controle de versionamento.
Linguagem de Programação	<i>React Native</i>	Linguagem de programação para criação de aplicativos móveis
Banco de Dados	<i>PostgreSQL</i>	Sistema de gerenciamento de dados e tabelas.

A primeira etapa do processo de desenvolvimento foi a criação de um sistema de login seguro, no qual os usuários possam se registrar e criar suas contas. Essa função possibilita que apenas os usuários autenticados consigam acessar a plataforma e preencher os formulários. Destaca-se que todas as informações fornecidas foram devidamente validadas e salvas em um banco de dados protegido.

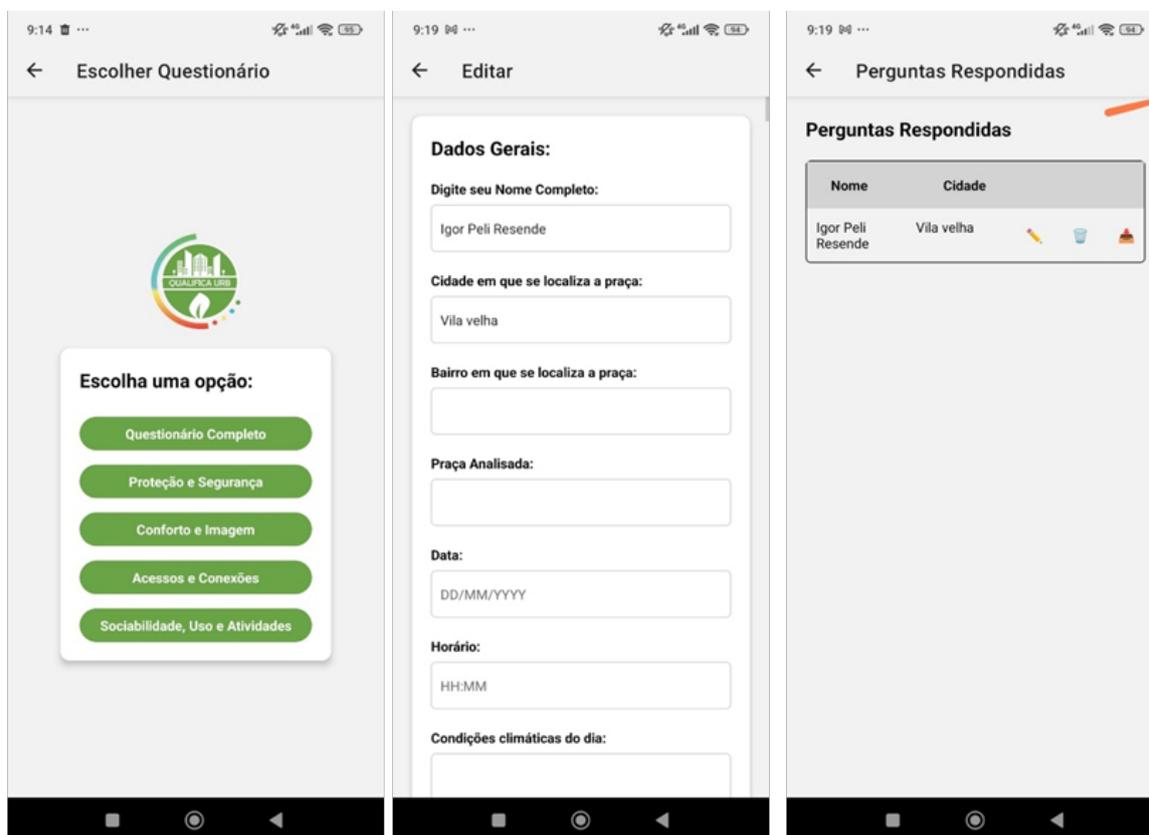
Após acessar a plataforma, o usuário é direcionado a uma tela em que ele poderá escolher algumas opções, sendo a primeira tela com informações sobre o desenvolvimento e estruturação do instrumento analítico-classificatório, como uma síntese do funcionamento do aplicativo, incluindo como responder o questionário, editar, visualizar e excluir uma resposta e uma tela podendo fazer comentários e posts (Figura 5).



**Figura 5.** Interface do aplicativo mobile da ferramenta “QualificaURB”. Nas imagens a ilustração da página do login, da página das informações sobre o uso e da página referente ao início do uso.

A tela de síntese, apresenta as principais funções da plataforma e um pequeno resumo de cada uma das categorias de avaliação e uma breve explicação do objetivo da plataforma. Tal experiência oferece ao usuário uma apresentação geral da plataforma e suas possíveis funcionalidades, sendo permitido que ele navegue pela ferramenta de avaliação que desejar de forma simples, rápida e eficiente.

Na tela de resposta, onde se encontram as questões do formulário, uma das possibilidades é a subdivisão em categorias que refletem aspectos específicos do propósito da ferramenta que é permitir a avaliação da qualidade socioambiental de praças públicas. São elas, as categorias “Proteção e segurança”, “Conforto e imagem”, “Acessos e conexões” e “Sociabilidade e atividades”. Essa etapa do sistema funciona para garantir que todas as informações relevantes sejam coletadas, flexibilizando a coleta organizada por categorias de análise específicas (Figura 6).



**Figura 6.** Interface do aplicativo mobile da ferramenta “QualificaURB”. Nas imagens a ilustração da página para iniciar a avaliação com as opções da avaliação completa ou por categoria, da página com o preenchimento dos dados gerais da coleta e da página com as praças avaliadas com a opção para abrir, editar ou excluir.

Na tela de visualizar, os questionários respondidos podem ser editados, apagados e consultados. Essa tela foi desenvolvida visando dar flexibilidade ao usuário, de maneira com que seja possível editar informações de uma avaliação já realizada ou excluí-la completamente, caso o usuário deseje realizar outros procedimentos. Foi criada de forma a ser simples e intuitiva, com facilidade de acessos ao perfil e aos principais aparatos de edição.

Na tela de posts é possível realizar postagens de mensagens para todos os usuários da plataforma conseguirem ver, tendo como intuito facilitar a comunicação (Imagem 7).



**Figura 7.** Interface do aplicativo mobile da ferramenta “QualificaURB”. Na imagem a ilustração da página de Posts, da página mostrando alguns comentários realizados.

Com o intuito de oferecer uma visão geral do aplicativo e proporcionar uma melhor visibilidade, o vídeo apresenta uma demonstração do aplicativo, para que os usuários consigam ter uma melhor instrução. Disponível no YouTube, acessível em: <https://www.youtube.com/watch?v=44U8almK11g>.

#### 4. Considerações Finais

Ao decorrer do desenvolvimento, percebeu-se diversas pautas que poderiam ser realizadas de maneira diferente, onde poderiam evitar o retrabalho e aumentar a qualidade do produto. Entre elas, as mais percebidas foram a necessidade de um estudo prévio mais aprofundado da própria linguagem de programação, o que, ao longo do desenvolvimento, revelou diversas maneiras mais claras e objetivas de realizar a mesma função, tornando o código mais limpo e coeso para manutenções futuras. Além disso, poderia ter ocorrido uma documentação melhor, na qual poderia ter sido utilizada a Linguagem de Modelagem Unificada (UML), que foi criada com o intuito de oferecer uma modelagem visual compreensível tanto para não programadores quanto para programadores.

Infelizmente, não foi possível realizar a publicação da ferramenta, para o livre acesso, devido a alguns motivos, os principais foram os custos para a postagem, que conta por exemplo com a necessidade de pagar uma anualidade para o App Store, o software que disponibiliza aplicativos confiáveis para o Iphone, além disso também existe custos mensais para colocar uma aplicação no ar. Outro ponto, além dos custos, foi o problema de segurança cibernética, onde é um assunto sensível, que requer um vasto conhecimento, devido a Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais, onde poderia ocorrer o vazamento de dados, infringindo essa lei.

Essa nova versão tem a premissa de, além de flexibilizar e otimizar a avaliação das praças, garantir maior segurança dos dados e possibilidades do uso off-line. por meio da adição da opção de os usuários conseguirem salvar sua resposta e modificá-la futuramente.

#### Agradecimentos

Agradeço à Universidade de Vila Velha (UVV) pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de iniciação científica, que foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

#### Referências

- JOBS, Steve. A tecnologia move o mundo. In: Citado por Forbes. Disponível em: <https://www.forbes.com/sites/johnkotter/2012/10/05/steve-jobs-the-worlds-greatest-leader/>.
- NADELLA, Satya. A tecnologia não é uma solução mágica, mas pode ajudar a resolver problemas. In: Entrevista para Wired. Disponível em: <https://www.wired.com/story/microsoft-satya-nadella-interview/>.
- RUBIN, Andy. O celular é o dispositivo que vai juntar tudo. In: Entrevista para The Verge. Disponível em: <https://www.theverge.com/2013/10/29/5040544/android-creator-andy-rubin-quits-google>.
- GATES, Bill. Um dia, você será capaz de colocar todos esses livros e pilhas de papéis em um CD. In: Citado por The New York Times. Disponível em: <https://www.nytimes.com/1989/10/24/business/the-executive-computer-bill-gates-says-some-new-technology-could-be.html>.
- MARSTON, S.; LI, Z.; BANDYOPADHYAY, S.; ZHANG, J.; GHALSASI, A. Cloud computing—The business perspective. *Decision Support Systems*, v. 51, n. 1, p. 176-189, 2011.
- STALLINGS, William. *Segurança de Redes e Comunicações: Princípios e Práticas*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

**Capítulo 18****“ANÁLISE DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE POLPA E DE CASCA DE JABUTICABA EM BACTÉRIAS DO GÊNERO ESCHERICHIA COLI, LISTERIA, STAPHYLOCOCCUS E ENTEROCOCCUS ”****Autores**

Isabella Vieira Medice<sup>1</sup>, Samara Alves de Jesus<sup>1</sup>, Christiane Mileib Vasconcelos<sup>2</sup>, Carmelita Zacchi Scolforo<sup>3\*</sup>

**Filiações**

<sup>1</sup>Discente do Curso de Nutrição, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação de Biotecnologia Vegetal (PPGBV), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Docente do Curso de Nutrição, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: carmelita.scolforo@uvv.br

Telefone: (28)999110115

**Resumo**

Com o projeto, visou-se descobrir os efeitos inibitórios do extrato de casca e polpa de jabuticaba sobre microrganismos patogênicos. O efeito antimicrobiano foi verificado por meio da medição dos halos formados ao redor dos poços difundidos com o extrato aquoso. As bactérias testadas foram: Echerischia coli, Listeria, Staphylococcus e Enterococcus. Os dados obtidos foram comparados por teste de análise de variância (ANOVA). Houve inibição tanto do extrato de casca quanto de polpa.

**Abstract**

The project aimed to investigate the inhibitory effects of jabuticaba peel and pulp extract on pathogenic microorganisms. The antimicrobial effect was assessed by measuring the halos formed around the wells diffused with the aqueous extract. The tested bacteria were Escherichia coli, Listeria, Staphylococcus, and Enterococcus. The obtained data were compared using analysis of variance (ANOVA). Both the peel and pulp extracts showed inhibitory effects.

**Palavras-chave:** microrganismos; inibição; sanitizante

## 1. Introdução

As Doenças Veiculadas por Alimentos (DVAs) são amplamente prevalentes em todo o mundo, constituindo uma das mais complexas problemáticas a serem resolvidas no cenário atual da saúde pública. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, anualmente, 600 milhões de indivíduos são infectados e 420 mil morrem devido a esse grupo de doenças. Somente no Brasil, houveram mais de 156 mil doentes entre os anos de 2007 e 2020, totalizando 22.000 hospitalizados e 152 mortos (BRASIL, 2024).

Das causas mais comuns, podem ser citadas a contaminação de alimentos por microrganismos patogênicos na manipulação, em especial bactérias dos gêneros *E. coli*, *Listeria*, *Staphylococcus* e *Enterococcus*, e a conservação inadequada, sucedidas por má higienização antes do consumo (ARAÚJO, et al., 2021).

A necessidade de higienização dos alimentos implica no uso de substâncias químicas artificiais para a redução da carga microbiológica. O produto mais utilizado para garantir a segurança no consumo de alimentos é o hipoclorito de sódio, por ser de baixo custo e fácil acesso. Contudo, há limitações tanto na indução de resistência bacteriana quanto na toxicidade que ele apresenta à saúde humana (BOTH, et al., 2009; FIDALGO, et al., 2009; LINEAWEAVER, et al., 1985). Por isso, novas alternativas surgem, como extrato de alimentos com efeito antimicrobiano.

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) é uma espécie de fruto abundante nativo da Mata Atlântica, facilmente encontrado e comumente consumido no Brasil por grande parcela da população (CARVALHO, et al., 2009).

Em uma revisão de literatura, pouco se conhece do efeito antimicrobiano da jabuticaba. Com isso em vista, o presente estudo teve como objetivo determinar o poder antimicrobiano dos extratos aquoso e etanólico tanto da casca quanto da polpa da jabuticaba, bem como investigar a razão das inibições baseado na quantificação de compostos bioativos obtidos em análises físico-químicas, a fim de propor novas alternativas na sanitização de alimentos.

## 2. Metodologia

Foram utilizados 25 g de jabuticaba in natura, colhidas aleatoriamente quando atingirem o estágio de completa maturação. As frutas foram escolhidas dos arredores do município da Grande Vitória e obtidas por meio de doação. Após a coleta, as jabuticabas foram manualmente selecionadas, descartando-se as verdes e visivelmente danificadas. Para análise microbiológica, as frutas foram imersas em solução aquosa de água destilada contendo hipoclorito de sódio (NaClO), de 0,02%, por quinze minutos (LUND, et al., 2005). Posteriormente, foram enxaguadas com água destilada esterilizada. No preparo do extrato da polpa de jabuticaba, foi utilizado o conteúdo de aproximadamente cinco jabuticabas, totalizando aproximadamente 20 g de extrato pulposo descartado da semente. Para o preparo do extrato de casca foi utilizada a mesma quantidade de jabuticaba (20 g, aproximadamente) e o mesmo foi macerado com pistilo e almofariz. As estirpes-padrão das bactérias (*E. coli*, *Listeria*, *Staphylococcus* e *Enterococcus*) utilizadas no presente estudo serão doadas pelo laboratório de microbiologia da Universidade Vila Velha. As bactérias foram ativadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas a 37 °C por 24 horas. Posteriormente foi inoculado 0,1 mL de cada bactéria em uma placa com PCA (Contagem Padrão em Placas), com poços. Em cada poço foi transferido 0,1 mL do extrato da casca e da polpa. Para cada bactéria foram utilizadas duas placas, uma para testar extrato de casca e outra para testar extrato de polpa. As placas foram incubadas à 37°C por 24h, podendo ser incubadas novamente, até que se constate o crescimento efetivo bacteriano (BRUMANO, et al., 2011). Percorrido o tempo de incubação, foram observados e medidos os halos inibitórios de cada placa. Cada experimento foi realizado em duplicata para cada cepa bacteriana apresentada (CARVALHO, et al., 2009).

Para as análises físico-químicas foram utilizadas as metodologias aprovadas e validadas do Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000). Foram realizadas análises de pH, acidez total titulável, umidade, cinzas, açúcares totais e redutores e compostos fenólicos.

Para mensurar pH foi utilizado um pHmetro da marca pHMeter, previamente calibrado. A acidez total titulável será feita com auxílio de um pHmetro até alcançar pH 8,2. A umidade será feita em estufa (SPlabor) a 105 °C até peso constante. As cinzas serão obtidas por incineração na mufla a 550 °C. Os açúcares totais e redutores serão obtidos por meio da análise de Fehling e compostos fenólicos pelo método de Folin Ciocalteau. Todas serão realizadas em triplicatas e três repetições. Os dados do extrato de polpa e casca de jabuticaba serão comparados por teste de análise de variância (ANOVA), por meio do software online gratuito Statistic 7.0.

### 3. Resultados e Discussão

No presente estudo, os extratos da polpa da jabuticaba puro e alcoólico demonstraram resultados positivos em relação à inibição de *E. faecalis* (ATCC 14506 e ATCC 51575) e *S. aureus* (BRAA 1708), quando comparado às demais bactérias testadas.

Os efeitos observados também foram relatados por Carvalho, et al., 2009, que estudou o efeito antimicrobiano do extrato de jabuticaba em bactérias gram-positivas do gênero *Streptococcus*. Todas as espécies de *Streptococci* analisadas nesse estudo obtiveram uma média de inibição de 16 mm. Durante anos, o gênero de bactérias *Enterococcus* foi dito pertencente ao gênero *Streptococcus*, até ser recategorizado em um novo grupo (ANDREWES, et al., 1906; PANTHEE, et al., 2021).

Partindo do princípio de semelhança entre as duas espécies, a presente análise concluiu efeitos antimicrobianos semelhantes sobre *Enterococcus*, bactérias que também são gram-positivas. A análise de extrato aquoso de jabuticaba deste estudo para *Enterococcus faecalis* resultou em halos de inibição variando de 9,5 a 19,6 mm para o extrato da polpa puro e 9,5 mm para o extrato alcoólico (Tabela 1).

**Tabela 1.** Halos de inibição do extrato da polpa (mm)\*

Microrganismos	Aquoso	Etanólico
<i>E. coli</i>	-	-
<i>E. faecalis</i>	14,4 ± 5	9,5 ± 0
<i>L. monocytogenes</i> <sup>†</sup>	12,75 ± 0	6,5 ± 0
<i>S. aureus</i>	8,8 ± 2,8	6,5 ± 0

\*Valores em mm; média ± desvio padrão de 4 repetições

<sup>†</sup> Valores obtidos em apenas uma das repetições.

Al-Habib, et al., 2010 observaram efeitos positivos de inibição de *Staphylococcus aureus* frente a extratos de semente de uva, fruta de perfil semelhante à jabuticaba, rica em compostos fenólicos e ácido cítrico. Foram obtidos halos de inibição que variavam de 11 a 17 mm, a partir do extrato de semente de uva extraído com metanol. Semelhantemente, o resultado do presente estudo em relação à *Staphylococcus aureus* revelou halos de inibição de 6,5mm quando aplicado o extrato alcoólico da polpa preparado com etanol. Enquanto isso, os halos foram de 6,5 a 12 mm para o extrato da polpa puro (Tabela 1). Os efeitos de atividade antimicrobiana relacionada à *S. aureus*, também foram observados por Quatrin et al., 2019, e foram relacionados ao fato de a casca da jabuticaba ser rica em antocianinas monoméricas e compostos fenólicos, com destaque para os taninos e antocianinas, entre os quais se encontram a cianidina 3-glicosídeo, a delphinidina-3-glicosídeo e a trigaloilglicose como principais componentes, além da alta concentração de ácido gálico e ácido elágico (LENQUISTE et al., 2015).

Assim como Fleck, N. et al., 2023, o presente estudo também observou o potencial inibitório do extrato aquoso da casca de jabuticaba em relação a *Staphylococcus aureus*. Apresentando então halos de inibição de 8mm a 21,7mm (Tabela 2).

**Tabela 2.** Halos de inibição do extrato da casca (mm)\*

Microrganismos	Aquoso	Etanólico
<i>E. coli</i>	13 ± 0	-
<i>E. feacalis</i>	27 ± 0	-
<i>L. monocytogenes</i>	11 ± 0	-
<i>S. aureus</i>	14,85 ± 9,7	-

\*Valores em mm; média ± desvio padrão de 4 repetições.

Ademais, foi observado também que o extrato aquoso da casca de jabuticaba possui potencial inibição de *E. feacalis* (ATCC 14506 e ATCC 51575) e *S. aureus* (BRAA 1708), quando relacionado as demais bactérias e também ao extrato alcoólico.

Assim como no extrato de polpa, o estudo conclui que a análise de extrato aquoso da casca de jabuticaba em relação a *E. feacalis* resultou em halos de inibição, variando de 6mm a 27mm (Tabela 2).

Não se obtiveram resultados positivos em nenhuma das análises para a espécie *E. coli* (ATCC 8739 e ATCC 10799), enquanto para *L. monocytogenes* (ATCC 19115 e CCCD N001) em apenas uma das repetições foi constatado o efeito antimicrobiano.

De acordo com Oliveira et al., 2003, o pH da jabuticaba inteira tipo sabará variou de 2,91 a 3,70, faixa também obtida no presente estudo com o pH de 3,33 para ambas as partes analisadas (Tabela 4). No mesmo estudo supracitado, os valores de acidez total titulável variaram de 0,888 a 1,625, expressos em g de ácido cítrico por 100g, em comparação à 1,470 das análises.

**Tabela 4.** Valores de pH

Tipo de extrato	pH
Polpa	3,3
Casca	3,3

\*Valor obtido em uma repetição;

**Tabela 5.** Acidez total titulável

Tipo de extrato	Acidez total
Polpa	1,47
Casca	-

\* Valor em M/% (v/m) de ácido cítrico; valor obtido em uma repetição;

O principal efeito dos compostos fenólicos é a proteção contra agentes oxidantes, especialmente espécies reativas de oxigênio, demonstrando efeitos benéficos na prevenção do câncer e do envelhecimento (FIDELIS, et al., 2021).

Os compostos fenólicos, assim como Fidelis et al., 2021, que obtiveram 53.94 g/100 g, podem ser comparados aos resultados de 0,150 à 1,750 mg/ml para a polpa e 0,320 à 1,320 mg/ml para a casca na presente análise (Tabela 3).

**Tabela 3.** Teor de compostos fenólicos do extrato da polpa e da casca (mg/100ml)

Tipo de extrato	mg de ácido gálico/100ml
Polpa	0,95 ± 0,8
Casca	1,32 ± 1

\*Valores em mg equivalentes de ácido gálico/100ml de extrato; média ± desvio padrão de 2 repetições.

#### 4. Considerações Finais

Este projeto investigou o efeito antimicrobiano da casca e da polpa geradas durante o processamento da jabuticaba, com o objetivo de desenvolver novos produtos para os setores industrial, farmacêutico e alimentício. Os resultados obtidos até aqui indicam que a jabuticaba demonstrou potencial antimicrobiano significativo, confirmando que materiais que anteriormente poderiam ser descartados podem, de fato, ser reaproveitados como insumos na criação de novos produtos. Esta estratégia demonstrou potencial para favorecer a sustentabilidade ambiental e aumentar a rentabilidade das empresas, estimulando uma economia circular que reduz a extração de recursos naturais e minimiza os impactos ambientais.

A análise dos dados finais sugere que a implementação do projeto poderá, futuramente, contribuir para a criação de produtos derivados da casca e da polpa da jabuticaba, explorando novas aplicações para esses subprodutos. Além disso, o projeto já proporcionou aos alunos da Universidade Vila Velha experiência prática em pesquisa laboratorial e publicação científica, fortalecendo a formação acadêmica e pavimentando o caminho para o desenvolvimento de novas tecnologias.

Por fim, a utilização da casca e da polpa da jabuticaba como matéria-prima para novos produtos mostrou-se uma solução sustentável, gerando vantagens econômicas significativas para as empresas da região. A integração desses subprodutos em novas cadeias produtivas já começa a diversificar as atividades dos setores da Grande Vitória e a abrir novos mercados, reduzindo custos com descarte e criando uma nova fonte de receita por meio da comercialização de produtos inovadores e ambientalmente responsáveis.

A partir da análise detalhada dos dados finais, espera-se abrir caminho para o desenvolvimento de produtos à base de compostos extraídos da jabuticaba, como medicamentos, sanitizantes e artigos de desinfecção e limpeza. O impacto positivo do estudo pode se dar com a descoberta de substâncias alternativas às formulações químicas tradicionais, sendo o extrato da jabuticaba produzido como produto orgânico e naturalmente encontrado na natureza, além de utilizar partes da fruta que normalmente seriam descartadas, contribuindo, assim, para a redução do desperdício e reaproveitamento de materiais.

#### Agradecimentos

Não houve financiamento. Não há menções de indivíduos ou instituições para agradecimento.

#### Referências

- AL-HABIB, Amar et al. Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *The Journal of toxicological sciences*, v. 35, n. 3, p. 357-364, 2010.
- ANDREWES, F. W.; HORDER, Thomas J. A study of the streptococci pathogenic for man. *The Lancet*, v. 168, n. 4334, p. 775-783, 1906.
- AOAC (2000) Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. Methods 925.10, 65.17, 974.24, 992.16.
- ARAÚJO, Bruna Silva; DUALIBI, Sandra Rojas; RACHID, Lorena. Perfil epidemiológico das principais doenças veiculadas por alimentos. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 10, p. e470101019137-e470101019137, 2021.
- BOTH, Jane Mari Corrêa; LONGARAY, Solange Mendes; AVANCINI, César Augusto Marchionatti. O desinfetante hipoclorito de sódio como barreira sanitária: condições de atividade frente a *Staphylococcus aureus* isolados em alimentos envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 68, n. 2, p. 254-258, 2009.
- BRUMANO, Laissa Pereira et al. Estirpes bacterianas-padrão, formas de obtenção de doação e sua manutenção em laboratórios de ensino e pesquisa. *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais-Animais*

e *Humanos Interdisciplinary Journal of Experimental Studies*, v. 3, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/situacao-epidemiologica>> Acesso em: 16 ago. 2024.

CARVALHO, C. M. et al. Efeito antimicrobiano in vitro do extrato de jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg.] sobre *Streptococcus* da cavidade oral. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v. 11, p. 79-83, 2009.

FIDALGO, Tatiana Kelly da Silva et al. Citotoxicidade de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre osteoblastos humanos. *RGO: Revista Gaúcha de Odontologia*, v. 57, n. 3, 2009.

FIDELIS, Marina et al. Polyphenols of jabuticaba [*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg] seeds incorporated in a yogurt model exert antioxidant activity and modulate gut microbiota of 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Food Chemistry*, v. 334, p. 127565, 2021.

FLECK, N. et al.. Efeito antimicrobiano do extrato aquoso da casca de jabuticaba rico em fenólicos sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos*, v. 26, p. e2022087, 2023.

LENQUISTE, SA, Marineli, RS, Moraes, É. A., Dionísio, AP, Brito, ES, & Maróstica Junior, MR (2015). Casca de jabuticaba e extrato aquoso de casca de jabuticaba apresentam propriedades antioxidantes in vitro e in vivo em modelo de obesidade. *Pesquisa Alimentar Internacional*, 77, 162-170.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>

» <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>

LINEAWEAVER, William et al. Cellular and bacterial toxicities of topical antimicrobials. *Plastic and reconstructive surgery*, v. 75, n. 3, p. 394-396, 1985.

LUND, Daniela Guerra et al. Uso de sanitizantes na redução da carga microbiana de mandioca minimamente processada. *Ciência Rural*, v. 35, p. 1431-1435, 2005.

OLIVEIRA, A. L. et al. Caracterização tecnológica de jabuticabas 'sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 397-400, dez. 2003.

PANTHEE, Suresh et al. Complete genome sequence and comparative genomic analysis of *Enterococcus faecalis* EF-2001, a probiotic bacterium. *Genomics*, v. 113, n. 3, p. 1534-1542, 2021.

QUATRIN, A., Pauletto, R., Maurer, LH, Minuzzi, N., Nichelle, SM, Carvalho, JFC, Maróstica Junior, MR, Rodrigues, E., Bochi, VC, & Emanuelli, T. (2019). Caracterização e quantificação de taninos, flavonóis, antocianinas e polifenóis ligados à matriz da casca do fruto de jabuticaba: Uma comparação entre *Myrciaria trunciflora* e *M. jaboticaba*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 78, 59-74.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2019.01.018>

» <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2019.01.018>

**Capítulo 19****“AVALIAÇÃO DA RESPOSTA À AMEAÇA EM FELINOS SAUDÁVEIS PRÉ E PÓS-SEDAÇÃO”****Autores**

Isadora Mathias Nakibar<sup>1</sup>, Catarina Stein Sasso<sup>2</sup>, Caroline Ribeiro de Andrade<sup>3\*</sup>

**Filiações**

<sup>1</sup>Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: caroline.andrade@uvv.br

Telefone: +55 017 98161-2387

**Resumo**

Este estudo avaliou a resposta à ameaça em 36 gatos saudáveis antes e após sedação, utilizando três métodos distintos de avaliação. Os testes foram realizados em um ambiente calmo, com os gatos expostos a música relaxante e feromônios. A resposta foi pontuada numa escala de 0 a 3. Após a sedação com diferentes protocolos anestésicos, observou-se redução significativa na resposta à ameaça em todos os animais, independentemente do protocolo utilizado. A menor redução ocorreu quando o avaliador se posicionava atrás do gato, e a maior redução foi observada quando um dos olhos do animal foi coberto.

**Abstract**

This study evaluated the threat response in 36 healthy cats before and after sedation, using three distinct evaluation methods. The tests were conducted in a calm environment, with the cats exposed to relaxing music and pheromones. The response was scored on a scale from 0 to 3. After sedation with different anesthetic protocols, a significant reduction in the threat response was observed in all animals, regardless of the protocol used. The smallest reduction occurred when the evaluator stood behind the cat, and the greatest reduction was observed when one of the animal's eyes was covered.

## 1. Introdução

Apesar do amplo conhecimento sobre o exame neurológico de felinos, algumas avaliações e interpretações podem apresentar desafios para o clínico veterinário devido as particularidades encontradas nesta espécie (QUITT et al, 2018). Uma das ferramentas para avaliação do sistema nervoso é o teste de resposta de ameaça que consiste em cobrir um dos olhos do animal com uma das mãos e realizar um estímulo ameaçador com a mão contralateral frente aos olhos do animal (DEWEY e DA COSTA, 2015). Animais com a resposta preservada devem fechar a pálpebra imediatamente após o estímulo. No entanto, os felinos não respondem a essa avaliação de maneira confiável, uma vez que possuem a resposta de piscar muito discreto para esse movimento e por estarem expostos à ambientes estressantes como um hospital veterinário, podendo assim confundir o diagnóstico do clínico veterinário com falso sinal de lesão neurológica (QUITT et al, 2018). Sendo assim, foram desenvolvidas diferentes modalidades para realização do teste de resposta à ameaça em felinos afim de serem comparadas, evidenciando as limitações da resposta nos felinos quando apenas a técnica convencional foi realizada (QUITT et al, 2018 ). Adicionalmente, em alguns pacientes pode-se fazer necessário a contenção química para que o exame possa ser realizado com segurança, especialmente se esse paciente estiver com dor, medo, ansioso ou se apresentar um comportamento agressivo (FEITOSA, 2014). Entretanto, a utilização de fármacos sedativos pode alterar a capacidade do clínico na avaliação da resposta de ameaça, além de ter sua ação desconhecida em como pode influenciar nas reações e respostas avaliados durante o exame neurológico e quanto tempo pode durar o efeito (JUNIOR et al, 2013). Dessa forma, o objetivo deste trabalho consiste em avaliar a resposta de ameaça, realizando três diferentes métodos, em gatos saudáveis, antes e após a realização de sedação.

### 1.1. Fundamentação teórica

#### 1.1.1 Resposta à ameaça

A resposta à ameaça consiste em um teste para avaliação neurológica do animal. O exame é feito cobrindo um olho do animal com uma das mãos e com a mão contralateral é feito um estímulo ameaçador com a mão frente aos olhos do animal (DEWEY e DA COSTA, 2015). Esse movimento deve ser delicado de maneira em que haja pouco deslocamento de ar evitando estimular o ramo olfatório do nervo trigêmeo para que não exista resultados equivocados (GAROSI, 2009).

Até as 10 a 12 semanas de vida em filhotes de cão e gato, essa resposta à ameaça é aprendida e pode ainda não estar desenvolvida (JUNIOR et al, 2013). Antes desse período, a avaliação pode ser feita observando a capacidade de seguir objetos em movimento no ambiente, podendo utilizar bolas de algodão uma vez que são visíveis e não geram ruído significativo (DE LAHUNTAS, 2021).

Esse teste avalia a integridade dos nervos ópticos e faciais ipsolaterais, cerebelo ipsolateral e o prosencéfalo contralateral (DEWEY e DA COSTA, 2015). Um animal com a resposta íntegra deverá fechar as pálpebras imediatamente após a realização do estímulo ameaçador (JUNIOR et al, 2013). A avaliação da resposta à ameaça, avalia a via aferente que envolve a retina, nervo óptico (nervo cranial II), o trato óptico contralateral e o hemisfério norte contralateral e a via eferente que é controlada pelo núcleo e pelo nervo facial (GAROSI, 2009).

Nos felinos, essa avaliação pode não ser muito confiável devido ao seu comportamento desconfiado e estar em ambiente desconhecido e submetido ao estresse, o gato pode responder com indiferença (QUITT et al, 2018 ).

#### 1.1.2 Métodos de realização da resposta à ameaça

Tradicionalmente em cães e gatos, a resposta é avaliada cobrindo um olho com uma mão e fazendo o teste no olho contralateral (DE LAHUNTAS, 2021). Além dos cães e gatos, essa avaliação pode ser feita da mesma

maneira na espécie equina evitando a produção da corrente de ar e tendo o cuidado para não encostar os cílios (ROCHA et al, 2021).

Recentemente, foram desenvolvidos três métodos para realizar a resposta à ameaça em felinos sendo eles o avaliador de costas para o animal; de frente ao animal cobrindo o olho contralateral; de frente ao animal sem cobrir os olhos (QUITT et al., 2018). Nesse estudo, foi visto que a resposta à ameaça estava presente em pelo menos em um dos três métodos. Os melhores resultados obtidos foram alcançados quando se ficou atrás do animal, onde ele ficava mais relaxado, sem necessidade de contato físico com a cabeça e sem a presença do médico veterinário de frente a ele. Nesse método, a resposta à ameaça foi mais intenso e completo.

#### 1.1.3. Lesões associadas a alteração da resposta a ameaça

Em casos de distúrbios cerebelares difusos o animal pode ter uma resposta à ameaça diminuído nos dois olhos. A lesão cerebelar irá causar inibição dos neurônios cerebrocorticais que estão envolvidos na resposta à ameaça. Além disso, quando há lesão no prosencéfalo, a resposta à ameaça pode estar diminuído ou ausente (DE LAHUNTAS, 2021). Uma lesão no nervo óptico direito ou na retina causa uma ausência resposta de ameaça apenas naquele olho.

#### 1.1.4. Limitações do teste de resposta à ameaça na espécie felina

O teste de resposta à ameaça em felinos pode ser um desafio para a avaliação pelo clínico veterinário. Essa espécie apresenta a resposta de piscar muito discreta, dificultando a execução e resultado do teste. Ademais, em gatos com menos de 12 meses de idade, a resposta à ameaça pode estar diminuído ou ausente devido a imaturidade cerebelar (DEWEY e DA COSTA, 2015). Por fim, o ambiente clínico/hospitalar em que são submetidos e a manipulação pelo avaliador são fatores estressantes para os felinos podendo alterar os resultados do teste. Portanto, foram criadas algumas maneiras para burlar o comportamento dos felinos. A adoção da técnica de manejo cat friendly, consiste em ações que irão diminuir o estresse agudo dos gatos e suas alterações comportamentais. Esse método consiste em medidas como: minimizar o tempo de espera para consultas, ambientes separados e silenciosos para gatos evitando a proximidade deles com os cães, realizar o exame no local em que o felino se sentir mais confortável, evitar movimentos bruscos e ruídos (RODAN et al., 2011). Ademais, pode ser feito a utilização de feromônios sintéticos como o Feliway, que são usados para terapia comportamental dos gatos e prevenção do estresse (HENZEL e RAMOS, 2018). Entretanto, em situações que tornem o manejo difícil, onde o felino demonstre estresse agudo e agressividade, será necessário fazer a contenção química do paciente para a realização de exames, onde consiste na aplicação de sedativos afim de minimizar a ansiedade e garantir a segurança do médico veterinário e da equipe.

#### 1.1.5. Influência da sedação na resposta à ameaça

Os medicamentos sedativos têm efeitos adversos significativos, os quais o clínico veterinário deve estar ciente. Além disso, é importante compreender suas características específicas ao serem administrados em gatos saudáveis ou com condições patológicas (PERALTA, 2018). Contudo, caso a sedação influencie na resposta à ameaça dos felinos, pode gerar um resultado falso-positivo, onde o gato tem a resposta ao teste diminuído ou ausente podendo gerar um diagnóstico inverídico e um tratamento equivocado (JUNIOR et al, 2013).

Na rotina, alguns fármacos mais usados para garantir a sedação e relaxamento de boa qualidade é a dexmedetomidina, acepromazina e metadona. A dexmedetomidina é um agonista alfa<sub>2</sub> adrenérgico altamente usado em felinos garantindo principalmente sedação profunda, relaxamento muscular e até mesmo analgesia

(NAGORE, 2012). Seu efeito sedativo é dose-dependente, logo, quanto maior a dose utilizada, maior também será o efeito sedativo e maior será os efeitos colaterais (CORTOPASSI & FANTONI, 2002).

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Critérios de inclusão

Foram avaliados 38 animais para o projeto, destes 2 animais foram excluídos um devido a doença de base prévia e outro por impossibilidade de manipulação devido ao temperamento do animal. Os 36 animais incluídos no estudo, foram considerados saudáveis e não apresentaram histórico ou clínica de problemas neurológicos e oftalmológicos, apresentavam idade superior a 3 meses, ausência de alterações nos exames pré-anestésicos (hematológico, bioquímico e eletrocardiográfico – ASA I/II) e permitiram a manipulação prévia a sedação. Os gatos incluídos neste estudo, foram submetidos a cirurgias eletivas realizadas no Hospital Veterinário “Prof. Ricardo Alexandre Hippler”.

### 2.2. Avaliação pré e pós-sedação

Inicialmente, os gatos foram separados e colocados em ambiente calmo, climatizado, sem a presença de outros animais e ruídos que pudessem causar qualquer tipo de estresse. Além disso, os animais foram ambientados com a música Scooter Bere’s Aria (Hampton et al., 2019) e Feliway para colaborar no enriquecimento ambiental durante 20 minutos prévio as avaliações.

Após a ambientação, os animais tiveram a resposta à ameaça testado de três maneiras distintas por 1 avaliador podendo ser um aluno do último ano de graduação ou um pós-graduando formado em Medicina Veterinária:

- Cobrindo o olho colateral - o animal era segurado por um auxiliar, e o avaliador com uma das mãos segurava a cabeça do animal e cobria o olho não avaliado, enquanto a outra mão era utilizada para realizar o movimento de ameaça (Figura 1);
- De frente ao animal sem cobrir os olhos - o animal era segurado por um auxiliar, e o avaliador com uma de suas mãos realizava o movimento de ameaça frente aos olhos do animal, e a mão contralateral apoiava a cabeça (Figura 2);
- Atrás do animal - o animal era apoiado em uma superfície, e o avaliador se posicionava atrás dele segurando a cabeça com uma das mãos enquanto realizava o movimento de ameaça com a outra (Figura 3).

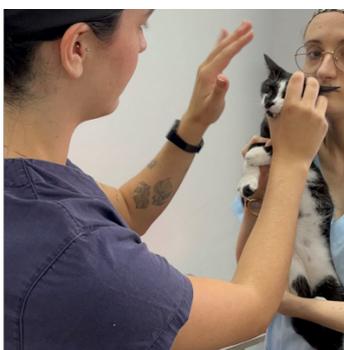


Figura 1. Imagem fotográfica durante a realização do teste de resposta à ameaça cobrindo o olho contralateral ao avaliado. Observa-se a realização do movimento de ameaça com a mão esquerda do avaliador.

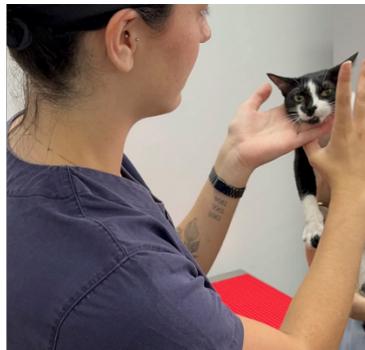


Figura 2. Imagem fotográfica durante a realização do teste de resposta à ameaça de frente ao animal sem cobrir os olhos. Observa-se a realização do teste com a mão direita do avaliador.

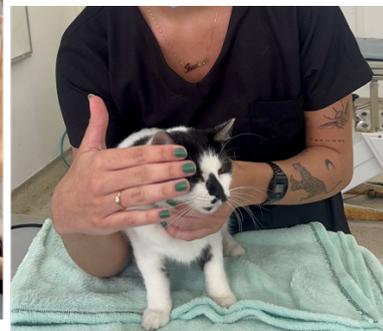


Figura 3. Imagem fotográfica durante o teste de resposta à ameaça onde o avaliador realizava o teste atrás do animal. Observa-se a realização com a mão direita do avaliador.

O teste foi realizado com o avaliador atrás do animal, de frente ao animal cobrindo o olho contralateral ao avaliado e de frente ao animal sem cobrir os olhos, conforme descrito por Quitt e colaboradores (2018). Foram utilizados os dedos de forma com que o reflexo ameaçador causasse menor corrente de ar possível e sem encostar nos cílios dos animais. A ordem de execução dos testes, olho direito e olho esquerdo, foi feita de modo aleatório pelo examinador.

A resposta a ameaça foi pontuada em uma escala de 0 a 3, sendo 0 = ausente (ausência completa de qualquer movimento de pálpebra superior e inferior); 1 = diminuído; 2 = normal; 3 = aumentado.

Após realização dos testes acima descritos, os animais receberam a administração da medicação pré-anestésica por via intramuscular e permaneceram novamente no ambiente climatizado e sem ruídos, na presença de Feliway e música durante 15 a 20 minutos. Em seguida, foram submetidos aos mesmos testes pelo mesmo avaliador inicial.

### 2.3. Protocolos de sedação

Os protocolos de sedação usados no projeto, foram compostos de cloridrato de dexmedetomidina, acepromazina e bromidato de metadona em diferentes doses e associações (Tabela 1). Todos os fármacos foram aplicados em dose única por via intramuscular. A seleção do protocolo foi realizada de acordo com o procedimento a ser realizado e o temperamento do animal.

**Tabela 1.** Protocolos de sedação.

Protocolo de Sedação	Fármaco	Dose
A	Dexmedetomidina	3 mcg/kg
	Metadona	0,3 mg/kg
	Acepromazina	0,03 mg/kg
B	Dexmedetomidina	3 mcg/kg
	Metadona	0,3 mg/kg
C	Dexmedetomidina	2 mcg/kg
	Metadona	0,3 mg/kg
	Acepromazina	0,02 mg/kg
D	Dexmedetomidina	3 mcg/kg
	Metadona	0,3 mg/kg
	Acepromazina	0,05 mg/kg
E	Dexmedetomidina (diluída em solução fisiológica)	3 mcg/kg
	Metadona	0,3 mg/kg
	Acepromazina	0,05 mg/kg
F	Dexmedetomidina	3 mcg/kg
	Metadona	0,3 mg/kg
	Acepromazina	0,02 mg/kg

O protocolo de sedação foi aplicado em uma das coxas dos gatos no músculo semitendinoso ou semimembranoso, utilizando uma seringa de 1 ml acoplada com uma agulha 13 x 0,45 mm. Os gatos foram contidos com uma flanela pelo auxiliar para a imobilizado de membros torácicos e pélvicos deixando apenas o local da aplicação descoberto.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Análise de dados

As variáveis antes e após a sedação das diferentes repostas foram submetidas à análise descritiva utilizando-se a mediana e o intervalo interquartil. devido à natureza qualitativa ordinal das mensurações. Devido ao caráter qualitativo ordinal das variáveis mensuradas no estudo, elas foram avaliadas por meio do teste não-paramétrico

de Wilcoxon, considerando os dados como pareados. O tamanho do efeito (r) foi calculado a partir da estatística Z dividida pela raiz quadrada do tamanho da amostra. O valor de r varia de 0 a 1, sendo normalmente atribuído valores de 0,10 a 0,30 como baixo efeito, 0,31 a 0,50 efeito moderado e maior que 0,51 grande efeito (TOMCZAK, 2014).

O efeito do protocolo nas diferentes repostas posteriores a sedação foi avaliado por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Todas as análises foram realizadas no Software R (R Core Team, 2022), adotando um nível de significância de 5%.

### 3.2. Resultados

A análise descritiva demonstra que a resposta à ameaça foi influenciada pelo efeito da sedação em todos os animais do estudo, ocorrendo redução da resposta independentemente do protocolo utilizado conforme demonstrado na tabela 2.

**Tabela 2.** Análise descritiva das variáveis avaliadas antes e depois da sedação.

Variável	Lado	n	Mediana ± IIQ		P-valor	r
			Antes	Depois		
Cobrindo	Esquerdo	36	2 ± 0	1 ± 1	<0,001	0,74
	Direito	36	2 ± 0	1 ± 1	<0,001	0,68
De costas	Esquerdo	36	2 ± 0	1 ± 1	<0,001	0,63
	Direito	36	2 ± 0	1 ± 1,25	<0,001	0,61
De frente	Esquerdo	36	2 ± 0	1 ± 1	<0,001	0,67
	Direito	36	2 ± 0	1 ± 1	<0,001	0,74

n: número de observações; IQR: intervalo interquartil; r: tamanho do efeito.

A comparação pré e pós sedação individualizada dos olhos, permitiu a identificação de mudanças na resposta a ameaça nas diferentes metodologias executadas (Figura 1, 2 e 3), sendo observada uma menor incidência de animais com resposta diminuída a ausente quando a resposta a ameaça foi realizada utilizando a técnica “de costas” (Figuras 6 e 7), diferentemente das outras formas de avaliação, sendo observado um número maior de animais com redução da resposta a ameaça quando esta foi avaliada em frente ao animal cobrindo um dos olhos (Figuras 4 e 5)

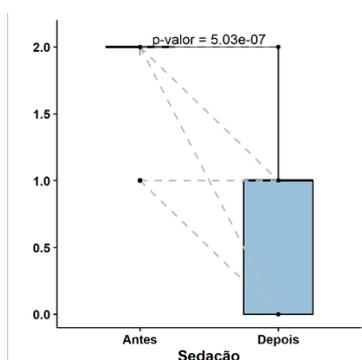


Figura 4. Relação de antes e depois da sedação dos 36 animais avaliados na variável “cobrindo esquerdo”

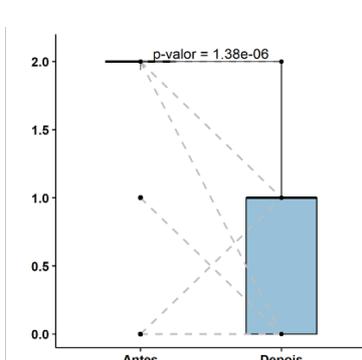


Figura 5. Relação de antes e depois da sedação dos 36 animais avaliados na variável “cobrindo direito”

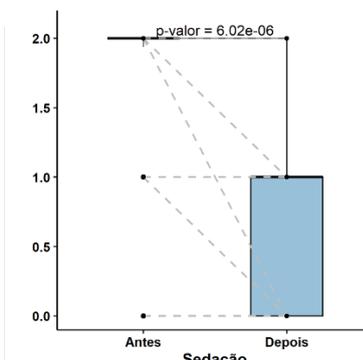


Figura 6. Relação de antes e depois da sedação dos 36 animais avaliados na variável “de costas esquerdo”

Comparando o teste feito com a avaliador de costas (Figuras 4 e 5), foi possível observar que na avaliação do olho esquerdo do animal (Figura 5), todos os animais que apresentaram a resposta diminuída previamente a sedação, e a resposta se tornou ausente após a sedação diferentemente do olho direito (Figura 4).

De todos os animais que apresentaram resposta a ameaça ausente aos testes antes da sedação (Figura 5, 6, 7, 8), apenas em duas metodologias houve aumento na incidência de responsividade à resposta a ameaça após a sedação (Figura 5 e 8).

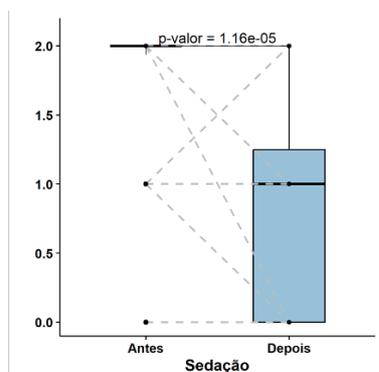


Figura 7. Relação de antes e depois da sedação dos 36 animais avaliados na variável "de costas direita"

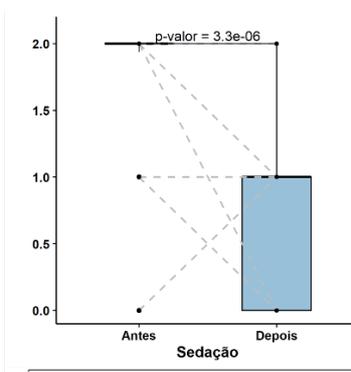


Figura 8. Relação de antes e depois da sedação dos 36 animais avaliados na variável "de frente esquerdo"

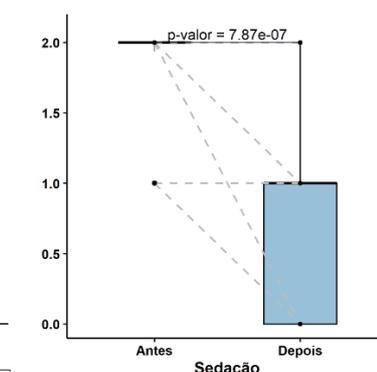


Figura 9. Relação de antes e depois da sedação dos 36 animais avaliados na variável "de frente direito"

Foi realizado uma análise descritiva comparando os diferentes protocolos de sedação, sendo excluídos os protocolos F, B, C para fins de análise devido a não homogeneidade dos grupos. Comparando os protocolos A, D e E não houve diferença estatística entre nenhum deles quando comparado os efeitos pré e pós sedação, sendo eles considerados todos estatisticamente iguais (Tabela 3).

Além disso, a análise descrita mostrou maior porcentagem de fêmeas no estudo (Tabela 4).

**Tabela 3.** Análise descritiva das variáveis avaliadas nos diferentes protocolos de sedação.

Variável	Lado	Protocolo	n	Mediana	IIQ	Tukey
Cobrindo	Esquerdo	A	9	0	0	a
		D	17	1	0	a
		E	6	0,5	0,74	a
	Direito	A	9	1	0	a
		D	17	1	0	a
		E	6	0	0	a
De costas	Esquerdo	A	9	1	1,48	a
		D	17	1	0	a
		E	6	1	0	a
	Direito	A	9	1	1,48	a
		D	17	1	0	a
		E	6	0,5	0,74	A
De frente	Esquerdo	A	9	1	1,48	a
		D	17	1	0	a
		E	6	0,5	0,74	a
	Direito	A	9	1	1,48	a
		D	17	1	1,48	a
		E	6	0,5	0,74	a

n: número de observações; IIQ: intervalo interquartil.

**Tabela 4.** Análise descritiva do sexo dos animais.

Sexo	n	%
Macho	10	27,78
Fêmea	26	72,22
Total	36	100

### 3.3. Discussão

O exame neurológico em gatos é fundamental para avaliar a evolução do paciente que apresenta sinais neurológicos. Nessa espécie, as avaliações são limitadas, visto que os gatos são mais propensos ao estresse e menos tolerantes à manipulação e contenção em comparação aos cães (AZEVEDO ET AL, 2023). Portanto, a realização do exame neurológico pode ser muito desafiadora, sendo necessário a contenção química desses pacientes para que possa realizar o teste de forma segura (FEITOSA, 2014). Entretanto, foi evidente no nosso estudo que o protocolo utilizado para sedação influenciou no resultado da resposta à ameaça dos gatos, independente da dose utilizada do fármaco.

Em um trabalho realizado utilizando gatos neurologicamente e oftalmologicamente saudáveis, foram executados 3 maneiras diferentes para a avaliação da resposta à ameaça sendo elas: o avaliador de frente ao animal sem cobrir os olhos, de frente ao animal cobrindo o olho colateral e o avaliador se posicionando atrás do animal (QUITT ET ALL, 2018). O estudo revelou que o modo mais confiável do teste foi obtido quando o avaliador se posicionou atrás do animal, que foi a técnica no qual o gato se mostrou mais relaxado e a técnica mais ineficiente foi a do avaliador de frente ao animal cobrindo um dos olhos. A fim de comparar os resultados, em nosso trabalho também foram realizadas as três técnicas de avaliação da resposta à ameaça. Foram obtidos os mesmos resultados do estudo de Quitt e colaboradores (2018), visto que a modo em que o animal apresentou maior redução e ausência da resposta à ameaça foi devido ao maior contato físico e manipulação do gato.

Houve redução da resposta a ameaça após a sedação em todos os animais do nosso estudo, independentemente do protocolo utilizado ou forma de realização do teste de resposta a ameaça. Diferentemente do que Azevedo e colaboradores (2023) observaram, onde não houve redução na resposta a avaliação de nenhum dos nervos cranianos após administração de Gabapentina, incluindo a resposta a ameaça. Porém, em nosso estudo foram utilizados fármacos de diferentes classes farmacológicas, como opioide, fenotiazínicos e agonista-alfa-2-adrenérgicos, sendo metadona, acepromazina e dexmedetomidina respectivamente, que em associação potencializam o efeito de sedação. Já a Gabapentina é da classe dos anticonvulsivantes que teve como objetivo no trabalho a diminuição do estresse durante o transporte do animal até o ambiente hospitalar veterinário (AZEVEDO ET AL, 2023). Portanto, animais que apresentaram efeitos colaterais após o uso da medicação, como ataxia e déficit postural foi recomendado a reavaliação neurológica.

Em um estudo com cães, foi utilizado Butorfanol, um opioide agonista de receptores kappa e antagonista de receptores  $\mu$ , na dose de 0,2 mg/kg por via intramuscular para posterior avaliação da resposta à ameaça, que se manteve normal nas avaliações feitas após 10, 20, 30 e 45 minutos após a administração (DOUET et al, 2018). Em nosso estudo, utilizamos a Metadona, um opioide agonista total de receptores  $\mu$ , em associação com dexmedetomidina, um agonista-alfa-2-adrenérgico, e acepromazina, um fenotiazínicos, em diferentes doses, que em combinação potencializam o efeito de sedação e tranquilização do animal. Essa associação pode ter influenciado na resposta a ameaça, gerando resultados diferentes do estudo em cães que utilizou a metadona de forma isolada.

Em um estudo realizado por Selmi e colaboradores (2003), foi avaliado os efeitos sedativos da Dexmedetomidina isolada e em associação com Butorfanol ou Cetamina. O escore de sedação foi avaliado de 0 a 3, sendo 0 sem sedação, 1 sendo grau de sedação leve (reclinado, cabeça baixa, reflexo palpebral forte e rotação normal dos olhos), 2 sendo efeito moderado (reclinado, cabeça baixa, reflexo palpebral moderado e rotação ventromedial

parcial) e 3 sendo grau profundo de sedação (reclinado, cabeça baixa, ausência de reflexo palpebral e rotação ventromedial completa). Foi visto que a Dexmedetomidina isolada, na dose de 10 ug/kg por via intramuscular, possuiu aproximadamente escore 1 de sedação, enquanto a associação com Butorfanol ou Cetamina apresentaram aproximadamente escore de sedação acima de 2. No nosso trabalho, em todos os protocolos realizados foi utilizado Dexmedetomidina em associação com a Metadona, sendo que nenhum deles foi administrado a Dexmedetomidina de forma isolada. Sendo assim, o protocolo de associação de agonista-alfa-2-adrenérgico com opioide pode ter influenciado no resultado da pesquisa.

#### 4. Conclusões

Todos os gatos deste trabalho eram visualmente e neurologicamente saudáveis e apresentaram diminuição ou ausência de resposta à ameaça independente do protocolo de sedação utilizado. Porém, o modo mais confiável do exame foi obtido quando o avaliador se posicionou atrás do gato e o menos confiável com o avaliador de frente ao animal avaliando o olho contralateral. Os resultados obtidos não foram influenciados pela idade, peso ou sexo dos animais. As diferentes associações de metadona, acepromazina e dexmedetomidina influenciam a resposta à ameaça em felinos, não sendo indicadas para contenção química de felinos submetidos a avaliação neurológica.

#### Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio ao aprimoramento e divulgação de resultados.

#### Referências

- DEWEY, Curtis W.; da COSTA, Ronaldo C. *Practical Guide to Canine and Feline Neurology*. 3rd. Ames: Wiley-Blackwell, 2015.
- QUITT, P. R., Reese S., Fischer A., Bertram S., Tauber C., Matiasek L. Assessment of menace response in neurologically and ophthalmologically healthy cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2018.
- JUNIOR, Antonio de Pinhos Marques et al. *Neurologia em cães e gatos*. FEPMVZ, 2013.
- ROCHA, Bruno Divino et al. *Cadernos técnicos de veterinária e zootecnia: Procedimento aplicados para programas de boas práticas agropecuárias*. FEPMVZ, 2021.
- DE LAHUNTA, Alexandrer et al. *De Lahunta's Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 5th ed. 2021.
- RODAN, I., et al. AAFP and ISFM feline-friendly handling guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2011; 13: 364-375.
- FRANCK, K. R. *Avaliação da relação entre o comportamento dos gatos e o nível de ansiedade do proprietário durante a consulta veterinária*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2023.
- HENZEL, M.; RAMOS, D. O uso dos feromônios sintéticos na clínica veterinária comportamental. *APAMVET*, São Paulo, v. 9, n. 6, p. 17, 2018
- GAROSI, L. Neurological Examination of the Cat: How to Get Started. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2009; 11: 340-348.
- PERALTA, C. P. *Sedação de felinos domésticos*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.
- FEITOSA, F. L. F. *Semiologia veterinária*. 3 ed. Roca, 2014.
- FANTONI, D.T e CORTOPASSI, S. R. G. *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: Roca, 2002
- NAGORE, L. et al. Sedative effects of dexmedetomidine, dexmedetomidine-pethidine and dexmedetomidine-butorphanol in cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2012; 36: 222–228.
- SINCLAIR M.D. A review of the physiological effects of alpha2-agonists related to the clinical use of medetomidine in small animal practice. *Can Vet J*. 2003; 11 :885-97.

LUMB; JONES. Anestesiologia e Analgesia em veterinária. 5 ed. Roca, 2017

VAN HAAFTEN K.A; FORSYTHE L.R.E; STELOW E.A, BAIN M.J. Effects of a single preappointment dose of gabapentin on signs of stress in cats during transportation and veterinary examination. J Am Vet Med Assoc. 2017; 251 (10):1175-1181

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Maciej Tomczak and Ewa Tomczak. The need to report effect size estimates revisited. An overview of some recommended measures of effect size. Trends in Sport Sciences. 2014; 1(21):19-25.

HAMPTON A, et al. Effects of music on behavior and physiological stress response of domestic cats in a veterinary clinic. J Feline Med Surg. 2020; 22 (2): 122-128.

DE AZEVEDO AF, et al. Does preappointment gabapentin affect neurological examination findings? A prospective, randomized and blinded study in healthy cats. J Feline Med Surg. 2023.

SELMI A.L, et al. Evaluation of the sedative and cardiorespiratory effects of dexmedetomidine, dexmedetomidine-butorphanol, and dexmedetomidine-ketamine in cats. Journal of the American Veterinary Medical Association, 2003.

## Capítulo 20

### “AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOATIVAS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *PLINIA CAULIFLORA* (MART.) KAUSEL”

#### Autores

Jéssica de Andrade Espindula<sup>1</sup>, Lilian Krohling Fraga<sup>1</sup>, Beatriz Astori Paraguassu<sup>1</sup>, Filipe de Farias Furtado Martins<sup>1</sup>, Licia Cristina Silva de Lima Oliveira<sup>2</sup>, Larissa Rodrigues de Amorim<sup>3</sup>, Girlandia Alexandre Brasil<sup>4\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Farmácia, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Discente do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Discente do Programa de Pós-graduação em Assistência Farmacêutica (PPGASFAR), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>4</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: girlandia.brasil@uvv.br

Telefone: +55 027 99740-0803

#### Resumo

A jabuticabeira (*Plinia cauliflora*) é uma planta nativa brasileira, suas folhas e cascas são popularmente utilizadas no tratamento de doenças como diarreias e inflamações, além disso, seus frutos são amplamente consumidos devido ao sabor. Apesar do seu uso popular, poucos estudos realizados caracterizam quimicamente suas folhas bem como estudam sua capacidade antioxidante. Portanto, nosso trabalho avaliou a composição química e atividade antioxidante das folhas da jabuticabeira, por meio da quantificação dos compostos fenólicos utilizando a metodologia de Folin-Ciocalteu e determinação da ação antioxidante pelo sequestro do radical livre ABTS. Concluindo que há a presença desses compostos e um potencial antioxidante.

#### Abstract

The jabuticaba tree (*Plinia cauliflora*) is a native Brazilian plant, with its leaves and bark traditionally used to treat diseases such as diarrhea and inflammation. Additionally, its fruits are widely consumed due to their flavor. Despite its popular use, few studies have chemically characterized its leaves or explored their antioxidant capacity. Therefore, our study evaluated the chemical composition and antioxidant activity of jabuticaba leaves by quantifying phenolic compounds using the Folin-Ciocalteu method and determining antioxidant action through ABTS free radical scavenging. We concluded that these compounds are present and the leaves have antioxidant potential.

**Palavras-chave:** Jabuticabeira; extrato; antioxidantes; compostos fenólicos

## 1. Introdução

A jabuticabeira (*Plinia cauliflora* ou *Myrciaria cauliflora*) é uma planta nativa brasileira da região Centro-Sul do país, porém também é cultivada em estados do Nordeste (WAGNER JUNIOR, 2022). Ela pertence à família Myrtaceae, que são fontes de óleos essenciais e por isso são usadas como alimentos e condimentos (SOUZA-MOREIRA, 2010). Popularmente chamada de jabuticabeira, sua árvore pode alcançar 15 metros de altura, suas folhas são simples de até 7 cm de comprimento e suas flores e frutos são fixadas ao caule e produz uma grande quantidade de frutos duas ou mais vezes ao ano (LORENZI, 2000).

Quanto à composição química, estudos demonstraram que a *P. Cauliflora* possui fenóis, taninos, alcalóides e lipídeos em suas folhas e uma pequena quantidade de óleos essenciais. Os extratos polares apresentaram atividade antioxidante superior a 90%, apresentando resultados interessantes contra espécies de *Candida sp* (SOUZA-MOREIRA, 2010). Seu fruto é rico em antocianinas, taninos e outros compostos fenólicos (NEVES, 2016). Testes realizados com resíduos da casca do fruto, apresentaram teor de 17,89% de compostos fenólicos e redução dos níveis plasmáticos de ácido úrico em animais com dieta enriquecida com colesterol (BORGES et al, 2023). Na medicina popular, é utilizada como antidiarréico e contra doenças inflamatórias (BRITO, 2019), contra inflamações de garganta, anginas do peito, asma e erisipela (COELHO, 2017).

Além do uso terapêutico popular, o extrato das folhas demonstrou atividades biológicas contra as cepas testadas, por conta dos altos teores de compostos fenólicos e ações anti-inflamatórias, as cascas de jabuticabeira apresentaram efeitos antidiarreicos, antinociceptivos e antipiréticos promissores (BRITO, 2019). A *P. cauliflora* apresenta grande variedade de compostos, possuindo potencial farmacológico (BORGES et al, 2014), principalmente devido aos polifenóis que apresentam capacidade de eliminação de radicais livres (JIN et al, 2023).

Os radicais livres são espécies químicas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados, essa característica promove instabilidade e alta reatividade. A produção dos radicais livres ocorre naturalmente, advindos de processos bioquímicos fisiológicos, mas são aumentados em condições fisiopatológicas. A sua produção em excesso leva ainda, ao desequilíbrio e a alta reatividade desses constituintes levam a transtornos metabólicos que podem predispor ao desenvolvimento de doenças (MACHADO et al., 2009).

Na maioria das vezes esses radicais livres são derivados do oxigênio e, por isso, são denominados de Espécies Reativas de Oxigênio ou EROs (FORRESTER et al, 2018). Os EROs podem gerar danos às biomoléculas, como proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos, causando alterações e até mesmo apoptose celular (VELLOSA et al, 2021).

Por serem substâncias normalmente produzidas, o nosso organismo tem a capacidade de eliminá-los, por meio de um sistema antioxidante endógeno, composto por enzimas especializadas na sua detoxificação (MACHADO et al., 2009), entretanto, moléculas ingeridas como tocoferóis, carotenóides e polifenóis (principalmente flavonoides), possuem ação protetiva no nosso organismo (BARREIROS, 2006).

Nesse sentido, é interessante estudar novas plantas que possuem potencial antioxidante e, que, assim poderiam ser utilizadas em novos estudos para determinar a sua ação farmacológica. Assim, o objetivo do estudo foi determinar a composição química e avaliar a atividade antioxidante in vitro do extrato de folhas de *Plinia cauliflora*.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Obtenção do extrato etanólico.

As folhas de *Plinia cauliflora* foram obtidas em mercados locais da cidade de Vila Velha (Espírito Santo) e armazenadas no Laboratório de Investigação Cardiovascular, Metabólica e de Alimentos Funcionais da Universidade Vila Velha.

O extrato foi preparado de acordo com metodologia de Bouslama e colaboradores (2020) com modificações. Resumidamente, as folhas foram trituradas e desengorduradas com Hexano (50g/150mL) por meio de três ciclos no ultrassom (60s), após a extração o material vegetal foi levado para a estufa ventilada (Estufa TECNAL TE - 394/2) até a evaporação do solvente. Em seguida, o material vegetal foi extraído por maceração dinâmica, utilizando álcool etílico 99% como veículo extrator, sendo respeitada a mesma proporção (50g/150mL). O extrato foi filtrado duas vezes por semana durante 23 dias e o álcool etílico repostado a cada filtragem.

Por fim, o álcool foi eliminado, por meio de rota-evaporação (Rotavapor R-100, Buchi), seguindo do retorno do material para estufa ventilada por 24 horas. Após esse processo, o extrato bruto foi coletado e armazenado em tubos eppendorfs protegidos da luz a -40°C até a realização das análises.

### 2.2. Teor de compostos fenólicos total

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada pela metodologia de Folin-Ciocalteu, segundo Paudel et al (2018), com modificações. Adicionou-se 10 µL de reagente Folin - Ciocalteu (Sigma - Aldrich) em 25 µL das soluções de 1,5 mg/mL, 1,25 mg/mL, 1,0 mg/mL e 0,5 mg/mL do extrato etanólico de *Plinia cauliflora* e 215 µL de solução de Carbonato de Sódio (Sigma - Aldrich) a 10%. As soluções foram preparadas utilizando água livre de CO<sub>2</sub>. Após três minutos de reação, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 715 nm (Multiskan SkyHigh de microplacas UV/Visível da Thermo Fisher Scientific, modelo A51119500). Como padrão, utilizou-se Ácido Gálico (Sigma - Aldrich) nas concentrações de 0,1 a 1,2 mg/mL. Sendo os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por ml de amostra, a partir da equação da reta da curva de calibração ( $y = 0,814x + 0,0105$ ,  $R^2 = 0,993$ ).

### 2.3. Determinação da ação antioxidante do extrato pelo sequestro do radical livre ABTS

A atividade antioxidante foi determinada de acordo com Re et al. (1999) com modificações, de acordo com a metodologia de sequestro dos radicais 2,2-azino-bis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS). A solução estoque de ABTS foi preparada com ABTS (Sigma - Aldrich), diluído em Etanol 50% V/V, e Persulfato de Potássio (Sigma - Aldrich), diluído em água, o volume de 50mL foi completado com etanol 50%. Após a armazenagem na geladeira por 24h, a solução de estoque foi diluída com Etanol 50% V/V, até obter a leitura de absorvância de  $1,0 \pm 0,02$  à 734 nm. A leitura foi realizada a 734nm utilizando espectrofotômetro leitor de microplacas (Multiskan SkyHigh de microplacas UV/Visível da Thermo Fisher Scientific, modelo A51119500). Foi realizada uma diluição seriada do extrato em Etanol, nas concentrações de 250 ug/mL até 4,17 ug/mL. Adicionou-se 270 µL da solução de ABTS diluída, a 30 µL de cada diluição de amostra em uma placa de 96 poços, sendo o teste realizado em triplicada. Para o branco, foram adicionados 270 µL da solução de ABTS diluída, a 30 µL de Etanol. Após o repouso de 6 minutos, no escuro, a leitura foi realizada a 734 nm.

Foi calculado o IR50 para a determinar a redução dos radicais pela fórmula:

$$I(\%) = \frac{(AbsB - AbsT)}{AbsB} \times 100$$

Sendo que AbsB se refere à absorvância média do branco e AbsT se refere à absorvância do teste.

## 2.4. Análise estatística

Os dados de análise de quantificação de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram expressos como média, mais ou menos o desvio padrão da média.

## 3. Resultados e Discussão

Os compostos fenólicos, também denominados polifenóis, são formados através do metabolismo secundário das plantas, nas plantas eles possuem diversas propriedades, como proteção a contra fatores ambientais e bióticos adversos, proteção ao tecido das plantas dando rigidez aos vasos, atração para facilitar a polinização e proteção contra raios UV (VIZZOTTO et al, 2010).

Os polifenóis perfazem uma classe de compostos que têm como característica a presença de grupos fenólicos, e incluem desde os flavonóides, antocianinas, entre outros (ARNOSO et al, 2019). Uma das características interessantes desses compostos é a capacidade de eliminar Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), por meio da doação de elétrons e estabilização dessas espécies (JIN et al, 2023), além disso, tendo ação anti-inflamatórias e imunomoduladoras, sendo fonte de vários estudos (JIN et al, 2023).

Desta forma, plantas que são ricas em compostos fenólicos têm potencial de agir como antioxidantes e, dessa forma, podem prevenir doenças. Na tabela 1 estão apresentados os resultados de quantificação dos compostos fenólicos em diferentes concentrações do extrato da jabuticabeira.

**Tabela 1.** Compostos fenólicos da *Plinia cauliflora*

[ ] Extrato mg/mL <sup>1</sup>	mg Eq Ac. Gálico/mL <sup>2</sup>
1,5	0,22 ± 0,006
1,25	0,18 ± 0,005
1,0	0,13 ± 0,002
0,5	0,08 ± 0,009

<sup>1</sup> Extrato etanólico de *P. cauliflora*

<sup>2</sup> mg de equivalentes de Ácido Gálico por mL, ± desvio padrão

Nossos dados corroboram o de outros autores, que também identificaram compostos fenólicos nas folhas da Jabuticabeira. Galvão et al (2021), apresentaram análises dos compostos fenólicos das folhas de *P. cauliflora* por meio de cromatografia líquida, identificando 14 compostos fenólicos, sendo 11 flavonoides, 2 ácidos fenólicos e outros fenólicos. Também analisando as folhas de *P. cauliflora*, Souza-Moreira et al (2010), em análise fitoquímica concluíram que há a prevalência de fenólicos na composição das folhas e uma possível atividade antioxidante e antimicrobiana.

A presença dos compostos fenólicos promove uma ação antioxidante, ou seja, essas substâncias são capazes de reduzir os EROs presentes em solução. A atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas *P. cauliflora* foi avaliada pela sua efetividade em consumir os radicais ABTS sendo o IR 50 de 180,66 µg/mL.

No estudo de Dalponte Dallabona et al (2020), utilizando a casca do fruto da jabuticabeira, encontrou-se IR50 na metodologia ABTS de 123,6 ± 0,7 µmol/mL e DPPH 28,7 ± 0,4 µmol/mL. Analisando o extrato de folhas e ramos, Paula et al. (2021), utilizando DPPH, encontraram os seguintes valores de IC50 de 1,45 ± 0,02 para as folhas e 1,43 ± 0,08 µg/mL para os ramos. Sendo assim, os valores encontrados no nosso estudo diferem da

literatura, tendo um consumo menor de radicais livres. Isso pode ocorrer devido à diferença das partes utilizadas da planta, ou mesmo à concentração diferente dos extratos. Além disso, por se tratarem de metabólitos secundários, plantas da mesma espécie podem apresentar quantificações diferentes do metabólito (PILATTI, 2019). Porque o solo, clima, manejo, extração, demais fatores ambientais (OLIVEIRA, 2009) e modo de secagem do material vegetal (NG, 2020), podem influenciar nesses valores.

Sendo assim, nossos dados são interessantes, pois muitos estudos são realizados sobre os frutos e cascas dos frutos, porém pouco se tem sobre as folhas e ramos da *P. cauliflora* (Paula et al. 2024).

#### 4. Conclusões

Os dados obtidos do extrato etanólico da *Plinia cauliflora*, demonstram a presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante interessante. Nossos resultados são relevantes, pois há poucos estudos que avaliam folhas da Jabuticabeira, nossos dados podem oferecer novas perspectivas para o desenvolvimento de produtos naturais, ampliando as opções de uso dos recursos naturais desta planta além dos frutos.

#### Agradecimentos

Agradecimentos à Universidade Vila Velha (UVV) e à Coordenação de Iniciação Científica pela inclusão do projeto ao Programa de Iniciação Científica Voluntária. À Dr<sup>a</sup> Girlandia Brasil pela orientação e aos demais membros do Laboratório de Investigação Cardiovascular, Metabólica e de Alimentos Funcionais (LabCardio) pelo apoio.

#### Referências

- ARNOSO, B. J. de M.; DA COSTA, G. F.; SCHMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. *Nutrição Brasil*, v. 1, p. 39–48, 2019.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29, n. 1, p. 113–123, jan. 2006.
- BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active Compounds and Medicinal Properties of *Myrciaria* genus. *Food Chemistry*, v. 153, p. 224–233, 2014.
- BORGES, L. L. et al. Efeitos do extrato líquido de resíduos de frutos de *Plinia cauliflora* sobre parâmetros bioquímicos de hamsters chineses. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 83, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/rbfar/a/Yrfr94RjyLzhJpvyDsY9PPs/?lang=en>. Acesso em: 29 ago. 2024.
- BOUSLAMA, L. et al. Identification of an antiviral compound isolated from *Pistacia lentiscus*. *Archives of microbiology*, v. 202, n. 9, p. 2569–2578, 2020.
- BRITO, Thaise Gabriele da Silva. Aplicações biotecnológicas de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel. 2019. 141 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/34074>. Acesso em: 09 jul. 2024.
- COELHO, J. A. Avaliação *in vitro* das atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de extratos orgânicos das cascas do fruto da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg). 2017. 56 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2017.
- DALPONTE DALLABONA, I. et al. Desenvolvimento de esferas de alginato com extratos de casca de jabuticaba e própolis encapsulados para obter um novo aditivo antioxidante corante natural. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 163, p. 1421–1432, 2020.
- DE LIMA PAULA, P. et al. Investigação farmacológica das atividades antioxidante e anti-inflamatória de extratos de folhas e ramos de *Plinia cauliflora* (Jabuticaba). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 280, n. 114463, p. 114463, 2021.

- DE LIMA PAULA, P. et al. Jaboticaba (*Plinia cauliflora*): uma revisão de literatura sobre sua composição química e atividades biológicas. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, v. 1 Supl, p. 162–179, 2024.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 43, n. 1, p. 61–68, jan. 1997.
- FORRESTER, S. J. et al. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circulation Research*, v. 122, n. 6, p. 877–902, 2018.
- GALVÃO, B. V. D. et al. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Jaboticaba) leaf extract: In vitro anti-*Trypanosoma cruzi* activity, toxicity assessment and phenolic-targeted UPLC-MSE metabolomic analysis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 277, n. 114217, p. 1-12, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037887412100444X?via%3Dihub#section-cited-by>. Acesso em: 28 ago. 2024.
- JIN, Q. et al. Oxidative stress and inflammation in diabetic nephropathy: role of polyphenols. *Frontiers in Immunology*, v. 14, 2023.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. São Paulo: Instituto Plantarum, 2000.
- MACHADO, L. P.; KOHAYAGAWA, A.; SAITO, M. E.; SILVEIRA, V. F. da; YONEZAWA, L. A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 8, n. 1, p. 84–94, 2009.
- NEVES, Nathália de Andrade. *Compostos fitoquímicos e bioativos em diferentes espécies, licor e fermentado de jaboticaba*. 2016. 96 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/9886/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 09 jul. 2024.
- NG, Z. X.; YONG, P. H.; LIM, S. Y. Tratamentos de secagem personalizados aumentaram a extração de fitoquímicos e a atividade antioxidante de plantas medicinais economicamente viáveis. *Industrial Crops and Products*, v. 155, n. 112815, p. 112815, 2020.
- OLIVEIRA, A. C. de; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.
- PAUDEL, M. R.; CHAND, M. B.; PANT, B.; PANT, B. Antioxidant and cytotoxic activities of *Dendrobium moniliforme* extracts and the detection of related compounds by GC-MS. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 18, n. 1, p. 134, 23 abr. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5913799/>. Acesso em: 27 ago. 2024.
- PILATTI, D. M. et al. Comparison of the phytochemical profiles of five native plant species in two different forest formations. *Brazilian Journal of Biology*, v. 79, n. 2, p. 233–242, 2019.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, p. 9–10, 1999.
- SOUZA-MOREIRA, T. M.; MOREIRA, R. R. D.; SACRAMENTO, L. V. S.; PIETRO, R. C. L. R. Histochemical, phytochemical and biological screening of *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, Myrtaceae, leaves. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20, n. 1, p. 48–53, 2010.
- VELLLOSA, J. C. R. et al. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. *Revista Brasileira de Desenvolvimento*, v. 7, n. 1, p. 10152–10168, 2021.
- VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. *Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16 p.
- WAGNER JUNIOR, A.; DANNER, M. A.; CITADIN, I. *Jaboticabeiras*. 1. ed. Curitiba, PR: EDUTFPR, 2022. 452 p.

## Capítulo 21

### “IMPACTO DA DISBIOSE INTESTINAL NAS CRISES CONVULSIVAS INDUZIDAS POR PENTILENOTETRAZOL”

#### Autores

João Pedro Costa Câmara<sup>1</sup>, Vitória Oliveira Pereira<sup>2</sup>, Eduarda de Souza Belisário<sup>3</sup>, Bianca Prandi Campagnaro<sup>4\*</sup>

#### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Fisioterapia, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Discente do Curso de Enfermagem, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES

<sup>4</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: bianca.campagnaro@uvv.br

Telefone: +55 027 99942-5168

#### Resumo

A epilepsia é uma doença neurológica caracterizada por alterações na atividade elétrica dos neurônios. Este estudo investigou o impacto da disbiose intestinal na gravidade das crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol em camundongos machos da linhagem C57BL/6. Foram utilizados 45 animais divididos em três grupos aleatoriamente. A disbiose intestinal foi induzida com um coquetel de antibióticos e as crises foram registradas e analisadas. Observou-se que a disbiose intestinal agravou as crises, reduziu a movimentação, aumentou o peso do ceco e afetou o bem-estar dos animais, sugerindo que a microbiota intestinal modula a excitabilidade neuronal e as crises epiléticas.

#### Abstract

Epilepsy is a neurological disorder characterized by changes in the electrical activity of neurons. This study investigated the impact of intestinal dysbiosis on the severity of seizures induced by pentylene tetrazol in male C57BL/6 mice. A total of 45 animals were randomly divided into three groups. Intestinal dysbiosis was induced using a cocktail of antibiotics, and the seizures were recorded and analyzed. It was observed that intestinal dysbiosis worsened the seizures, reduced movement, increased cecum weight, and affected the well-being of the animals, suggesting that the intestinal microbiota modulates neuronal excitability and epileptic seizures.

**Palavras-chave:** epilepsia; microbiota intestinal; eixo intestino-cérebro; coquetel de antibióticos; inflamação

## 1. Introdução

A epilepsia é um distúrbio neurológico complexo, caracterizado por episódios recorrentes de atividade cerebral anormal, descoordenada ou excessiva, afetando mais de 75 milhões de pessoas em todo o mundo (Çiltaş et al., 2022; Weltha et al., 2019). Além das convulsões, essa condição acarreta desafios significativos de ordem social, biológica e fisiológica, impactando profundamente a qualidade de vida dos pacientes (Bastos & Cross, 2020; Falco-Walter, 2020).

Os mecanismos subjacentes à epilepsia são diversos e complexos, incluindo alterações na estrutura dos canais iônicos, desequilíbrios entre as transmissões inibitórias e excitatórias, e disfunções em sistemas regulatórios (Chow et al., 2020). Além disso, fatores como neuroinflamação, estresse oxidativo e necrose celular desempenham papéis fundamentais na patogênese e progressão da doença (Dichter, 2006; Pitkänen, 2007; Shin, 2011; Vezzani, 2011, 2015).

O tratamento da epilepsia atualmente se baseia predominantemente no uso de drogas antiepilépticas (DAEs), que têm como objetivo reduzir a excitabilidade neuronal, aumentar a inibição pós-sináptica ou modular a sincronização das redes neurais (Hakami, 2021). No entanto, cerca de 40% dos pacientes não respondem adequadamente às DAEs, mesmo com o uso de múltiplas medicações (Löscher et al., 2020). Essa resistência terapêutica destaca a necessidade de explorar novas abordagens que possam atingir múltiplos alvos para um controle mais eficaz das crises, além de aprofundar o entendimento dos fatores que influenciam a eficácia dos tratamentos disponíveis.

Nos últimos anos, a investigação científica tem se concentrado no eixo intestino-cérebro, uma rede de comunicação bidirecional que conecta o sistema nervoso central (SNC) ao sistema nervoso entérico, mediada por vias neurais, imunológicas e endócrinas (Ullah et al., 2023). A microbiota intestinal, componente central desse eixo, desempenha um papel crucial na manutenção da homeostase sistêmica, influenciando tanto a saúde intestinal quanto a função cerebral (Banerjee et al., 2021). A composição da microbiota intestinal pode variar significativamente entre indivíduos saudáveis e aqueles com diversas condições patológicas, sugerindo que a modulação da microbiota pode oferecer novas oportunidades para o diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças neurológicas, incluindo a epilepsia (Bagheri et al., 2019).

Esse desequilíbrio na composição da microbiota intestinal, denominado disbiose intestinal, tem sido identificado como um fator capaz de prejudicar o metabolismo de DAEs, influenciando negativamente a neurogênese e as transmissões sinápticas (Liu et al., 2022). A produção de metabólitos pró-inflamatórios e a alteração da fisiologia do SNC, através de vias vagais ou espinhais, são aspectos críticos na contribuição da disbiose para o desenvolvimento de distúrbios neurológicos, como a epilepsia (Taché & Saavedra, 2021).

Alterações na composição microbiana têm sido associadas a processos inflamatórios, aumento da permeabilidade das barreiras intestinal e hematoencefálica, e desequilíbrios nos neurotransmissores, todos esses fatores implicados diretamente na patogênese e gravidade das crises epiléticas (Rinninella et al., 2019; Naufel et al., 2023). Essas interações complexas sugerem que a microbiota intestinal pode desempenhar um papel vital na regulação da excitabilidade neuronal, com implicações diretas para o desenvolvimento e controle da epilepsia (Rose et al., 2021).

Neste contexto, nossa pesquisa tem como objetivo investigar a interferência e influência da disbiose intestinal nas crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Animais

Este estudo experimental randomizado foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha-ES (CEUA UVV: n°666-2023) e seguiu as diretrizes do National Institute of Health (NIH). Foram utilizados 48 camundongos machos da linhagem C57BL/6, com peso variando entre 25-35g, provenientes do Biotério da Universidade Vila Velha. Os animais foram mantidos em gaiolas contendo no máximo três indivíduos, com acesso livre a água e comida, e sob um ciclo claro/escuro controlado.

### 2.2. Desenho experimental

Os camundongos foram divididos aleatoriamente em três grupos (n=10): CON (Controle – solução salina 0,9% oral e intraperitoneal), PTZ (Solução salina 0,9% oral e pentilenotetrazol (PTZ) intraperitoneal), e PTZ+ANT (Antibiótico oral e pentilenotetrazol (PTZ) intraperitoneal). A disbiose intestinal foi induzida diariamente por três dias. Os grupos CON e PTZ receberam solução salina 0,9% (200 µl via oral), enquanto o grupo PTZ+ANT recebeu um coquetel de antibióticos (200 µl via oral). No primeiro e quarto dia, os animais dos grupos PTZ e PTZ+ANT receberam uma injeção intraperitoneal de pentilenotetrazol (50 mg/kg) para a indução das crises convulsivas (Shimada & Yamagata, 2018).

### 2.3. Indução de disbiose intestinal

A disbiose intestinal foi induzida pela administração de um coquetel de antibióticos (200 µl via oral - Ampicilina 1 mg/ml, Gentamicina 1 mg/ml, Metronidazol 1 mg/ml, Neomicina 1 mg/ml, Vancomicina 0,5 mg/ml) durante 3 dias, conforme descrito por Kelly et al. (2015).

### 2.4. Indução das crises convulsivas

No primeiro e quarto dia, os animais foram colocados em gaiolas individuais com água e comida ad libitum, e as crises epiléticas foram induzidas com uma dose única de PTZ (60 mg/kg intraperitoneal em solução salina 0,9%) (Shimada & Yamagata, 2018).

### 2.5. Análise comportamental e gravação dos vídeos

Após a indução das crises convulsivas por PTZ, os camundongos foram isolados em gaiolas individuais, e as filmagens foram realizadas com um smartphone posicionado na horizontal, por 15 minutos. Foram analisados os movimentos durante as crises e quantificadas as crises convulsivas de acordo com a Escala de Racine modificada. Após 15 minutos, os animais foram eutanasiados com tiopental sódico (60 mg/kg intraperitoneal) para coleta de amostras biológicas.

### 2.6. Escala de Racine

As análises das filmagens foram realizadas cegamente por dois avaliadores usando a Escala de Racine modificada (Van Erum et al., 2019). As crises convulsivas foram avaliadas e quantificadas conforme a Tabela 1.

**Tabela 1: Escala de Racine Modificada.**

Estágio "0" (zero)	Sem resposta.
Estágio "1" (um)	Hiperatividade, inquietação e vibração.
Estágio "2" (dois)	Movimentos verticais repetidos, mioclonias.
Estágio "3" (três)	Clônus em patas uni ou bilateral.
Estágio "4" (quatro)	Crises clônicas em patas dianteiras.
Estágio "5" (cinco)	Movimentos tônico-clônicos generalizados com queda.
Estágio "6" (seis)	Extensão das patas traseiras.
Estágio "7" (sete)	Morte.

### 2.7. Mensuração do peso corporal, consumo de água e ração

O peso corporal, o consumo de água e ração dos camundongos foram monitorados com uma balança de alta precisão. O peso de cada camundongo foi registrado diariamente durante quatro dias. O consumo de água foi determinado pela diferença entre o volume inicial de 250 ml e o volume restante após 24 horas, durante quatro dias. O consumo de ração foi mensurado pela diferença entre 200 g de ração oferecida e a quantidade restante após 24 horas, por três dias. Essas medições diárias garantiram dados precisos para análise dos efeitos dos tratamentos experimentais e do bem-estar animal.

### 2.8. Peso do ceco

O peso do ceco foi registrado para avaliar a inflamação intestinal (Tanaka et al. 2023). Durante a eutanásia, o ceco foi removido, lavado com PBS e pesado imediatamente em uma balança de precisão. Os dados, incluindo o número de identificação do animal e o peso do ceco, foram registrados para análise posterior.

### 2.9. Análise estatística

A aquisição e análise dos dados foram conduzidas de forma cega para evitar viés. Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Para avaliar os efeitos dos tratamentos, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste post hoc de Tukey, quando o grupo controle estava incluído na comparação. Para a análise das crises convulsivas, foram aplicados testes t. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Resultados

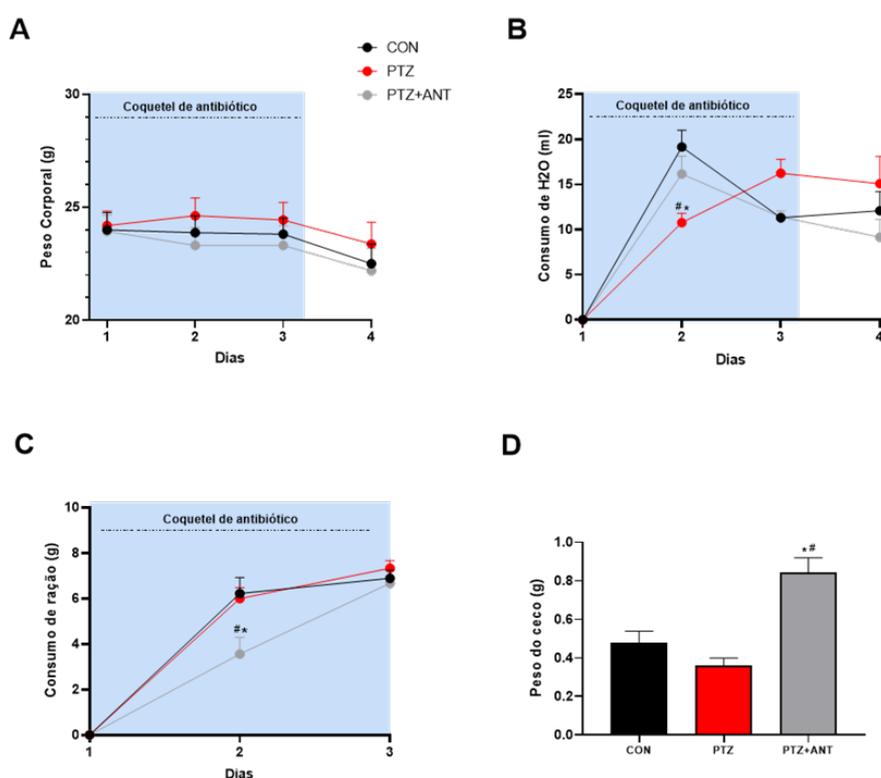
#### 3.1.1. Impacto da disbiose intestinal no peso corporal, consumo de água e ração, e indicação de inflamação pelo peso do ceco em camundongos com crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol

A Figura 1 ilustra as análises do impacto da disbiose intestinal sobre o peso corporal, consumo de água e ração, e o peso do ceco em camundongos com crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ). Na Figura 1A, observamos que, ao longo dos quatro dias de experimentação, não houve perda significativa de peso corporal nos animais. Os camundongos do grupo controle (CON) apresentaram um peso corporal médio de  $25,55 \pm 0,7$  g, enquanto os grupos PTZ e PTZ+ANT apresentaram pesos corporais médios de  $24,16 \pm 0,5$  g e  $23,19 \pm 0,7$  g, respectivamente.

A Figura 1B revela que, após a primeira administração de antibióticos, o consumo de água pelos animais do grupo PTZ ( $10,79 \pm 3,69$  ml) foi reduzido em comparação ao grupo CON ( $19,15 \pm 3,96$  ml) e ao grupo PTZ+ANT ( $16,15 \pm 3,38$  ml) no segundo dia. Essa redução no consumo de água foi significativa para o grupo PTZ, indicando

uma possível influência da indução de crises convulsivas e da disbiose intestinal sobre a ingestão hídrica. O consumo de ração, mostrado na Figura 1C, também foi impactado pela administração de antibióticos. O grupo PTZ+ANT reduziu significativamente o consumo de ração para  $3,35 \pm 1,95$  g, em comparação ao grupo CON ( $6,22 \pm 2,19$  g) e ao grupo PTZ ( $6,00 \pm 2,25$  g). Essa redução pode refletir o efeito dos antibióticos sobre o apetite ou a absorção de nutrientes, exacerbada pela disbiose intestinal.

Na Figura 1D, o peso do ceco foi significativamente maior no grupo que recebeu o coquetel de antibióticos (PTZ+ANT), com um valor médio de  $0,84 \pm 0,08$  g, em comparação aos grupos CON ( $0,48 \pm 0,06$  g) e PTZ ( $0,36 \pm 0,04$  g). Este aumento no peso do ceco sugere uma resposta inflamatória exacerbada associada à disbiose intestinal induzida pelo tratamento com antibióticos, indicando um possível impacto negativo sobre a saúde intestinal dos animais.



**Figura 1:** (A). Peso corporal (g), CON(n=16), PTZ(n=16) e PTZ+ANT(n=16). (B). Consumo de água (ml) CON(n=13), PTZ(n=13) e PTZ+ANT(n=13). (C). Consumo de ração (g), CON(n=13), PTZ(n=13) e PTZ+ANT(n=13). (D). Peso do ceco (g), CON(n=11), PTZ(n=11) e PTZ+ANT(n=11). Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  vs. CON, #  $p < 0,05$  vs. PTZ (ANOVA-1 one way, seguido por Tukey post hoc).

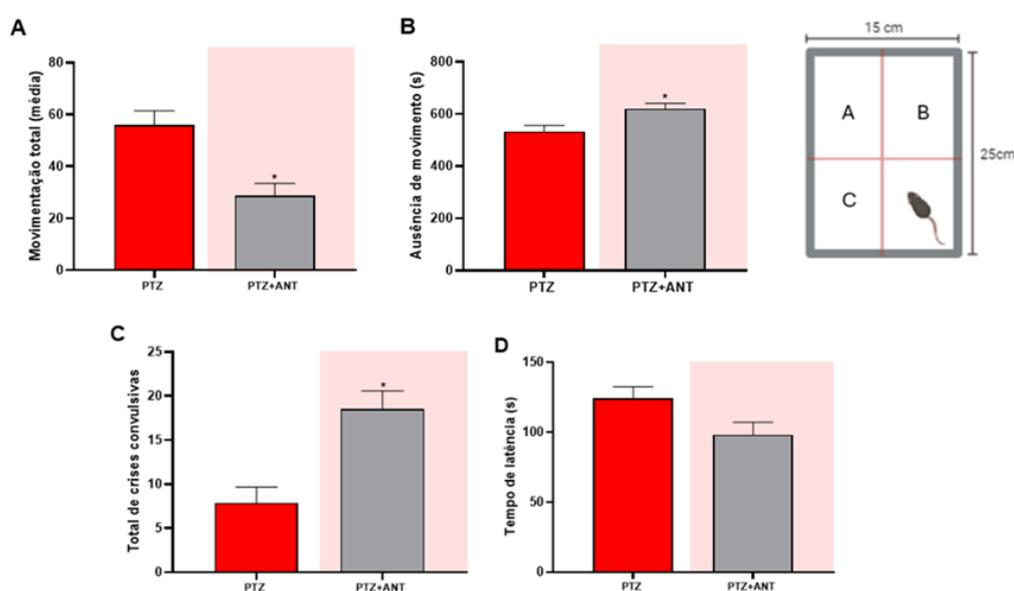
### 3.1.2. Efeito da disbiose intestinal nas crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol em camundongos

A Figura 2 apresenta as análises sobre a movimentação entre quadrantes, ausência de movimento, total de crises convulsivas e tempo de latência até a primeira crise no quarto dia do experimento. Na Figura 2A, observamos que, durante a indução das crises com pentilenotetrazol (PTZ), os camundongos do grupo tratado

com o coquetel de antibióticos (PTZ+ANT) apresentaram uma menor movimentação entre quadrantes, com uma média de  $28,8 \pm 4,65$  s, em comparação ao grupo que recebeu apenas a indução de crises (PTZ), que mostrou  $56 \pm 5,48$  s. Essa redução na movimentação pode indicar um efeito sedativo ou uma resposta comportamental alterada devido à disbiose intestinal induzida pelos antibióticos.

A Figura 2B revela que os animais do grupo PTZ+ANT passaram mais tempo sem se mover, com uma média de  $620,9 \pm 20$  s, em comparação ao grupo PTZ, que teve uma média de  $553,1 \pm 22,55$  s. Esse aumento no tempo de ausência de movimento pode refletir um impacto adicional da disbiose intestinal sobre a atividade motora dos animais durante as crises convulsivas. Analisando o total de crises convulsivas (Figura 2C), observamos que o grupo PTZ+ANT apresentou um número significativamente maior de crises, com uma média de  $18,50 \pm 2,07$ , em comparação ao grupo PTZ, que teve uma média de  $7,87 \pm 1,77$ . Esse resultado indica que a disbiose intestinal pode exacerbar a frequência das crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol.

No entanto, quanto ao tempo de latência até a primeira crise (Figura 2D), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. O grupo PTZ apresentou uma média de  $124,2 \pm 8,40$ s, enquanto o grupo PTZ+ANT teve uma média de  $98,20 \pm 8,93$ s. Essa ausência de diferença sugere que a disbiose intestinal não afeta o tempo inicial até a ocorrência da primeira crise, mas pode influenciar outros aspectos do comportamento convulsivo. Esses resultados destacam a influência da disbiose intestinal na gravidade e na frequência das crises convulsivas, proporcionando uma visão mais detalhada sobre como a alteração da microbiota intestinal pode modificar a resposta a crises epilépticas induzidas por pentilenotetrazol.



**Figura 2:** (A). Movimentação do animal pelos quadrantes (s), PTZ(n=8) e PTZ+ANT(n=8). (B). Ausência de movimento (s), PTZ(n=8) e PTZ+ANT(n=8). (C). Total de crises convulsivas, PTZ(n=8) e PTZ+ANT(n=13). (D). Tempo de latência (s), PTZ(n=) e PTZ+ANT(n=8). Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  vs. CON, #  $p < 0,05$  vs. PTZ (Teste T).

### 3.2. Discussão

Neste estudo experimental randomizado, observamos que a disbiose intestinal, induzida pela administração de um coquetel de antibióticos, exacerbou significativamente o número das crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ). Essa condição também resultou em redução da movimentação entre os quadrantes, aumento do tempo de imobilidade durante as crises, e diminuição do consumo de ração nos camundongos, além de um aumento do peso cecal. Esses achados reforçam a hipótese de que a microbiota intestinal é um regulador essencial não apenas da homeostase fisiológica, mas também do comportamento neurológico, destacando sua influência crítica na modulação das respostas a distúrbios convulsivos.

Nossos resultados, mostrou um declínio no consumo de ração nos camundongos do grupo PTZ+ANT submetidos à disbiose. Além disso, observamos um decréscimo na ingestão de água no grupo PTZ, que recebeu apenas o pró-convulsivante, sugerem uma interdependência entre a microbiota intestinal e a normatização de comportamentos básicos, como alimentação e sede.

Diante desses achados, mostra que a microbiota intestinal executa um papel crucial na regulação de funções fisiológicas e comportamentais, impactando diretamente o sistema nervoso central (SNC) por meio do eixo intestino-cérebro, uma via bidirecional de comunicação mediada por sinais neuroendócrinos, imunológicos e metabólicos (Espírito Santo et al., 2021; Ma et al., 2019; Wegierska, 2022; Ahmed et al., 2022; Warner, 2019; Zeng et al., 2020). Desequilíbrio na composição da microbiota, como aquelas induzidas por antibióticos, podem comprometer essa comunicação, resultando em impactos significativos na homeostase metabólica e imunológica, além de afetar comportamentos essenciais, como a sede e o consumo alimentar (Gomaa, 2020). Esses dados ressaltam a importância de considerar a influência da microbiota na modulação de comportamentos básicos, especialmente em contextos de disbiose e distúrbios neurológicos.

Essa interconexão entre a microbiota e o SNC é essencial para a regulação de processos neurofisiológicos, e a disbiose, uma perturbação no equilíbrio microbiano, tem sido associada ao agravamento de várias condições neurológicas e psiquiátricas, como alzheimer, depressão e doença de Parkinson (Liu, L. et al., 2023; Raghavan, K. et al., 2023), incluindo epilepsia (Arulsamy, A. et al., 2020). Morais e colaboradores (2021) sugerem que a disbiose pode promover um estado pró-inflamatório, alterando a função neuronal e exacerbando distúrbios convulsivos. Além disso, também é elucidado que a inflamação sistêmica resultante da disbiose pode aumentar a permeabilidade da barreira hematoencefálica, facilitando a entrada de substâncias neurotóxicas no SNC e potencialmente piorando os sintomas neurológicos (Ma et al., 2019).

Nossos achados, mostram a exacerbção na incidência das crises convulsivas e alterações no comportamento dos camundongos induzidas pela disbiose, estão em concordância com a literatura que destaca o papel da microbiota como um modulador central da saúde neurológica. Estudos corroboram com nossos achados, onde sugerem que a manutenção de uma microbiota intestinal equilibrada pode ser crucial para o manejo de condições neurológicas, como a epilepsia, e abre caminho para novas abordagens terapêuticas baseadas na modulação da microbiota intestinal (Morais et al., 2021; Kizilaslan, N.; Sumbul, O.; Aygun, H., 2022). Em estudos pré-clínicos, esquemas de antibióticos com baixa absorção sistêmica e ampla eficácia contra bactérias entéricas foram desenvolvidos para avaliar o impacto da redução de bactérias intestinais na fisiologia do hospedeiro e na resposta a danos (Luchen C.C., et. al. 2023; Suslov, A.V., et. al. 2024; Simon et al., 2020).

Embora a literatura descreva uma correlação entre a utilização de antibióticos e a perda de peso corporal (Yu C., et al., 2022), nosso estudo não mostrou uma alteração significativa nesse parâmetro. Entretanto, é bem documentado que antibióticos de amplo espectro podem interromper maciçamente as comunidades microbianas comensais, o que afeta profundamente a fisiologia do hospedeiro e, como vimos, exacerba distúrbios do sistema nervoso central (SNC) em alguns modelos (Simon et al., 2020).

A inflamação, frequentemente associada à disbiose intestinal, é um fator importante na exacerbção das crises convulsivas. Estudos como o de Zhang et al. (2022) mostram que a disbiose induzida por antibióticos resulta em

um aumento do peso cecal, indicativo de inflamação intestinal, resultado que nossos dados também suportam. A inflamação crônica decorrente das alterações no trato gastrointestinal, como observado em estudos de Patterson et al. (2022) e Di Tommaso (2021), parece ser um fator contribuinte para o aumento do volume cecal, possivelmente exacerbado pelo estresse inflamatório resultante da disbiose.

Além disso, Zhang N. et al. (2022) descreveram que a utilização de antibioticoterapia induziu a disbiose intestinal rapidamente, no qual resultou em um ceco mais pesado nos camundongos tratados em comparação com o grupo controle. Esse achado está em concordância com nossas observações, nas quais a disbiose também causou inflamação, levando ao aumento do peso cecal (Luo et al., 2020). Fármacos antibióticos podem causar alterações no trato gastrointestinal, o que pode resultar em um quadro de inflamação crônica, influenciando em um maior volume cecal (Patterson, G. T. et al., 2022). Ademais, é esperado que o tamanho do ceco aumente em resposta ao estresse inflamatório proveniente da disbiose intestinal (Di Tommaso, N., 2021).

De acordo com Ma et. al. (2019), o nervo vago (NV) é um componente do sistema nervoso autônomo e um caminho crucial de interações neuronais entre o SNC e a microbiota intestinal (Capuco, A. et al., 2020; Fülling, C.; Dinan, T. G.; Cryan, J. F., 2019; Karakan, T. et al., 2021). O NV participa ativamente das interações bidirecionais entre a microbiota intestinal e o cérebro para manter a homeostase no cérebro e no intestino (Bonaz, B.; Sinniger, V; Pellissier, S., 2019).

Os microorganismos intestinais colaboram com seus hospedeiros para regular o desenvolvimento e a função dos sistemas imunológico, metabólico e nervoso por meio de comunicação bidirecional dinâmica ao longo do "eixo intestino-cérebro" (Wang, Q.; Yang, Q.; Liu, X., 2023). Esses processos podem afetar a saúde humana, pois certos comportamentos animais parecem se correlacionar com a composição das bactérias intestinais, e as interrupções nas comunidades microbianas têm sido implicadas em vários distúrbios neurológicos (Louwies, T. et al., 2019). A maioria dos insights sobre as interações hospedeiro-microbiota vêm de modelos animais, que representam ferramentas importantes para estudar as várias vias que ligam o intestino e o cérebro (Morais et al., 2021).

#### 4. Conclusões

Nossos resultados demonstraram que a indução de disbiose intestinal, provocada por um coquetel de antibióticos, intensifica a incidência das crises convulsivas, redução da movimentação entre os quadrantes, aumento do tempo de imobilidade durante as crises, diminuição do consumo de ração e aumento no peso cecal, refletindo nas alterações no bem-estar geral dos animais. Estes achados reforçam a hipótese de que a microbiota intestinal desempenha um papel crucial na modulação da excitabilidade neuronal e na incidência das crises convulsivas. Entretanto, mais estudos são necessários para elucidar nossos resultados.

#### Agradecimentos

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) (Edital 15/2022 - PROFIX: 630/2022 and 708/2022; Edital 20/2022 - Chamada de Apoio a Núcleos Capixabas Emergentes em Pesquisa: 1042/2022; Nº 21/2023 - MULHERES NA CIÊNCIA 726/2024 - P: 2024-F42RD), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (308220/2021-8; 309431/2022-0 and 305740/2019-9) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (Capes) pelo financiamento. À Universidade Vila Velha pelo apoio, estrutura e fomento. Aos professores e integrantes do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Translacional (LFFT) pelos ensinamentos, parcerias e colaborações.

## Referências

- AHMED, H. et al. Microbiota-derived metabolites as drivers of gut-brain communication. *Gut Microbes*, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 2102878, 2022. DOI: 10.1080/19490976.2022.2102878.
- AMLEROVA, J. et al. Evidences for a Role of Gut Microbiota in Pathogenesis and Management of Epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 11, p. 5576, 2021. DOI: 10.3390/ijms22115576.
- ARULSAMY, A. et al. Gut microbiota and epilepsy: a systematic review on their relationship and possible therapeutics. *ACS Chemical Neuroscience*, v. 11, n. 21, p. 3488-3498, 2020. DOI: 10.1021/acscchemneuro.0c00431.
- BAGHERI, S.; HEYDARI, A.; ALINAGHIPOUR, A.; SALAMI, M. Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling. *Epilepsy & Behavior*, v. 95, p. 43-50, 2019. DOI: 10.1016/j.yebeh.2019.03.038.
- BANERJEE, A. et al. Unravelling the potential of gut microbiota in sustaining brain health and their current prospective towards development of neurotherapeutics. *Archives of Microbiology*, v. 203, n. 6, p. 2895-2910, 2021. DOI: 10.1007/s00203-021-02276-9.
- BASTOS, F.; CROSS, J. H. Epilepsy. In: *Handbook of Clinical Neurology*, v. 174, p. 137-158, 2020. DOI: 10.1016/B978-0-444-64148-9.00011-9.
- BONAZ, B.; SINNIGER, V.; PELLISSIER, S. Vagus nerve stimulation at the interface of brain-gut interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 9, n. 8, p. a034199, 2019. DOI: 10.1101/cshperspect.a034199.
- CAPUCO, A. et al. Current perspectives on gut microbiome dysbiosis and depression. *Advances in Therapy*, v. 37, n. 4, p. 1328-1346, 2020. DOI: 10.1007/s12325-020-01272-7.
- CHOW, C. Y. et al. Venom-derived modulators of epilepsy-related ion channels. *Biochemical Pharmacology*, v. 181, p. 114043, 2020. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.114043.
- CILTAS, A. C.; TOY, C. E.; GÜNEŞ, H.; YAPRAK, M. Effects of probiotics on GABA/glutamate and oxidative stress in PTZ-induced acute seizure model in rats. *Epilepsy Research*, v. 195, p. 107190, 2023. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2023.107190.
- DAHLIN, M.; PRAST-NIELSEN, S. The gut microbiome and epilepsy. *EBioMedicine*, v. 44, p. 741-746, 2019. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.05.024.
- DICHTER, M. A. Models of epileptogenesis in adult animals available for antiepileptogenesis drug screening. *Epilepsy Research*, v. 68, n. 1, p. 31-35, 2006. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2005.09.014.
- DI TOMMASO, N.; GASBARRINI, A.; PONZIANI, F. R. Intestinal barrier in human health and disease. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 18, n. 23, p. 12836, 2021. DOI: 10.3390/ijerph182312836.
- ESPÍRITO SANTO, C. et al. Gut microbiota, in the halfway between nutrition and lung function. *Nutrients*, v. 13, n. 5, p. 1716, 2021. DOI: 10.3390/nu13051716.
- FALCO-WALTER, J. Epilepsy-Definition, Classification, Pathophysiology, and Epidemiology. *Seminars in Neurology*, v. 40, n. 6, p. 617-623, 2020. DOI: 10.1055/s-0040-1718719.
- FÜLLING, C.; DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. Gut microbe to brain signaling: what happens in vagus. *Neuron*, v. 101, n. 6, p. 998-1002, 2019. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.02.008.
- GOMAA, E. Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 113, n. 12, p. 2019-2040, 2020. DOI: 10.1007/s10482-020-01474-7.
- HAKAMI, T. Neuropharmacology of Antiseizure Drugs. *Neuropsychopharmacology Reports*, v. 41, n. 3, p. 336-351, 2021. DOI: 10.1002/npr2.12196.
- KARAKAN, T. et al. Gut-Brain-Microbiota Axis: Antibiotics and Functional Gastrointestinal Disorders. *Nutrients*, v. 13, n. 2, p. 389, 2021. DOI: 10.3390/nu13020389.
- KELLY, C. J.; ZHENG, L.; CAMPBELL, E. L.; et al. Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function. *Cell Host Microbe*, v. 17, n. 5, p. 662-671, 2015. DOI: 10.1016/j.chom.2015.03.005.
- KIZILASLAN, N.; SUMBUL, O.; AYGUN, H. The beneficial effect of probiotics supplementation on penicillin-induced focal seizure in rats. *Neurochemical Research*, v. 47, n. 5, p. 1395-1404, 2022. DOI: 10.1007/s11064-022-03539-7.

- KUNDU, S. et al. The microbiome-gut-brain axis in epilepsy: pharmacotherapeutic target from bench evidence for potential bedside applications. *European Journal of Neurology*, v. 30, n. 11, p. 3557-3567, 2023. DOI: 10.1111/ene.15767.
- LIU, G. et al. Gut dysbiosis impairs hippocampal plasticity and behaviors by remodeling serum metabolome. *Gut Microbes*, v. 14, n. 1, p. 2104089, 2022. DOI: 10.1080/19490976.2022.2104089.
- LIU, L. et al. Gut microbiota and its metabolites in depression: from pathogenesis to treatment. *EBioMedicine*, v. 90, p. 104527, 2023. DOI: 10.1016/j.ebiom.2023.104527.
- LÖSCHER, W. et al. Drug Resistance in Epilepsy: Clinical Impact, Potential Mechanisms, and New Innovative Treatment Options. *Pharmacological Reviews*, v. 72, n. 3, p. 606-638, 2020. DOI: 10.1124/pr.120.019539.
- LUCHEN, C. C. et al. Impact of antibiotics on gut microbiome composition and resistome in the first years of life in low- to middle-income countries: A systematic review. *PLOS Medicine*, v. 20, n. 6, p. e1004235, 2023. DOI: 10.1371/journal.pmed.1004235.
- LOUWIES, T. et al. The microbiota-gut-brain axis: an emerging role for the epigenome. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, v. 245, n. 2, p. 138-145, 2020. DOI: 10.1177/1535370219891690.
- LUO, X. et al. Hepatic dysfunction induced by intestinal dysbacteriosis mainly manifests as immunologic abnormality in mice. *Pathogens and Disease*, v. 78, n. 6, p. ftaa041, 2020. DOI: 10.1093/femspd/ftaa041.
- MA, Q. et al. Impact of microbiota on central nervous system and neurological diseases: the gut-brain axis. *Journal of Neuroinflammation*, v. 16, n. 1, p. 53, 2019. DOI: 10.1186/s12974-019-1434-3.
- MENG, C.; DONG, C.; LIU, H. Metronidazole and ciprofloxacin differentially affect chronic unpredictable mild stress-induced changes in the colon, cecum and ileum microbiota. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 106, n. 1, p. 369-381, 2022. DOI: 10.1007/s00253-021-11685-1.
- MORAIS, L. H.; SCHREIBER, H. L. 4th; MAZMANIAN, S. K. The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders. *Nature Reviews Microbiology*, v. 19, n. 4, p. 241-255, 2021. DOI: 10.1038/s41579-020-00460-0.
- NAUFEL, M. F. et al. The brain-gut-microbiota axis in the treatment of neurologic and psychiatric disorders. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, v. 81, n. 7, p. 670-684, 2023. DOI: 10.1055/s-0043-1767818.
- PITKÄNEN, A. et al. Epileptogenesis in experimental models. *Epilepsia*, v. 48, Suppl 2, p. 13-20, 2007. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01063.x.
- RAGHAVAN, K. et al. Benefits of gut microbiota reconstitution by beta 1,3-1,6 glucans in subjects with autism spectrum disorder and other neurodegenerative diseases. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 94, n. s1, p. S241-S252, 2023. DOI: 10.3233/JAD-220388.
- RINNINELLA, E. et al. Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition. *Nutrients*, v. 11, n. 10, p. 2393, 2019. DOI: 10.3390/nu11102393.
- ROSE, E. C. et al. Probiotics, Prebiotics and Epithelial Tight Junctions: A Promising Approach to Modulate Intestinal Barrier Function. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 13, p. 6729, 2021. DOI: 10.3390/ijms22136729.
- SHIMADA, T.; YAMAGATA, K. Pentylentetrazole-Induced Kindling Mouse Model. *Journal of Visualized Experiments*, n. 136, p. 56573, 2018. DOI: 10.3791/56573.
- SHIN, E. J. et al. Role of oxidative stress in epileptic seizures. *Neurochemical International*, v. 59, n. 2, p. 122-137, 2011. DOI: 10.1016/j.neuint.2011.03.025.
- SILVA, Y. P.; BERNARDI, A.; FROZZA, R. L. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, v. 11, p. 25, 2020. DOI: 10.3389/fendo.2020.00025.
- SIMON, D. W. et al. Depletion of gut microbiota is associated with improved neurologic outcome following traumatic brain injury. *Brain Research*, v. 1747, p. 147056, 2020. DOI: 10.1016/j.brainres.2020.147056.
- SUSLOV, A. V. et al. Applied physiology: gut microbiota and antimicrobial therapy. *European Journal of Applied Physiology*, v. 124, p. 1631-1643, 2024. DOI: 10.1007/s00421-024-05496-1.
- TACHÉ, Y.; SAAVEDRA, J. M. Introduction to the Special Issue "The Brain-Gut Axis". *Cellular and Molecular Neurobiology*, v. 42, n. 2, p. 311-313, 2022. DOI: 10.1007/s10571-021-01155-7.
- TANAKA, M. et al. Canna starch improves immune functions and the intestinal environment in mice.

- Bioscience, Microbiota, Food and Health, v. 42, n. 2, p. 131-137, 2023. DOI: 10.12938/bmfh.2022-068.
- ULLAH, H. et al. The gut microbiota-brain axis in neurological disorder. *Frontiers in Neuroscience*, v. 17, p. 1225875, 2023. DOI: 10.3389/fnins.2023.1225875.
- VAN ERUM, J. et al. PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale. *Epilepsy & Behavior*, v. 95, p. 51-55, 2019. DOI: 10.1016/j.yebeh.2019.02.029.
- VEZZANI, A. et al. The role of inflammation in epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, v. 7, n. 1, p. 31-40, 2011. DOI: 10.1038/nrneurol.2010.178.
- VEZZANI, A.; VIVIANI, B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. *Neuropharmacology*, v. 96, pt. A, p. 70-82, 2015. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.10.027.
- WANG, Q.; YANG, Q.; LIU, X. The microbiota-gut-brain axis and neurodevelopmental disorders. *Protein & Cell*, v. 14, n. 10, p. 762-775, 2023. DOI: 10.1093/procel/pwad026.
- WARNER, B. B. The contribution of the gut microbiome to neurodevelopment and neuropsychiatric disorders. *Pediatric Research*, v. 85, n. 2, p. 216-224, 2019. DOI: 10.1038/s41390-018-0191-9.
- WEGIERSKA, A. E. et al. The connection between physical exercise and gut microbiota: implications for competitive sports athletes. *Sports Medicine*, v. 52, n. 10, p. 2355-2369, 2022. DOI: 10.1007/s40279-022-01696-x.
- WELTHA, L.; REEMMER, J.; BOISON, D. The role of adenosine in epilepsy. *Brain Research Bulletin*, v. 151, p. 46-54, 2019. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2019.04.008.
- YU, C. et al. Fermented carrot pulp regulates the dysfunction of murine intestinal microbiota. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2022, p. 2479956, 2022. DOI: 10.1155/2022/2479956.
- ZHANG, N. et al. Integrated Analysis of the Alterations in Gut Microbiota and Metabolites of Mice Induced After Long-Term Intervention With Different Antibiotics. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 832915, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.832915.
- ZENG, C. et al. Gut microbiota: An intermediary between metabolic syndrome and cognitive deficits in schizophrenia. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 106, p. 110097, 2021. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2020.110097.

## Capítulo 22

# “MONITORAÇÃO DO IMPACTO DA ARQUITETURA URBANA NA VIDA DA AVIFAUNA NA REGIÃO DA GRANDE VITÓRIA, ESPÍRITO SANTO”

### Autores

Júlia Rosa Luz<sup>1</sup>, João Luiz Rossi Junior<sup>2\*</sup>

### Filiações

<sup>1</sup>Discente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária; Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Universidade Vila Velha, ES, Brasil.

\*Autor(a) correspondente:

E-mail: joao.rossi@uvv.br

Telefone: +55 027 98111-8252

### Resumo

No Brasil, as colisões de aves contra vidros ameaçam a biodiversidade. Este estudo investiga o impacto desse fenômeno na avifauna do Espírito Santo. Foram distribuídas cartilhas educativas e um formulário para registrar colisões observadas pela população. Entre outubro de 2023 e junho de 2024 foram registradas 12 colisões. A espécie *Columbina talpacoti* foi a mais vulnerável. Vila Velha concentrou o maior número de acidentes (7). A taxa de ferimentos ou mortalidade foi de 66,6% (8). A baixa adesão ao formulário revela a necessidade de promover ações educativas e realização de mais estudos sobre o impacto das colisões na avifauna local.

### Abstract

In Brazil, bird collisions with windows threaten biodiversity. This study investigates the impact of this phenomenon on the avifauna of Espírito Santo. Educational booklets were distributed, along with a form to record collisions observed by the public. Between October 2023 and June 2024, 12 collisions were recorded. The species *Columbina talpacoti* was the most vulnerable. Vila Velha accounted for the highest number of accidents (7). The injury or mortality rate was 66.6% (8). The low adherence to the form highlights the need to promote educational actions and conduct further studies on the impact of collisions on local avifauna.

**Palavras-chave:** colisões; aves; conservação

### 1. Introdução

Os acidentes por colisões de aves com vidros vêm se tornando uma preocupação cada vez mais presente na atualidade. De acordo com a *American Bird Conservancy* (2014), estima-se que até 1 bilhão de aves morram anualmente nos Estados Unidos por colisões com edifícios. De acordo com estudos conduzidos por Erickson et al. (2005), colisões com estruturas humanas são a maior causa de morte antropogênica de aves. Dentre elas, as colisões contra vidros são consideradas uma das maiores ameaças globais às populações dessa classe.

No Brasil, esse fenômeno também tem sido observado e representa uma ameaça significativa à vasta biodiversidade (Fornazari, 2020). No entanto, a ocorrência de colisões de aves em vidros foi descrita apenas em Minas Gerais (Santos et al., 2017), São Paulo (Brisque et al., 2017) e Paraná (Fornazari, 2020). Apesar de ser o país da América do Sul com mais estudos sobre essa problemática, ainda é difícil o mapeamento do assunto devido às lacunas na literatura (Basilio, Moreno e Piratelli, 2020).

O estado do Espírito Santo abriga uma avifauna diversa e de grande importância, composta por 654 espécies de aves conhecidas, o que corresponde a 35,8% da avifauna do Brasil. Entre essas espécies, destacam-se 139 que são endêmicas da Mata Atlântica e ocorrem em sua pequena extensão territorial (Simon, 2009).

Sabe-se que a ciência cidadã tem importante contribuição para expansão do conhecimento científico e, por meio de plataformas digitais como *eBird* e *WikiAves*, a participação da sociedade viabilizou inúmeros estudos ecológicos (Bonney et al, 2009). Nesse sentido, o presente trabalho busca contribuir para a compreensão do impacto das colisões contra vidros na avifauna da região metropolitana da Grande Vitória por meio da disponibilização de formulários online para permitir o registro de colisões de aves contra vidros.

### 2. Material e Métodos

#### 2.1. Elaboração do formulário

Para o levantamento dos dados sobre colisões de aves contra vidros na região da Grande Vitória, foi elaborado um formulário na plataforma Google Forms para registro das ocorrências. O modelo utilizado foi adaptado de formulários utilizados por associações de conservação de aves da América do Norte e está apresentado no Quadro 1.

Pergunta	Opções de resposta
Qual foi a situação observada?	Colisão de ave contra edifício Colisão de ave contra casa
Em qual cidade você encontrou a ave?	Vitória Vila Velha Serra Guarapari Cariacica Fundão Viana
Em qual bairro?	Resposta aberta.
Informe a data do avistamento:	Resposta aberta.
Você conhece a espécie da ave?	Resposta aberta.
Selecione a opção que mais se aproxima com o que houve após a colisão:	A ave saiu voando/fugiu A ave ficou ferida A ave veio a óbito Não sei dizer

Quadro 1. Formulário. Perguntas contidas no formulário para registro de colisões.

## 2.2. Distribuição

Para a distribuição do formulário à população, foi realizada a elaboração de uma cartilha para conscientização da problemática (Figura 1), que contém um QR Code que redireciona o cidadão ao formulário de registro. Foram distribuídas cerca de 500 cartilhas em praias das cidades de Vitória, a capital do Estado, e Vila Velha, o segundo município mais populoso do Espírito Santo. Ademais, o endereço para acesso do formulário online foi distribuído digitalmente nas redes sociais, como em comunidades no WhatsApp e compartilhado regularmente no Instagram.

# AS AVES E O INIMIGO INVISÍVEL

Este projeto faz parte de uma pesquisa desenvolvida na Universidade Vila Velha, que visa mapear o impacto da arquitetura urbana na população de aves capixabas.

**POR QUE AS AVES COLIDEM CONTRA VIDROS?**

As aves são incapazes de reconhecer vidros e espelhos como barreiras físicas, uma vez que os reflexos geram a ilusão de um espaço contínuo. Essa percepção equivocada frequentemente resulta colisões desastrosas.

**QUAIS OS IMPACTOS DAS COLISÕES NA NATUREZA?**

Mais da metade das colisões de aves contra vidros resultam em fatalidades. Esse fenômeno contribui para a diminuição da população de várias espécies, provocando desequilíbrios nos ecossistemas e redução da biodiversidade.

**COMO A PESQUISA AJUDA A REDUZIR OS ACIDENTES?**

Ao mapear as colisões, é possível identificar as zonas de maior risco para as aves e os efeitos desses acidentes sobre a avifauna local. Assim, podemos planejar ações para adaptar os edifícios e minimizar o risco de colisões.

**O QUE VOCÊ PODE FAZER PARA AJUDAR:**

O primeiro passo para ser parte da solução é documentar. Ao se deparar com uma ave que colidiu, registre data, horário e, se possível, fotografe. E, para **contribuir com o nosso estudo**, você pode enviar esses dados no QR code.

**SAIBA MAIS NO INSTAGRAM @LA.SELV**

**ESCANEIE PARA ENVIAR SEUS REGISTROS**

Figura 1. Cartilha educativa sobre colisões de aves contra vidros.

### 2.3. Análise dos dados

Após o período determinado de coleta de dados, o formulário foi encerrado. Os dados foram organizados com a ferramenta Excel, gerando recursos que facilitem a análise dos resultados, como gráficos e tabelas. Os principais objetivos da análise de dados foram identificar as regiões que representem maiores riscos à avifauna local e identificar as espécies mais vulneráveis a colisões.

### 3. Resultados e Discussão

Após distribuição dos panfletos e compartilhamento em canais digitais, o formulário ficou disponível para preenchimento do período de outubro de 2023 a junho de 2024.

Foram registrados um total de 12 colisões de aves contra vidros, distribuídas, de acordo com a identificação dos populares, em cinco famílias, duas delas sendo identificadas apenas em termos genéricos, não sendo possível afirmar a espécie, e outros 5 indivíduos não identificados (Quadro 2). Desses acidentes, 66,6% (8) das colisões ocorreram contra vidros de edifícios e 33,3% (4) vidros de casas.

Família/Espécie	Nome popular	Número de indivíduos
Columbidae/ <i>Columbina talpacoti</i>	Rolinha-roxa	3
Theaupidae/ <i>Sicalis flaveola</i>	Canário-da-terra	1
Tyrannidae/ <i>Pitangus sulphuratus</i>	Bem-te-vi	1
Não especificado	Sabiá	1
Não especificado	Papagaio	1
Não identificado	-	5

Quadro 2. Espécies vítimas de colisão. Aves identificadas segundo autores dos registros.

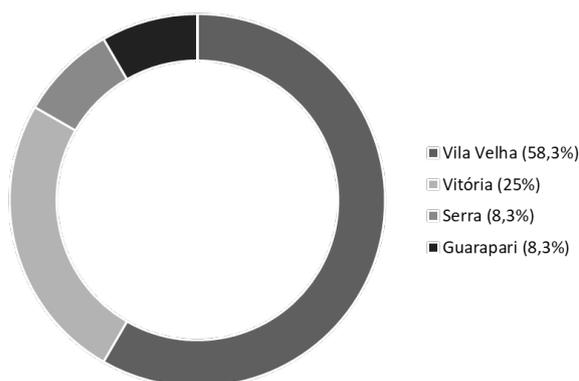


Figura 2. Gráfico da distribuição geográfica dos registros, segundo a cidade.

Quanto à distribuição geográfica dos registros, 58,3% (7) ocorreram no município de Vila Velha; 25% (3) em Vitória; 8,3% (1) ocorreram em Serra; e 8,3% (1) em Guarapari (Figura 2). No município de Vila Velha, Praia da Costa, Coqueiral de Itaparica, Cristóvão Colombo, Prainha e Barra do Jucu foram os bairros que tiveram registros de colisões. Em Vitória, Jardim da Penha e Enseada do Suá. Em Serra o registro aconteceu no bairro Hélio Ferraz, e em Guarapari, a colisão ocorreu em região rural (Quadro 3.)

Quanto ao horário aproximado das colisões, 33,3% (4) ocorreram pela manhã (06:00 às 11:59) e 66,6% (8) ocorreram no período da tarde (12:00 – 18:00). O detalhamento completo está apresentado no Quadro 4.

Dos registros no formulário, 66,6% (8) indicaram que a ave ficou ferida ou foi a óbito após colidir contra vidros, enquanto 25% (3) afirmaram que a ave saiu voando e 8,3% (1) não souberam dizer o que aconteceu após o acidente.

Cidade/Município	Bairro	Número de registros
Vila Velha	Praia da Costa	3
Vila Velha	Prainha	1
Vila Velha	Coqueiral de Itaparica	1
Vila Velha	Barra do Jucu	1
Vila Velha	Cristóvão Colombo	1
Vitória	Jardim da Penha	2
Vitória	Enseada do Suá	1
Serra	Hélio Ferraz	1
Guarapari	Região rural	1

Quadro 3. Distribuição das colisões registradas de acordo com o bairro.

Horário	Bairro/Cidade
12:00	Praia da Costa/Vila Velha
6:30	Praia da Costa/Vila Velha
8:30	Praia da Costa/Vila Velha
17:30	Coqueiral de Itaparica/Vila Velha
15:00	Barra do Jucu/Vila Velha
12:00	Prainha/Vila Velha
14:00	Cristóvão Colombo/Vila Velha
12:40	Jardim da Penha/Vitória
14:42	Jardim da Penha/Vitória
10:00	Enseada do Suá/Vitória
10:00	Hélio Ferraz/Serra
16:00	Área rural/Guarapari

Quadro 4. Distribuição das colisões registradas de acordo com o horário.

O contínuo crescimento urbano resulta na conversão de áreas naturais em paisagens antropogênicas, o que implica em impactos funcionais e estruturais nos ecossistemas (Basilio, Moreno e Piratelli, 2020; Hager et al. 2013). Estruturas de vidro são amplamente utilizadas em construções urbanas por oferecerem isolamento térmico, acústico, proteção solar e contra incêndios e possuem baixo custo (Bogas, 2011). Porém, estudos como o de Bracey e colaboradores (2016) e Klem (1989) destacam que as aves são incapazes de reconhecer os vidros como barreiras físicas, pois os reflexos provocam a impressão de extensão do ambiente natural, causando impactos que são letais em mais da metade dos acidentes (Klem, 1990).

Neste estudo, foram registradas 12 colisões de aves contra vidraças na região da Grande Vitória, no Estado do Espírito Santo. O município de Vila Velha apresentou o maior número de acidentes, totalizando 7 (58,3%) colisões de aves contra vidros registradas entre outubro de 2023 e junho de 2024. A distribuição geográfica dos acidentes em Vila Velha revela que 85,7% (6) das colisões ocorreram na região costeira, indicando que essa área representa maior ameaça à avifauna local. Na capital do estado, Vitória, e no município de Serra, a incidência de registros foi menor e os acidentes ocorreram em bairros residenciais.

Nesse cenário, Loss et al (2014) destacam que diversos fatores podem resultar em colisões de aves contra vidros, porém, estudos demonstram que edifícios com mais de 12 andares possuem média anual de mortes mais elevada, quando comparados a residências e edifícios menores (Loss et al, 2014) e que a proporção de vidros utilizados na construção de edifícios possui correlação com a incidência de colisões de aves (Klem, 2009).

Ademais, fica evidente a necessidade de investigar se a ausência de registros nos demais municípios da região da Grande Vitória - Cariacica, Fundão e Viana – se deve à menor incidência de colisões de aves contra vidros ou à carência de observação e registro.

Os dados obtidos nesse estudo indicam que as aves da família Columbidae (*C. talpacoti*) e pertencentes à ordem Passeriformes (*Sicalis flaveola* e *Pitangus sulphuratus*) foram as mais frequentemente envolvidas em colisões contra vidros, corroborando diretamente com as constatações da susceptibilidade dos columbídeos e passeriformes às colisões, realizadas por Rayner (1998) e Bevanger (1998), respectivamente.

Embora a identificação das espécies esteja sujeita a equívocos, uma vez que foram realizadas de acordo com a experiência dos cidadãos, destaca-se que todas as aves identificadas possuem hábitos diurnos. Em consonância com esses dados e, corroborando com a identificação realizada, todas as colisões foram registradas no período diurno, das quais 66,6% (8) ocorreram na parte da tarde.

Em relação ao desfecho das colisões, a taxa de ferimentos ou mortalidade foi de 66,6% (8), das quais 33,3% (4) foram a óbito e 33,3% (4) ficaram feridas. Nos registros, 25% (3) dos cidadãos afirmaram que a ave saiu voando e 8,3% (1) não souberam dizer o que aconteceu após o acidente. Esses dados se contrapõem aos estudos de Klem (1990), que observou que as colisões são letais em mais de metade dos acidentes.

O formulário para registro de colisões de aves contra vidros foi elaborado de com base em modelos bem-sucedidos utilizados na América do Norte. Desenvolvido com perguntas objetivas e com rápido preenchimento, o objetivo era facilitar o registro por parte dos cidadãos no cotidiano. Apesar da disseminação do formulário ter sido realizada por meio da distribuição de cerca de panfletos educativos e por vias digitais, cujo alcance é potencialmente vasto, a adesão ao estudo foi relativamente baixa, resultando em apenas 12 respostas. Considerando a densidade da avifauna do Espírito Santo e a abrangência do estudo, que cobriu as sete principais cidades do Estado, é evidente que o total de registros de colisões obtidos nos formulários representa apenas uma fração ínfima das colisões que ocorrem na região da Grande Vitória. Ademais, a baixa adesão ao formulário revela o engajamento insuficiente da população com iniciativas para a conservação da avifauna local.

Dessa forma, torna-se evidente a urgência em promover ações de educação ambiental, mais especificamente voltadas para a conservação da avifauna, a fim de conscientizar a população sobre este tema.

#### 4. Conclusões

Este estudo buscou investigar o impacto das colisões de aves contra vidros na região da Grande Vitória, no Espírito Santo. A participação popular foi vital para o levantamento dos dados, pois tornou-se possível registrar os acidentes em um formulário online. Entre outubro de 2023 e junho de 2024, foram registradas 12 colisões de aves contra vidros. A cidade de Vila Velha apresentou o maior número de ocorrências, principalmente nas regiões costeiras. Segundo os dados, ao menos cinco famílias de aves de hábitos diurnos foram vítimas de colisões, sendo *Columbina talpacoti*, pertencente à família Columbidae, a espécie mais vulnerável. Dos casos registrados, 8 (66,6%) das aves tiveram ferimentos ou foram à óbito.

Apesar dos esforços para disseminar o formulário, por meio da distribuição de cartilhas educativas e compartilhamento periódico em mídias digitais, a participação popular foi baixa, resultando em poucos registros. Esse fato sugere um engajamento limitado da população com iniciativas para conservação da avifauna local.

Diante dos resultados, é evidente a necessidade de intensificar ações de educação ambiental para conscientização da população sobre a importância da conservação da avifauna capixaba, e a necessidade de mais estudos que investiguem a ocorrência de colisões de aves contra vidros na região da Grande Vitória, a fim de mitigar os impactos da arquitetura urbana na vida das aves.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Vila Velha pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (PIBIC 2023-2024) para a realização deste trabalho.

#### Referências

AMERICAN BIRD CONSERVANCY. Glass Collisions: Preventing Bird Window Strikes. Disponível em: <https://abcbirds.org/glass-collisions/>. Acesso em: 19 mai. 2024.

BASILIO, L. G.; MORENO, D. J.; PIRATELLI, A. J. Main causes of bird-window collisions: a review. Anais da Academia Brasileira de Ciências, [S.l.], n. 92, v. 1, 2020.

- BEVANGER, K. Biological and conservation aspects of bird mortality caused by electric power lines. *Biological Conservation*, v. 86, p. 67–76, 1998.
- BRACEY, A. M.; ETTERTSON, M. A.; NIEMI, G. J.; GREEN, R. F. Variation in bird window collision mortality and scavenging rates within an urban landscape. *The Wilson Journal of Ornithology*, [S.l.], v. 128, n. 2, p. 355–367, 2016.
- BRISQUE, T.; CAMPOS-SILVS, L. A.; PIRATELLI, A. J. Relationship between bird-of-prey decals and bird-window collisions on a Brazilian university campus. *ZOOLOGIA*, [S.l.], v. 34, p. 1-8, jun. 2017.
- BOGAS, J. M. P. Fachadas de Vidro: Explorar os limites da utilização do vidro na construção. 2011. Dissertação (Mestrado em Construção e Reabilitação Sustentáveis) – Escola de Engenharia, Universidade do Minho, 2011.
- BONNEY, R.; COOPER, C. B.; DICKINSON, J.; KELLING, S.; PHILLIPS, T.; ROSENBERG, K. V.; SHIRK, J. Citizen Science: A Developing Tool for Expanding Science Knowledge and Scientific Literacy. *BioScience*, [S.l.], v. 59, n.11, p.977-984, 2009.
- ERICKSON, Wallace P.; JOHNSON, Gregory D.; YOUNG, David P. Jr. A summary and comparison of bird mortality from anthropogenic causes with an emphasis on collisions. In: RALPH, C. John; RICH, Terrell D. (orgs.). *Bird conservation implementation and integration in the Americas: Proceedings of the Third International Partners in Flight Conference*. 20-24 mar. 2002, Asilomar, California. Volume 2. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-191. Albany, CA: U.S. Dept. of Agriculture, Forest Service, Pacific Southwest Research Station, 2005. p. 1029-1042
- FORNAZARI, G. A. A bird's-eye view: tear production measurement in chicks and the consequences of bird collisions against an invisible obstacle. 2020. Dissertação (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2020.
- HAGER, S. B.; COSENTINO, B. J.; MCKAY, K. J.; MONSON, C.; ZUURDEEG, W.; BLEVINS, B. Window Area and Development Drive Spatial Variation in Bird Window Collisions in an Urban Landscape. *PLOS ONE*, [S.l.], v. 8, n. 1, jan. 2013.
- KLEM, JR. D. Bird-window collisions. *Wilson Bull.*, [S.l.], v. 101, n. 4, p. 606-620, 1989.
- KLEM, JR. D. Bird injuries, cause of death, and recuperation from collisions with Windows. *Journal of Field Ornithology*, v.61 p.115-119,1990.
- KLEM, D. JR.; FARMER, C. J.; DELACRETAZ, N.; GELB, Y.; SAENGER, P. G. Architectural and landscape risk factors associated with bird–glass collisions in an urban environment. *The Wilson Journal of Ornithology*, [S.l.] v. 121 n. 1, p. 126–134, 2009.
- LOSS, S. R. et al. Bird–building collisions in the United States: Estimates of annual mortality and species vulnerability. *The Condor*, v. 116, n. 1, p. 8-23, 2014.
- SANTOS, L. P. S.; ABREU, V. F. de; VASCONCELOS, M. F. Bird mortality due to collisions in glass panes on an Important Bird Area of southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia*, v. 25 n. 2, p. 90–101, 2017.
- SIMON, J. E. A lista de aves do estado do Espírito Santo. In: *Anais do XVII Congresso Brasileiro de Ornitologia*. Capítulo Especiais: LV-LXXXVIII, Aracruz, 2009.
- RAYNER, Jeremy. Form and function in avian flight. In: JOHNSTON, Richard. *Current Ornithology*. Boston: Springer, 1988, p.1–66.