

Brazilian Journal of ———

HEALTH AND PHARMACY

Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

Volume 1, Número 1, Janeiro de 2019



Até os anos de 1990, as informações sobre saúde humana, de caráter científico, de inovação e tecnologias advindas de trabalhos de pesquisa, ensino ou extensão, tinham acesso e inserção restritos aos meios acadêmicos ou aos poucos institutos de pesquisa no Brasil. Atualmente, o acesso às informações cresceu assustadoramente dificultando a seleção de fontes confiáveis e o seu uso adequado na prática profissional. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy* surgiu da necessidade de profissionais em saúde, especialmente farmacêuticos, de conhecer e entender as aplicações de trabalhos desenvolvidos em meios acadêmicos e centros de pesquisa no Brasil e em outros países e do precioso anseio do CRF-MG em difundir estudos científicos estimulando o potencial transformador da pesquisa em ação profissional para a promoção da saúde humana. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy* é um dos primeiros periódicos do Brasil criado por um conselho de classe profissional sendo um canal de divulgação de trabalhos multiprofissionais e interdisciplinares envolvendo saúde humana e ciências farmacêuticas. Sua publicação é em formato eletrônico, seu acesso é aberto e gratuito a todos os profissionais e estudantes da área de saúde, principalmente farmácia, e à população em geral. No anseio de fortalecer o conhecimento idôneo e a atuação profissional na área de saúde, o BJHP tem por objetivo publicar trabalhos desenvolvidos com criatividade, seriedade e ética, na maioria das vezes sabidamente com restrição orçamentária, mas sempre com grande zelo pela qualidade. Assim, possibilita a divulgação de trabalhos de conclusão de curso, de extensão e de iniciação científica, dissertações, teses, revisões e opiniões de especialistas em assuntos de interesse comum. Serão publicados também trabalhos selecionados apresentados nos eventos organizados pelo Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais, valorizando ainda mais aqueles que querem dar voz ao trabalho que realizam. O novo conhecimento vai ampliar assim as habilidades de atuação, o entendimento de ações já realizadas, renovar a capacidade crítica e reflexiva ou simplesmente aguçar a curiosidade e a observação, aspectos tão importantes para a vida e para o desejo de ser o melhor profissional possível.

Para este primeiro volume foram convidados pesquisadores renomados, especialistas em áreas e assuntos que já evidenciam o caminho que iremos seguir e a que viemos. Somos muito gratos especialmente aos autores deste volume que acreditaram e confiaram no nosso desejo, generosamente atenderam a nossa solicitação, se tornaram colaboradores, e se comprometeram a tempo e a contento, vislumbrando conosco a indexação da revista e a sua valorização imediata. Nossa gratidão também às pessoas do CRF-MG, integrantes da equipe editorial, que abraçaram com dedicação extraordinária o projeto da revista. Elas foram primordiais e trabalharam arduamente para este lançamento e para a existência da revista como periódico a ser indexado em bases de dados num futuro próximo.

Iniciaremos com seis seções, a saber, Ciências Farmacêuticas, Gestão em Saúde, Ciências Básicas, Práticas Complementares, Educação em Saúde e Outros. Serão aceitos artigos originais, de revisão e similares. A revista estará aberta às diferentes subáreas do conhecimento relacionadas à saúde humana, especialmente, mas não exclusivamente, à farmácia e sua diversidade de atuação, com respeito ao fluir das ideias e à liberdade de expressão, atendendo ao escopo da revista e ao seu compromisso social característico da área. A partir do segundo volume, convocamos a comunidade atuante na área de saúde, em suas inúmeras abordagens básicas ou aplicadas, para juntos construirmos esta revista, que será de todos e para todos. Sua existência e permanência como meio de divulgação do conhecimento através do CRF-MG deverá se dar independente da equipe gestora atuante, sempre garantindo a sua periodicidade, idoneidade e qualidade. Por fim, agradecemos a você leitor, farmacêutico, profissional da saúde, estudante, pesquisador, docente ou outro, que também entendeu a demanda existente e agora usufrui de nossa revista. Fique à vontade para sugestões e críticas, e seja muito bem-vindo a submeter seu trabalho para a publicação.

Andrea Grabe Guimarães

Editora chefe

EQUIPE EDITORIAL

EDITORA CHEFE

Andrea Grabe Guimarães
Universidade Federal de Ouro Preto

COMITÊ EDITORIAL

Alisson Brandão Ferreira
Faculdade Pitágoras de Betim

Andrea Grabe Guimarães
Universidade Federal de Ouro Preto

Jorgino Julio Cesar
Centro Universitário UNA

Pollyana Álvaro Spósito
Faculdade Dinâmica

Waldemar de Paula Júnior
Universidade Estadual de Montes Claros

Yula de Lima Merola
Faculdade Pitágoras de Poços de Caldas

SECRETARIA ADMINISTRATIVA

Maria Cláudia Moreira de Faria
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

REVISORES

Alessandra Ésther de Mendonça
Universidade Federal de Juiz de Fora

Carla Penido Serra
Universidade Federal de Ouro Preto

Dorothéa Schmidt França
Universidade Estadual de Montes Claros

Elaine Amaral Leite
Universidade Federal de Minas Gerais

Elza Conceição de Oliveira Sebastião
Universidade Federal de Ouro Preto

Fabrcio Rios dos Santos
Universidade Federal do Mato Grosso

Fernando Gomes Oliveira
Universidade Federal de Goiás

Flávia Dayrell França
Universidade Federal do Espírito Santo

Juliana Hipólito Pessotti
Faculdade Dinâmica

Luiz Fernando Medeiros Teixeira
Universidade Federal de Ouro Preto

Mariléia Chaves Andrade
Universidade Estadual de Montes Claros

Nádia Aléssio Velloso
Universidade Federal de Mato Grosso

Neila Márcia Silva Barcellos
Universidade Federal de Ouro Preto

Sylvain Richard
Université de Montpellier, França

Valéria Barbosa Souza
Universidade Estadual de Campinas

Vanessa Carla Furtado Mosqueira
Universidade Federal de Ouro Preto

Veronica Cristina Gomes Soares
Universidade Paulista

ASSESSORA EDITORIAL

Danúbia Fernandes Pereira Salviano
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

COMUNICAÇÃO E DESIGN

Amanda Coimbra
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

Héllen Torres
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

Katharina Lacerda
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

Luiza Godoy
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

Pedro Godoy
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

SUPORTE TÉCNICO

Décio Vinícius Mota Pereira
Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

- 5** | **Qualidade de amostras de Capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.)**
Quality of Lemongrass samples (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.)
COSTA, K.P.; FERNANDES, T.O.M.; FONSECA, F.S.A.; MARTINS, E.R.
- 12** | **The influence of temperature and rainfall in the human viral infections.**
A influência da temperatura e índice pluviométrico nas infecções virais humanas.
VIDAL, L.R.R.; PEREIRA, L.A.; DEBUR, M.C.; RABONI, S.M., NOGUEIRA, M.B., CAVALLI, B., ALMEIDA, S.M.
- 21** | **Molecular detection on the bla_{KPC} gene in the extensively prevalent nosocomial isolates of drug resistant *Acinetobacter spp* at hospital in southeastern region of Brazil.**
Detecção molecular do gene bla_{KPC} dentre isolados nosocomiais de *Acinetobacter spp* extensivamente resistente a drogas isolados em um hospital na região sudeste do Brasil.
XAVIER, M.A.S.; DE LUCA, M.; CARVALHO, A.A.; CARDOSO, L.F.; XAVIER, A.R.E.O.
- 26** | **Efeitos anti-inflamatório tópico e antinociceptivo do extrato etanólico de *Lychnophora pinaster* (Arnica Brasileira).**
Topical anti-inflammatory effect and antinociception of *Lychnophora pinaster* (Brazilian Arnica) ethanolic extract.
FERREIRA, S.A.; GRABE-GUIMARÃES, A.; ASSIS, N.A.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A.
- 40** | **Perfil de erros de dispensação de acordo com o sistema de dispensação adotado em um hospital público.**
Profile of dispensing errors according to the dispensing system adopted in a public hospital.
ARAÚJO, M.T.F.L.; WANDERLEY, L.A.S.; ROSA, M.B.; NASCIMENTO, M.M.G.
- 53** | **O uso da avaliação formativa como instrumento de gestão em escolas que utilizam métodos ativos.**
The use of formative assessment as a management tool at Schools using active methods.
ALMEIDA, M.T.C.; MAIA, F. A.; SOUZA, F.A.; CARVALHO, M.A.; SILVA, F.L.O.; BATISTA, N.A.
- 62** | **O desafio de novas vias de administração para Anfotericina B.**
The challenge of new administration routes for amphotericin B.
PATRICIO, B.F.C., PRADO, L.D., ROCHA, H.V.A.
- 70** | **Compostos fenólicos em hortaliças cultivadas nos sistemas convencional e orgânico: uma revisão.**
Phenolic compounds in vegetables cultivated by conventional and organic processes: a review.
DEUS, V.L.; SANTOS, A.P.C.; WALKER, J.F.; SANTANA NETA, L.G.; SOUZA, L.S.

Qualidade de amostras de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf)

Quality of lemongrass samples (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf)

COSTA, K.P.; FERNANDES, T.O.M.; FONSECA, F.S.A.; MARTINS, E.R.

Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros.

Autor correspondente: Francine de Souza Alves da Fonseca
Avenida Universitária, 1.000, Montes Claros, MG, CEP 39.404-547 | (38) 2101 - 7941 | francinef@ica.ufmg.br

Recebido em 15/12/2018; Aceito em 22/12/2018

RESUMO:

Cymbopogon citratus é uma planta medicinal conhecida como capim limão, pertencente à família Poaceae. Possui ação farmacológica como antiespasmódico, ansiolítico e sedativo leve e está entre as plantas medicinais relatadas pela Farmacopeia Brasileira, que estabelece parâmetros de qualidade dessa matéria prima vegetal. O objetivo deste trabalho foi avaliar os padrões de pureza e teor de óleo essencial estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira em amostras comerciais de capim limão. Foram analisadas amostras comerciais (C1, C2, C3 e C4) e uma amostra do horto medicinal (HM) do ICA-UFMG. Para análise de pureza da droga vegetal foram utilizados métodos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, e o teor calculado com base na matéria seca das folhas. Análises químicas foram realizadas afim de identificar os componentes do óleo essencial, bem como para quantificar o teor de citral em cada uma delas. Todas as amostras apresentaram teores de água e cinzas totais inferiores, respectivamente, 11% e 9%, estando dentro dos valores estabelecidos pela Farmacopeia. Em duas (C1 e C4) das três amostras comerciais do estudo, o teor de óleo e a porcentagem do composto majoritário do óleo, o citral, estavam abaixo do limite estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (60%). Assim, conclui-se que nem todas as amostras comercializadas estão dentro dos padrões estabelecidos para composição química e teor de óleo, porém, em relação ao teor de água e cinzas totais, estão de acordo com o estabelecido pela Farmacopeia Brasileira.

Palavras – chave: Citral, CG-DIC, óleo essencial, farmacopéia.

ABSTRACT:

Cymbopogon citratus is a medicinal plant known as lemon grass, belonging to the Poaceae family. It has pharmacological action on antispasmodic, anxiolytic and mild sedative and is among the medicinal plants reported by the Brazilian Pharmacopoeia, which establishes quality parameters of this vegetal raw material. The objective of this work was to evaluate the standards of purity and essential oil content established by the Brazilian Pharmacopoeia in commercial samples of lemon grass. Commercial samples (C1, C2, C3 and C4) and a sample of the medicinal garden (HM) of ICA-UFMG were analyzed. For the purity analysis of the plant drug, methods established by the Brazilian Pharmacopoeia were used. The essential oil was extracted by hydrodistillation, and the content calculated on the basis of the dry matter of the leaves. Chemical analysis were performed in order to identify the essential oil components, as well as to quantify the citral content in each one of them. All the samples presented water contents and total ash lower, respectively, 11% and 9%, being within the values established by the Pharmacopoeia. In two (C1 and C4) of the three commercial samples of the study, the oil content and the percentage of the major oil compound, the citral, were below the limit established by the Brazilian Pharmacopoeia (60%). Thus, it is concluded that not all samples marketed are within the established standards for chemical composition and oil content, however, in relation to water content and total ashes, are in accordance with the established by the Brazilian Pharmacopoeia.

Keywords: Citral, CG - DIC, essential oil, pharmacopoeia.



INTRODUÇÃO

Entre as plantas medicinais consumidas pela população com finalidade terapêutica, está o *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, popularmente conhecido como capim-santo, capim-limão e capim-cidreira. Ele tem eficácia no tratamento de insônia, problemas digestivos e ação antioxidante (ALBUQUERQUE, 2006; AZEVEDO et al., 2013; COSTA et al., 2010; LIMA et al., 2013).

O uso de plantas para tratamento de enfermidades é uma prática secular, sendo que a qualidade e pureza do material vegetal é fundamental para garantir o resultado final. Assim, testes que possam avaliar esses parâmetros foram estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, permitindo avaliar a pureza, composição química, análises microscópicas e macroscópicas dos materiais vegetais.

A qualidade da droga vegetal é fundamental para a eficácia do produto, sendo que a falta dela pode trazer riscos à saúde do consumidor (MELO et al., 2007). Mesmo assim, parte da comercialização das plantas medicinais é feita em mercados e lojas, onde em parte das vezes, não é possível a entrega de produto de qualidade ao consumidor final.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os padrões de pureza e teor de óleo essencial estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira em amostras comerciais de capim limão.

MATERIAL E MÉTODOS

Droga Vegetal

As amostras de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. - Família Poaceae) foram adquiridas em farmácia de manipulação (amostras C1 e C2), feira livre (amostras C3), em loja especializada na comercialização de plantas medicinais (C4) na região central da cidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. Uma amostra (HM) do Horto de Plantas Medicinais do

Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais – Campus Montes Claros (ICA-UFMG) foi utilizada como controle neste trabalho.

Pureza

Os teores de umidade e cinzas totais foram determinados como parâmetros de pureza, assim como estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (2010). Para a determinação do teor de umidade, a droga vegetal (3 g), foi colocada em placas de vidro, previamente secas em estufa, e deixadas em estufa de secagem a 105°C até peso constante.

O teor de cinzas totais foi determinado a partir da droga vegetal (2 g) moída em moinho de facas. As amostras foram transferidas para cadinhos de porcelanas previamente secos em estufa (105°C) e colocados em mufla a 600°C por 24h. Os cadinhos contendo as cinzas foram transferidos para estufa à 105°C por 2h, deixados em dessecador até atingir a temperatura ambiente. Posteriormente, o material foi pesado em balança de precisão (0,0001 g) e calculado o teor de cinzas.

Teor de óleo

O óleo essencial foi extraído utilizando o método de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger. A droga vegetal (90 g) foi transferida para um balão de fundo redondo (1000 mL) e completado com água até metade da capacidade do balão. O processo de extração teve duração de 90 minutos, contados após o início da ebulição. Ao final, o óleo essencial foi retirado da parte superior da coluna com auxílio de pipeta Pasteur e armazenado em frascos âmbar, previamente pesados. A mensuração do teor de óleo essencial foi com base na matéria seca. Para isso, o conteúdo vegetal após a extração foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até atingir peso constante. O teor de óleo foi calculado com base no valor na massa seca do material vegetal:



Análise química

A quantificação do citral foi realizada a partir de soluções padrão de citral (Sigma-Aldrich 95% de pureza), diluídos em acetato de etila (Vetec, Brasil) nas concentrações de 25, 50, 75, 100 e 150 mg L⁻¹ e estocadas a 4°C até o momento das análises. As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7820A) equipado com detector de ionização de chama (CG-DIC) e coluna capilar HP-5 (Agilent Technologies) com fase estacionária 5% fenil e 95% metilpolisiloxano (30 m comprimento x 0,32 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme). Nitrogênio (99,996% de pureza) foi utilizado como gás de arraste a uma taxa de 1 mL min⁻¹ e make up de 5 mL min⁻¹. O injetor split/splitless foi mantido a 220 °C. A coluna cromatográfica inicialmente a 60 °C foi aquecida a uma taxa de 3 °C min⁻¹ até 240 °C, permanecendo nessa temperatura por 10 min. Após a separação dos compostos a temperatura foi elevada até 300 °C e permanecendo por 1 min (post run). A temperatura do detector foi 280 °C com fluxo de gás hidrogênio (99,995% de pureza) de 35 mL min⁻¹ e ar sintético (99,999% de pureza) de 400 mL min⁻¹. Utilizando auto-injetor (7693A), 1 µL da amostra foi injetada no cromatógrafo à razão de split 1:5. Para cada ponto da curva analítica foi considerada a soma das áreas dos isômeros cis e trans citral. A resposta do detector foi linear na faixa de concentração estabelecida com coeficiente de determinação superior a 0,99. As amostras de óleo essencial foram pesadas (2 mg) utilizando balança analítica Shimadzu (Kyoto, Japão) e solubilizadas em diclorometano (1mL). Em seguida, as amostras foram diluídas 20x no mesmo solvente, transferidas para vials de 2 mL e analisadas por CG-DIC.

$$\text{Teor de óleo essencial} = \left(\frac{\text{massa do óleo essencial}}{\text{massa seca da amostra da droga vegetal}} \right) * 100$$

A composição química do óleo essencial foi realizada a partir da técnica cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) em cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7820A), acoplado ao espectrômetro de massas e coluna capilar HP-5 (Agilent Technologies), com fase estacionária 5% fenil e 95% metilpolisiloxano (30 m comprimento x 0,32 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme). O nitrogênio (99,996% de pureza) foi utilizado como gás de arraste à taxa de 1 mL min⁻¹ e make up de 5 mL min⁻¹. O injetor split/splitless foi mantido a 220 °C. A coluna cromatográfica inicialmente a 60 °C foi aquecida a uma taxa de 3 °C min⁻¹ até 240 °C, permanecendo nessa temperatura por 10 min. Após a separação dos compostos, a temperatura foi elevada até 300 °C, permanecendo por 1 min (post run). A temperatura do detector foi de 280 °C com fluxo de gás hidrogênio (99,995% de pureza) de 35 mL min⁻¹ e ar sintético (99,999% de pureza) de 400 mL min⁻¹. Utilizando auto-injetor (7693A), 1 µL da amostra foi injetada no cromatógrafo à razão de split 1:5.

Os dados gerados a partir do CG-EM foram analisados utilizando o software MSD Chemstation, juntamente com a biblioteca (National Institute of Standards and Technology, NIST 2009). A abundância relativa (%) dos constituintes foi calculada a partir da área de pico do cromatograma de íons totais (TIC) e organizada de acordo com a ordem de eluição. A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos espectros de massas com os da biblioteca (NIST 2.0, 2009), pelo índice de retenção (IR) relativo e calculado, segundo Van Den Dool and Kratz (1963) e confrontado com informações da literatura (ADAMS, 2007).

Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (cinco amostras de droga vegetal de capim-limão) e três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando detectada diferença estatística

significativa, as médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. O software utilizado foi o R (versão 3.2.4).

RESULTADOS

Pureza

Todas as amostras encontraram-se dentro dos padrões de pureza relacionados ao teor de umidade e cinzas, estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (Tabela 1).

TABELA 1. Valores médios do teor de água e cinzas totais, em amostras de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, comercializadas em Montes Claros- MG.

| Amostra | Água (%)* | Cinzas totais (%) |
|---------|-----------|-------------------|
| HM | 8,37 a | 5,44 bc |
| C1 | 8,58 a | 6,40 a |
| C2 | 8,28 a | 6,08 ab |
| C3 | 8,53 a | 4,92 cd |
| C4 | 7,40 a | 4,52 d |

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. HM: horto medicinal; C1: comercial 1; C2: comercial 2; C3: comercial 3; C4: comercial 4; C5:comercial 5.

Teor de óleo e composição química

O equivalente a 40 % das amostras (amostras C1 e C4) apresentaram teor de óleo essencial abaixo do mínimo estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (Tabela 2). As mesmas amostras que não estiveram

dentro do padrão para o teor mínimo de óleo essencial, apresentaram concentração de citral abaixo do mínimo estabelecido (60 %).

TABELA 2. Valores médios do teor de óleo essencial, e do teor de citral nos óleos essenciais em amostras de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf comercializadas em Montes Claros- MG.

| Amostra | Teor de óleo essencial (%)* | Citral (%) |
|---------|-----------------------------|------------|
| HM | 2,59 a | 84,3 |
| C3 | 1,10 b | 97,1 |
| C2 | 0,54 c | 90,2 |
| C4 | 0,27 c | 39,3 |
| C1 | 0,10 c | 43,1 |

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. HM: horto medicinal; C1: comercial 1; C2: comercial 2; C3: comercial 3; C4: comercial 4; C5:comercial 5.

Na análise da composição química do óleo essencial, foram detectados 38 compostos dos quais 23 foram identificados, sendo os classificados como monoterpenos oxigenados predominantes em relação aos monoterpenos, sequesterpenos e sequesterpenos oxigenados em todas as amostras. Apenas na amostra 1 foram detectados compostos classificados como sesqueterpenos e sesqueterpenos oxigenados (Tabela 3).

TABELA 3. Composição química do óleo essencial, em amostras de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, comercializadas em Montes Claros- MG.

| Nº | Composto | *IR _{cal} | **IR _L | Amostra | | | | |
|----|--------------------------|--------------------|-------------------|---------|------|------|------|-----|
| | | | | HM | C1 | C2 | C3 | C4 |
| 1 | tricyclene | 922 | 921 | - | 0.5 | - | - | - |
| 2 | α-pinene | 932 | 932 | - | 0.5 | - | - | - |
| 3 | camphene | 948 | 946 | - | 3.6 | - | - | - |
| 4 | 6-methyl-5-heptene-2-one | 981 | 981 | 0.3 | 1.6 | 1.4 | 0.4 | 0.8 |
| 5 | myrcene | 988 | 988 | 13.6 | 10.1 | 10.4 | 11.8 | 8.4 |
| 6 | d-limonene | 1027 | 1024 | - | 0.6 | - | 0.4 | - |
| 7 | (e)-ocimene | 1033 | 1044 | 0.3 | - | 0.2 | - | 0.7 |

| | | | | | | | | | |
|---------------------------|---------------------|------|------|------|------------|------|------|------|------|
| 8 | desconhecido | 1068 | - | - | 0.9 | - | - | - | |
| 9 | desconhecido | 1090 | - | - | 1.1 | 0.9 | 0.7 | 0.5 | |
| 10 | linalool | 1099 | 1095 | 0.9 | 5.3 | 2.2 | 1.3 | 1.2 | |
| 11 | desconhecido | 1141 | - | 1.8 | 1.2 | 1.8 | 1.9 | 1.8 | |
| 12 | desconhecido | 1146 | - | 0.4 | 0.4 | 0.4 | - | - | |
| 13 | citronellal | 1149 | 1148 | - | 0.3 | - | - | - | |
| 14 | desconhecido | 1159 | - | 2.9 | 2.2 | 3.3 | 3.1 | 3.2 | |
| 15 | desconhecido | 1167 | - | - | 1.8 | 1.9 | 0.5 | 0.3 | |
| 16 | borneol | 1169 | 1165 | - | 0.6 | - | - | - | |
| 17 | desconhecido | 1178 | - | 4.6 | 3.7 | 5.2 | 4.7 | 4.8 | |
| 18 | desconhecido | 1191 | - | - | 0.3 | 0.3 | - | - | |
| 19 | α -terpinol | 1193 | 1186 | - | 0.6 | - | - | - | |
| 20 | desconhecido | 1205 | - | - | 0.3 | - | - | - | |
| 21 | nerol | 1222 | 1227 | 0.4 | 1.3 | 0.3 | - | - | |
| 22 | desconhecido | 1225 | - | - | 1.5 | 0.5 | - | 0.5 | |
| 23 | desconhecido | 1229 | - | - | 0.4 | 0.4 | 0.4 | - | |
| 24 | neral (cital a) | 1237 | 1235 | 30.9 | 17.1 | 28.9 | 31.7 | 33.0 | |
| 25 | geraniol | 1249 | 1249 | - | 6.3 | 5.1 | 1.8 | 2.2 | |
| 26 | desconhecido | 1251 | - | 5.2 | 0.9 | | | | |
| 27 | geranial (cital b) | 1268 | 1264 | 38.0 | 21.3 | 34.4 | 40.5 | 41.5 | |
| 28 | desconhecido | 1282 | - | - | 0.4 | - | - | - | |
| 29 | 2-undecanone | 1291 | 1293 | - | 1.9 | 0.7 | 0.5 | 0.4 | |
| 30 | desconhecido | 1348 | - | - | 0.3 | - | - | - | |
| 31 | geraniol acetate | 1376 | 1379 | 0.5 | 2.5 | 0.8 | - | - | |
| 32 | caryophyllene | 1414 | 1417 | - | 0.5 | - | - | - | |
| 33 | 2-tridecanone | 1493 | 1495 | - | 1.6 | 0.5 | 0.4 | - | |
| 34 | γ -cadinene | 1508 | 1513 | - | 0.3 | - | - | - | |
| 35 | elemol | 1543 | 1548 | - | 0.4 | - | - | - | |
| 36 | caryophyllene oxide | 1575 | 1582 | - | 6.7 | - | - | - | |
| 37 | humulene oxide II | 1602 | 1608 | - | 0.6 | - | - | - | |
| 38 | desconhecido | 1616 | - | - | 0.4 | 0.3 | - | 0.8 | |
| | | | | | 13.9 | 15.4 | 10.6 | 12.2 | 9.1 |
| monoterpenos | | | | | | | | | |
| monoterpenos oxigenados | | | | | 70.3 | 52.8 | 70.9 | 75.3 | 77.8 |
| sesquiterpenos | | | | | - | 0.8 | - | - | - |
| sesquiterpenos oxigenados | | | | | - | 7.8 | - | - | - |
| desconhecidos | | | | | 15.0 | 15.7 | 14.6 | 11.2 | 11.9 |
| Outros*** | | | | | 0.8 | 7.6 | 3.5 | 1.3 | 1.3 |
| Total | | | | | 100 | | | | |

*IRcal: Índice de retenção calculado; **IRL: Índice de retenção da literatura; -: não detectado; ***: Compostos não identificados e demais compostos que não se enquadram nas classes citadas. HM: horto medicinal; C1: comercial 1; C2: comercial 2; C3: comercial 3; C4: comercial 4; C5:comercial 5.



DISCUSSÃO

A Farmacopeia Brasileira (2010) estabelece que a parte utilizada para fins medicinais do capim santo são as folhas. Para garantir a qualidade da droga, é necessário, no mínimo 0,5% de óleo volátil, com o mínimo de 60% de citral e os teores máximos de 11% de água e 9% de cinzas totais. Duas das amostras analisadas não atingiram o nível mínimo de óleo, o que pode estar relacionado ao método de extração, sendo que no descrito pela Farmacopeia é adicionado o xileno, que não foi utilizado no método adotado para o desenvolvimento do trabalho.

O limite máximo de água e cinzas totais é estabelecido por indicarem a pureza das amostras das drogas vegetais. O excesso de água favorece a ação de enzimas favorecendo a degradação das substâncias ativas, e proporcionando o crescimento de microorganismos (MELO et al., 2007). O teor de cinzas indica a presença de material inorgânico como, por exemplo, areia nas amostras (COUTO et al., 2009). Todas as amostras apresentaram teor de água e de cinzas abaixo de 11 e 9 % respectivamente, valores estes estabelecidos como máximos pela Farmacopeia Brasileira.

A secagem (COSTA et al., 2005), armazenamento (GUIMARÃES et al., 2008), época de colheita (SILVA et al., 2005) e condições de cultivo da droga vegetal são exemplos dos fatores que exercem influência sobre o teor e composição química dos óleos essenciais. As amostras que não apresentaram o teor mínimo de óleo essencial (C1 e C4) foram as mesmas que não detinham a quantidade mínima de citral. As diferenças observadas nas amostras são explicadas devido às diferenças empregadas em cada processo produtivo, e que nem sempre são expostas ao consumidor final.

O óleo essencial é um metabólito secundário produzido pela planta, que é alterado por fatores como sazonalidade, temperatura, estresse hídrico, nutrição e altitude (GOBBO and LOPES, 2007).

As análises realizadas mostraram que em todas as

amostras o citral, correspondente a soma dos isômeros neral (citral a) e geranial (citral b), foi o composto majoritário, mesmo naquelas onde o teor foi abaixo do mínimo estabelecido pela Farmacopeia. O citral como composto majoritário do óleo essencial está de acordo com estudos realizados por COSTA et al. (2005), GAONKAR et al. (2016), GAUTAM e AGRAWAL (2017), GUIMARÃES et al. (2008), KUMAR et al. (2013) e MIRANDA et al. (2014), onde foram analisados óleos essenciais de capim santo. O citral é considerado o marcador químico do óleo essencial de capim santo. Os compostos mirceno e linalol também foram identificados em todas as amostras, confirmando estudos realizados onde estes compostos estão entre os mais abundantes óleos essenciais de capim santo (GUIMARÃES et al., 2008; LIMA et al., 2013).

A presença de determinados compostos, como majoritários nos diversos estudos relacionados ao óleo essencial do capim santo, não torna desnecessários futuros estudos relacionados à composição química. Isso pelo fato de o metabolismo secundário ser influenciado por fatores diversos, onde diferentes combinações resultarão em diversidade de composições, expressada na forma de variação na abundância dos compostos (FURLAN et al., 2010). Além disso, o tempo de armazenamento e a luminosidade à qual as drogas vegetais são expostas, exercem influência sobre a composição química da droga vegetal (GUIMARÃES et al., 2008), apontando para a importância de uma fiscalização mais efetiva sobre a comercialização de drogas vegetais.

CONCLUSÃO

Assim, conclui-se que nem todas as amostras comercializadas estão dentro dos padrões estabelecidos para composição química e teor de óleo, porém, em relação ao teor de água e cinzas totais, estão de acordo com o estabelecido pela Farmacopeia Brasileira.



REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gaschromatography/mass spectrometry. Illinois: Allured Publishing Corporation. 2007.
- ALBUQUERQUE, U. P. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, 2,1: 1-10, 2006.
- AZEVEDO, R. R.; ALMEIDA, V. G. A.; SILVA, E. M. F.; DE LIRA SILVA, A.; DA SILVA GOMES, N. R.; SILVA MATIAS, T. M.; SANTOS, A. F. Potencial Antioxidante e Antibacteriano do Extrato Etanólico de Plantas Usadas como Chás. *Revista Semente*, 6, 2013.
- COSTA, L. D. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. *Hortic. Bras.*, 23: 956-959, 2005.
- COSTA, R. D. S.; BRASIL, T. C.; SANTOS, C. D. J.; SANTOS, D. B.; BARRETO, M. L.; NEVES, N. M. A.; FIGUEIREDO, C. A. Produtos naturais utilizados para tratamento de asma em crianças residentes na cidade de Salvador-BA, Brasil. *Rev. Bras. Farmacogn.* 20: 594-599, 2010.
- COUTO, R. O.; VALGAS, A. V.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* dc. (myrtaceae). *Rev. Eletrônica Farm.*, 6, 2009.
- Farmacopeia Brasileira. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.
- FURLAN, M. R.; MARTINS, R. C. C.; RODRIGUES, E.; SCALCO, N.; NEGRI, G.; LAGO, J. H. G. Variação dos teores de constituintes voláteis de *Cymbopogon citratus* (DC) Staf, Poaceae, coletados em diferentes regiões do Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Farmacogn.* 20(5): 686-691, 2010.
- GAONKAR, R.; YALLAPPA, S.; DHANANJAYA, B. L.; HEGDE, G. Development and validation of reverse phase high performance liquid chromatography for citral analysis from essential oils. *J. Chromatogr. B.* 1036: 50-56, 2016.
- GAUTAM, M.; AGRAWAL, M. Influence of metals on essential oil content and composition of lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) grown under different levels of red mud in sewage sludge amended soil. *Chemosphere*, 135: 315-322, 2017.
- GOBBO NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, 30 (2): 374-381, 2007.
- GUIMARÃES, L. G. D. L.; CARDOSO, M. D. G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). *Quim. Nova*, 31: 1476-1480, 2008.
- KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Housefly (*Musca domestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (citral and 1, 8-cineole). *Parasitol. Res.* 112: 69-76, 2013.
- LIMA, P. M.; DE MIRANDA, T. L.; DE ARAÚJO, I. M.; PINTO, D. S. A prática da fitoterapia a partir do conhecimento popular em três comunidades do valentina, João Pessoa-Paraíba. *Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança.* 112: 20-31, 2013.
- MELO, J. G. D.; MARTINS, J. D. G. D. R.; AMORIM, E. L. C. D.; ALBUQUERQUE, U. P. D. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Acta Bot. Bras.* 21: 27-36, 2007.
- MIRANDA, C. A. S. F.; DAS GRAÇAS CARDOSO, M.; MACHADO, S. M. F.; DE SOUZA GOMES, M.; DE ANDRADE, J.; TEIXEIRA, M. L. correlação entre composição química e eficácia antioxidante de óleos essenciais de plantas condimentares por análise de agrupamentos hierárquicos (hca). *e-xacta*, 7: 65-74, 2014.
- NIST Chemistry, NIST Standard Reference Database Number 69 [CD-ROM], Gaithersburg (MD): National Institute of Standards and Technology, 2009.
- SILVA, F. D.; SANTOS, R. H. S.; ANDRADE, N. J. D.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R. D.; PASSARINHO, R. V. D. M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. *Pesq. Agropec. Bras.* 40: 323-328, 2005.
- VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A.* 11: 463-471, 1963.

The influence of temperature and rainfall in the human viral infections

A influência da temperatura e índice pluviométrico nas infecções virais humanas

VIDAL, L. R. R.^{1*}; PEREIRA, L. A.¹; DEBUR, M. C.²; RABONI, S. M.^{1,3}; NOGUEIRA, M. B.^{1,4}; CAVALLI B.¹; ALMEIDA, S. M.^{1,5}

¹Virology Laboratory, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná;

²Molecular Biology Laboratory, Laboratório Central do Estado, Secretaria de Saúde do Estado do Paraná,

³Departamento de Saúde Comunitária and Programa de Pós Graduação em Medicina Interna Infectious Diseases Department, Universidade Federal do Paraná;

⁴Departamento de Análises Clínicas and Programa de Pós Graduação em Tocoginecologia, Universidade Federal do Paraná;

***Corresponding Author:** Luine Rosele Renaud Vidal

Virology Laboratory, Setor de Ciências da Saúde, UFPR,

Rua Padre Camargo, 280. Bairro Alto da Glória, CEP: 80.060-240

Phone number: +55 41 3360 7974 | E-mail: luine.tsuchiya@hc.ufpr.br

Recebido em 11/01/2019; Aceito em 15/01/19

Abstract

It is well described by many authors the occurrence of viruses outbreaks that occurs annually at the same time. Epidemiological studies could generate important information about seasonality and its relation to outbreaks, population fluctuations, geographical variations, seasonal environmental. The purpose of this study was to show the influence of temperature and rainfall on the main viral diseases responsible for high rates of morbidity and mortality. Data were collected from samples performed at the Virology Laboratory of the Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), which is a university tertiary hospital, in the period of 2003 to 2013. The temperature (°C) and mean monthly rainfall (mm) data was provided by the Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR-PR). The study of viral respiratory infection has revealed an incidence and pattern of seasonal prevalence of the respiratory viruses in Curitiba city, Southern Brazil. It was observed that in the months when the temperatures were lower, especially during June and July, there were an increasing number of samples collected as well as positive scores. For Rotavirus infections it was observed an increase in positive cases was observed in certain years, particularly during the colder months. Enteroviruses circulated in higher frequency during summer months with a median temperature of 21.5°C. Herpesviruses were distributed along the year but its circulation was not observed during the winter months. In conclusion it was observed the seasonality pattern of the viruses' circulation in Curitiba city, on the other hand rainfall did not demonstrated the same pattern.

Key words: seasonality, rainfall, respiratory viruses, viral gastroenteritis, nervous system viral diseases.

Resumo

É bem descrito por muitos autores a ocorrência de surtos de vírus que ocorrem anualmente ao mesmo tempo. Estudos epidemiológicos podem gerar informações importantes sobre a sazonalidade e sua relação com surtos, flutuações populacionais, variações geográficas, sazonais ambientais. O objetivo deste estudo foi mostrar a influência da temperatura e da precipitação nas principais doenças virais responsáveis por altas taxas de morbimortalidade. Os dados foram coletados de amostras realizadas no Laboratório de Virologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), que é um hospital universitário terciário, no período de 2003 a 2013. A temperatura (° C) e a média dos



dados pluviométricos mensais (mm) foram fornecidas pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR-PR). O estudo da infecção respiratória viral revelou uma incidência e padrão de prevalência sazonal dos vírus respiratórios na cidade de Curitiba, sul do Brasil. Observou-se que nos meses em que as temperaturas foram mais baixas, especialmente nos meses de junho e julho, houve um número crescente de amostras coletadas, bem como escores positivos. Para as infecções por rotavírus, observou-se um aumento nos casos positivos em certos anos, particularmente durante os meses mais frios. Os enterovírus circulavam em maior frequência durante os meses de verão com uma temperatura mediana de 21,5 °C. Herpesvírus foram distribuídos ao longo do ano, mas sua circulação não foi observada durante os meses de inverno. Em conclusão, observou-se o padrão de sazonalidade da circulação dos vírus na cidade de Curitiba, por outro lado, a precipitação não demonstrou o mesmo padrão.

Palavras chave: sazonalidade, índice pluviométrico, vírus respiratórios, diarreias virais, meningites virais, encefalites virais.

INTRODUCTION

It is well described the occurrence of viruses' outbreaks that occurs annually at the same time by many authors, due to host and etiologic agents of infectious diseases. In this context, Altizer et al., 2006 reinforce that epidemiological studies could generate important information about seasonality and its relation to outbreaks, population fluctuations, geographical variations, seasonal environmental. Additionally, the author remarks that seasonality could be related to the onset and severity of infectious diseases as well as with the persistence of the viral agents and this information could help in the adoption of strategies to control the these diseases (ALTIZER et al., 2006). According to World Health Organization respiratory infections, diarrheas, Central Nervous System (CNS) diseases, are the main problems of public health especially in young children. The high rate of mortality in young children by acute respiratory infections (ARI) has important distinctions between developed and in developing countries as well as it is closely related to the seasonal environmental (MONTO, 1994). The impact of respiratory tract infections in high-risk populations such as individuals with asthma and chronic bronchitis has been confirmed in several studies (FERNANDEZ et al., 1998) Patients with compromised immune function seem to be

susceptible to the same respiratory viruses that circulate in the general population. However, immunosuppression could generate conditions of serious complications (RABONI et al., 2003). The Group A rotaviruses (RVA) are the mainly responsible by of acute watery diarrhea in children aged less than 5 years worldwide. On a global scale, they are responsible for approximately 611,000 deaths per year, mostly in low-income countries (PARASHAR et al., 2006). RVA infections remain an important cause of pediatric hospitalization, particularly in developing countries, where demographic and socio-economic factors are associated with increased mortality rates (HARRINGTON et al., 2003). Viral meningitis is a common infectious disease of CNS that occurs worldwide, especially during the summer. Almost 90% of cases are caused by enterovirus such as, coxsackievirus and echovirus (SAWYER, 2002). They are easily transmitted by direct contact with respiratory secretions that can cause outbreaks with high financial impact and morbidity rates. These viruses are geographically confined and some serotypes may arise in endemic regions, with gradual changes in the predominant serotypes present year to year (SAWYER, 2002). The purpose of this study was to show the influence of temperature and rainfall on the principal viral diseases responsible for high rates of morbidity and mortality.



METHODOLOGY

An observational and retrospective was carried out. Viral circulation information were evaluated from analysis of Virology Laboratory database of the Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), which is a University tertiary Hospital, from 2003 to 2013. This study was based on the researches approved by the HC-UFPR Institution Research Board (IRB). The temperature (°C) and mean monthly rainfall (mm) data from 2003 to 2013 were provided by the Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), Curitiba, Paraná, Brazil (SIMEPAR-PR).

Casuistic

In the period of 2000 to 2003 a total of 1621 nasopharyngeal aspirate (NPA) or brochoalveolar lavage (BAL) samples were analyzed. From this total, 273 samples were obtained from primary healthcare units and 1348 samples from the Hospital of the Federal University in Paraná (HC-UFPR), comprising 666 samples from the Human Stem Cell Transplant (HSCT) Unit and 682 from pediatric patients attended at the combined facilities of the intensive care unit (ICU), along with the emergency and infectious disease units. HSCT patients have a heterogeneous age distribution that ranged from less than one to 70 years old, the majority of the samples were from patients with 20 to 39 years old. In the period from 2006 to 2008 1,572 NPAs samples were analyzed for hMPV diagnosis, of these 723 samples (723/1572, 46%) from pediatric inpatients, 356 (356/1572, 22.6%) from patients submitted to Human Stem Cell Transplant (HSCT) and 493 (493/1572, 31.4%) from outpatients were analyzed. Additionally, 163 samples collected from 153 patients through the winter months were tested for hMPV. The age range of the patients was 15 days to 4 years (mean 7.7 months) and 62.8% were male. One thousand and two cases were identified in both databases. A cross-sectional study was performed with 1,140 stool samples were

collected from April of 2001 to December of 2008 referred to HC-UFPR of outpatients and inpatients with acute gastroenteritis. The patients were admitted in the pediatric wards or to the hematopoietic stem cells transplantation (HSCT) unit. During July 2005 to December 2006 period a total 671 CSF samples were evaluated, with 460 samples (460 patients) fulfilling the inclusion criteria for the study. All the studies included in this evaluation were approved by the Ethics of Research on Human Beings Committee of the HC-UFPR.

RESULTS

The study of viral respiratory infection in Curitiba, Southern Brazil, has revealed an incidence and pattern of seasonal of the viruses (Figure 1 A, B, C and D). The trimester distribution of respiratory viruses is shown in figure 1. These figures illustrate the number of positive samples and monthly median outdoor temperature at time of samples collection during the 3 years of monitoring. In all figures it can be observed that in the months when the temperatures were lower, especially during June and July, there were an increasing number of samples collected as well as positive results. A similar distribution was observed for outpatient and hospitalized patients Figure 1 (A and B). Figure 1 (C) shows the incidence of the Human Metapneumovirus (hMPV) in the winter months, the virus was detected in 10 (6.4%) samples. Figure 1 (D) shows that hMPV circulated throughout the year with two annual peaks, one in the autumn and another in the late winter. A higher incidence of hMPV (18/37, 48.6%) was observed in May and June 2007. In this period was reported the alternance of the hMPV B2 subtype circulated in May and the hMPV B1 subtype circulated in June. Figure 1 (E) shows the same pattern of respiratory viruses, it shows the number of positive samples for FLUA and FLUB and the monthly median outdoor temperature during the three-year period. It was observed an increase in the number of

samples that tested positive for FLUA as well as FLUB during the winter season, which is associated with a lower outdoor temperature. Cases of HRV infection occurred throughout the study period (Figure 1 F). The months of May to August demonstrated the highest

number of HRV infections during 2012, peaking in August (17 cases; 10%). In 2013, the seasonality of HRV infection was from March to May, peaking in May (19 cases; 12%). Comparing the monthly distribution of HRV cases with average temperature (°C) and

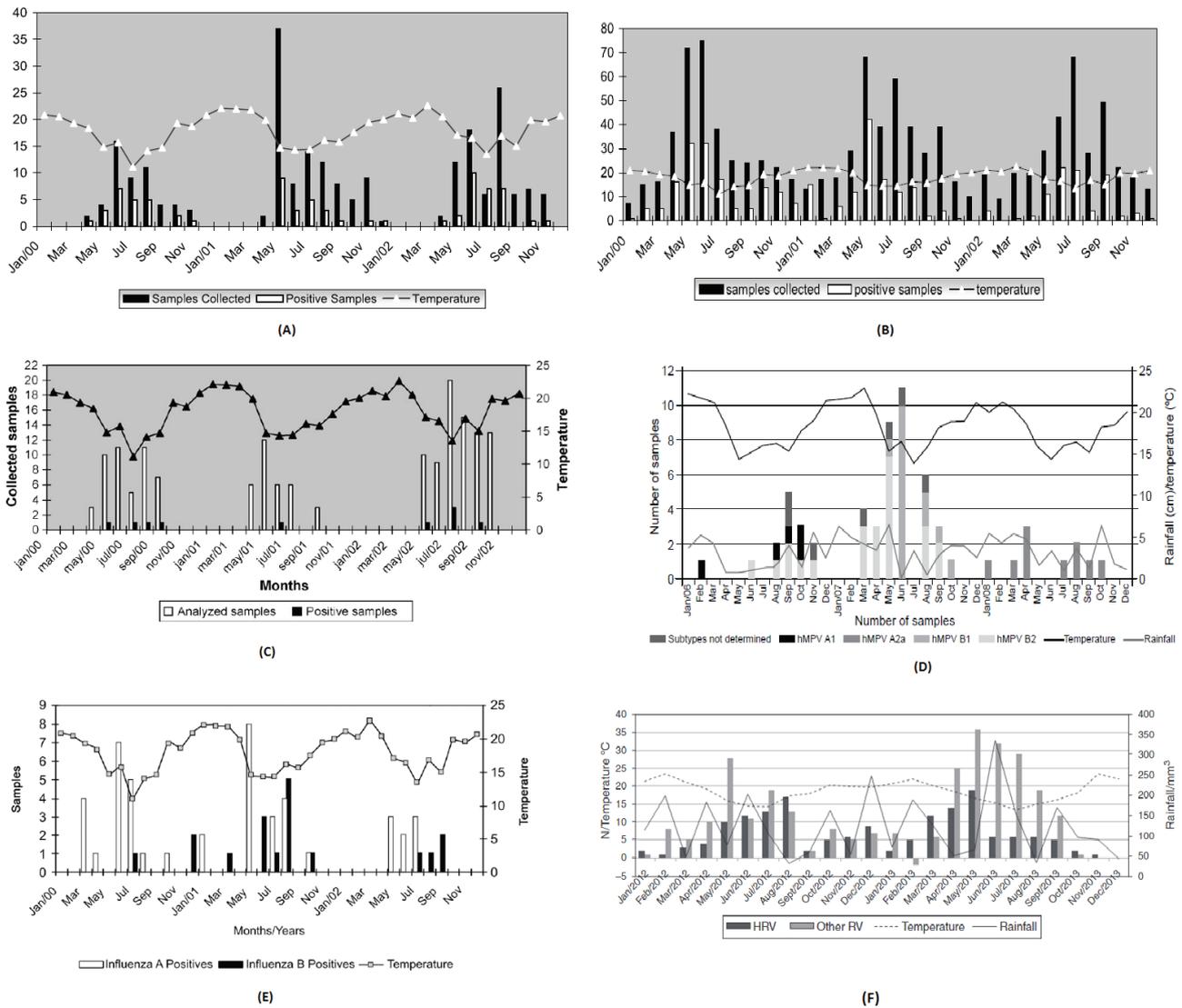


Figure 1. Incidence of viral respiratory infection in nasopharyngeal aspirates and the relationship to average day time temperature. (A) Incidence of viral infection, RSV, FLU A and B, PIV and ADV, from NPA samples in outpatients, positive samples and its relation to average daytime temperature from April 2000 to November 2003. (B) Incidence of viral infection RSV, FLU A and B, PIV and ADV, from samples of hospitalized patients and its relation to average daytime temperature from January 2000 to December 2003. (C) Distribution of hMPV in NPA and relationship to average daytime temperature in the winter months. (D) Distribution of hMPV positive samples and its relationship with the average daytime temperature and rainfall from January 2006 to December 2008 in Curitiba. (E) Seasonal distribution of FLU cases in Curitiba and monthly medium outdoor temperature during 2000 to 2003. (F) HRV infections: data on seasonality mean monthly temperature and precipitation, 2012 to 2013, Curitiba. Abbreviation: RSV- Respiratory Sincytial Viral; FLU - Influenza virus; PIV – Parainfluenza virus; ADV – Adenovirus; NPA – Nasopharyngeal Aspirate; hMPV – Human Metapneumovirus; HRV – Human Rhinovirus.

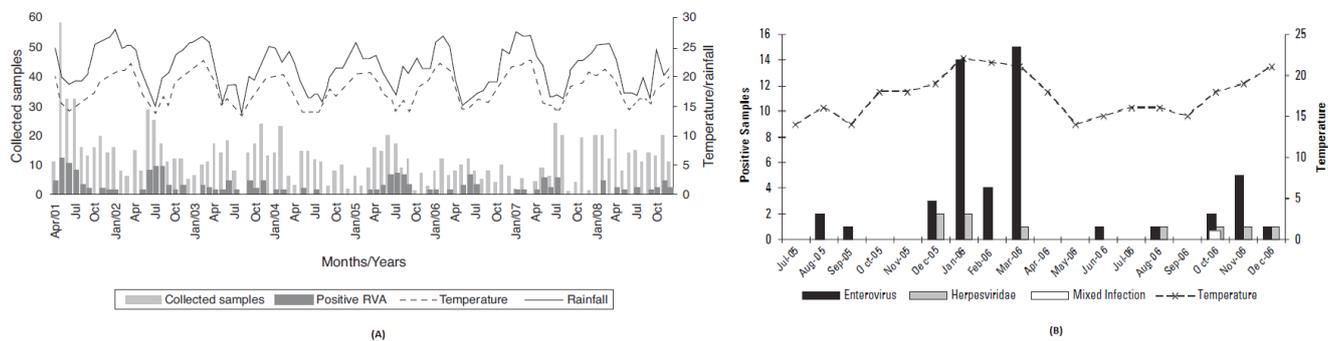


Figure 2. Incidence of RVA, Enterovirus and Hesperviruses in nervous system infection and the relationship to average day time temperature.

rainfall (mm), a negative correlation between the number of HRV cases and the average temperature ($r_s = -0.636$, $p < 0.001$) was demonstrated, but there was no significant correlation with rainfall ($r_s = -0.036$, $p = 0.866$). Figure 2 (A) shows the distribution of RVA during the eight-year study and its relation to monthly average temperature ($^{\circ}\text{C}$) and rainfall (mm). RVA infections presented an increase in positive cases was observed particularly during the colder months. However, it has been found that the frequency of the disease varied throughout the year. RVA infections presented an increase in positive cases was observed particularly during the colder months. However, it has been found that the frequency of the disease varied throughout the year. In 2008, it was observed that RVA circulate with a peak in the spring, which represented a delay of almost five months when compared to pre-immunization period. This was probably a result of a less susceptible population and, consequently, the virus required more time to spread. The incidence of nosocomial infections in this study was 12.5%. All patients had serious underlying diseases and this infection may have contributed to the increase in severity. CSF samples from patients who presented lymphomonocytary meningitis were investigated for enterovirus and herpesviridae family. During the July 2005 to December 2006 period a total 671 CSF samples were evaluated, with 460 samples (460 patients) filled the inclusion criteria for the study. A total of 59/460 (12.8%) samples showed

positive results for enterovirus ($n=48$), herpes simplex virus ($n=6$), Epstein Barr virus ($n=1$), human herpes virus type 6 ($n=2$) and a mixed infection with both enterovirus and Epstein Barr virus ($n=1$). There were higher numbers of positive samples during summer months with a median temperature of 21.5°C (Figure 2 B), mainly for enteroviruses. Herpesviruses were distributed along the year but its circulation was not observed during the winter months.

DISCUSSION

Located in the southern region of Brazil, Curitiba city is the coldest capital of Brazil, presenting a temperate climate, with four seasons well defined. The average temperature of the hottest month is less than 22°C , and the coldest temperature below 18°C . Precipitations in Curitiba are abundant throughout the year. The pluviometric index is approximately 1480 mm annually, with January being the month of greatest precipitation (172 mm). Seasonality is an important attribute in human viral infections, but the mechanisms are poorly understood. Fisman 2012 reaffirmed in a review that better understanding of drivers of seasonality could provide insights into the relationship between the physical environment and infection risk, which is particularly important in the context of global ecological change in general, and climate change in particular. In broad terms, seasonality represents oscillation in pathogens'



effective reproductive number, which, in turn, must reflect oscillatory changes in infectiousness, contact patterns, pathogen survival, or host susceptibility. In Brazil, since the influenza A pandemic of 2009, referral hospitals have been conducting active surveillance to detect respiratory viruses. Such surveillance includes notification and laboratory investigation of cases meeting the diagnostic criteria of severe acute respiratory infection (SARI). This viral respiratory infection monitoring has resulted in important information about the circulation of other community-acquired respiratory viruses (CRV) (LITWIN et al., 2014). In the present evaluation it can be observed that in the months when the temperatures were lower, especially during June and July, there were an increasing number of respiratory samples collected as well as positive results. A similar distribution was observed for outpatient and hospitalized patients. The viruses investigate were RSV, FLU types A and B, ADV and PIV groups, by the indirect immunofluorescence (IFI) and cellular culture methods (TSUCHIYA et al., 2005.). It is of prime importance to establish some criteria to differentiate the viruses due to their high mortality and morbidity rates and in consideration of the fact that at present, influenza infection is potentially preventable by vaccination and infected patients can be managed with specific antivirals (SELWYN, 1990). We observed FLU virus to be involved in a significant proportion of respiratory diseases in the studied population; and the results are in accordance with the rates reported in other studies where both influenza and RSV are major contributors to the increase of respiratory disease associated morbidity seen during the winter (MONTO, 2002; SELWYN, 1990; ZAMBON, 2001). It is estimated that between 5.000 and 29.000 additional annual deaths were caused by influenza in the U.K. between 1975 and 1990—five times the number directly attributed to influenza on death certificates (ZAMBON, 2001). The occurrence of these viruses in Curitiba in the period of late March to July were

showed, and many authors have reported the same seasonal of the virus in Brazil (STRALIOTTO et al., 2002; RABONI et al., 2003; TSUCHIYA et al., 2005; DEBUR et al., 2007; GARDINASSI et al., 2012). The studies developed in the virology laboratory revealed the involvement of viruses as etiologic agents in respiratory diseases in HSCT patients and viruses have been described as causing serious diseases in the immunosuppressed patients, elderly or persons with chronic lung disease, which tend to peak in the autumn or spring (RABONI et al, 2003; TSUCHIYA et al., 2005; DEBUR et al, 2007 and 2010). Another study by our group was on acute respiratory infection by hMPV in children hospitalized children in Paraná State, Brazil (DEBUR et al 2007). It was observed that hMPV circulates during winter and spring, consistent with the findings of another studies (JARTTI et al., 2002.; MULLINS et al., 2004; VAN DEN HOOGEN et al., 2004; CHANO et al., 2005; BOUSCAMBERT-DUCHAMP et al., 2005; GRAY et al., 2006). Cuevas et al. (2003) reported a correlation between respiratory virus circulation and rainy periods, but we did not observe any such relationship in southern Brazil, where hMPV circulation could only be correlated with lower temperatures (CUEVAS et al., 2003). In other Brazilian regions, the presence of the hMPV correlates with rainy seasons, as reported by Cuevas et al. (2003), and with temperature decreases. Human rhinovirus (HRV) is the most common cause of upper respiratory tract infections, being responsible for at least 50% of cases of the common cold. HRVs have also been linked to lower airway effects that result in significant morbidity and mortality. In general, HRV infections occur during spring and autumn and manifest differently depending on whether the lower or upper respiratory tract is infected (LITWIN et al., 2014). It was observed in Curitiba a negative correlation between the number of HRV cases and the average temperature and an incidence of positives cases in the months may to august (LEOTTE et al., 2016). Rotavirus type A infections remain an important cause of pediatric



hospitalization, particularly in developing countries, where demographic and socio-economic factors are associated with increased mortality rates. Vaccination has a significant impact on the frequency of disease; nevertheless, severe infections persist, and the possible emergence of new genotypes must be considered. The diversity of rotavirus strains underscores the need for intensive surveillance; thus, the implementation of laboratory surveillance is critical to prevent outbreaks (RAMANI et al., 2009). RVA infections are most common in the wintertime in temperate regions, and year-round in tropical areas (KANE et al., 2004). In Brazil, an increase in positive cases was observed in certain years, particularly during the colder months (SANTOS et al., 2008). The same pattern was observed in the studies developed in the virology laboratory (PEREIRA et al., 2013). However, it has been found that the frequency of the disease varied throughout the year, suggesting that factors other than weather can influence the seasonality of this pathogen (NUNES et al., 2010; PEREIRA et al., 2013). Furthermore, in 2008, it was observed that RVA activity was spread throughout the entire year, peaking in the spring, which represented a delay of almost five months when compared to pre-immunization period. This was probably a result of a less susceptible population and, consequently, the virus took more time to spread (SÁFADI et al., 2010). It is worth mentioning the importance of RVA associated to hospital-acquired infections among children. Several factors, such as age, immune status, underlying disease, diagnostic and therapeutic interventions, season of the year, and duration of hospitalization may influence the acquisition of these infections. The genotypes of RVA found in these patients reflected the same genotype circulating in the community, highlighting the importance of measures for hospital infection control to prevent the spread of the pathogen in this environment (GLEIZES et al., 2006). Viral meningitis is a common infectious disease of the CNS that occurs

worldwide, especially during the summer. In Curitiba it's responsible for approximately 50% of inpatients (Brasil, Ministério da Saúde, 2007). Almost 90% of cases are caused by enterovirus (EV) such as, coxsackievirus and echovirus which contain several serotypes (SAWYER, 2002; MONTO, 2002). EV meningitis is the most common agent identified in most cases, followed by herpesviridae family viruses (VIDAL et al., 2011). In addition to morbidity, these infections cause a major economic impact on developed and developing countries (BROWN et al., 2003). There is little information on viral infections of the CNS in Southern Brazil. The circulation of the EV in Curitiba occurred mainly in the summer and autumn, similarly to that described for the northern hemisphere (VIDAL et al., 2011). However, a high year-round incidence occurs in tropical and subtropical areas. It is believed that fecal-oral spread of these agents is facilitated, particularly among children, during periods of warm weather. In addition to direct person-to-person transmission, EVs may be recovered from houseflies, wastewater and sewage (KLOWDEN et al., 1974). This evaluation reports the incidence of respiratory viruses, gastroenteritis and meningitis related to the seasonality and rainfall. Certainly, the information of seasonality will contribute to improved understanding of the epidemiology of this infections and etiology thus the management of antiviral drugs and establishment of strategies to minimize the impact of these viruses in many patients including immunocompromised patients.

CONCLUSION

In conclusion it was observed the seasonality pattern of the viruses' circulation in Curitiba city, on the other hand rainfall did not demonstrated the same pattern. The perspective of the established the influence and determine the mechanisms of the seasonality, rainfall and the development of infectious diseases could improve the comprehension of its dynamics



and complications, in different regions of Brazil. Principally it could provide insights to developing epidemiological strategies to control the spread of viral agents as well to prevention the viral diseases.

Disclosure of Potential Conflicts of Interest: The authors declare no potential conflicts of interest.

REFERENCES

- ALTIZER S.S.; DOBSON A.; HOSSEINI P.; HUDSON P.; PASCUAL M.; ALTIZER P.R. Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecol. Lett.*, 9:467–484, 2006. doi/ 10.1111/j.1461-0248.2005.00879
- BOUSCAMPERT-DUCHAMP M.; LINA B.; TROMPETTE A.; MORET H.; MOTTE J.; ANDRÉOLETTI L. Detection of human metapneumovirus RNA sequences in nasopharyngeal aspirates of young French children with acute bronchiolitis by real-time reverse transcriptase PCR and phylogenetic analysis. *J. Clin. Microbiol.*, 43:1411–1414, 2005. doi: 10.1128/JCM.43.3.1411-1414.2005
- BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informações de Saúde [updated 2007 Feb 01]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br>.
- BROWN B.; OBERSTE MS.; MAHER K.; PALLANSCH MA. Complete genomic sequencing shows that polioviruses and members of human enterovirus species c are closely related in the noncapsid coding region. *J Virology*, 77:8973-8984, 2003. doi: 10.1128/JVI.77.16.8973-8984.2003
- CHANO F.; ROUSSEAU C.; LAFERRIÈRE C.; COUILLARD M.; CHAREST H. Epidemiological survey of human metapneumovirus infection in a large pediatric tertiary care center. *J. Clin. Microbiol.*, 43:5520–5525, 2005. doi: 10.1128/JCM.43.11.5520-5525
- CUEVAS L.E.; NASSER A.M.; DOVE W.; GURGEL R.Q.; GREENSILL J.; HART C.A.. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, 9:1626-1628, 2003. doi: 10.3201/eid0912.030522
- Dados meteorológicos. Sistema Meteorológico do Paraná (Simepar). Novembro de 2018. Disponível em: http://www.simepar.br/site_pw/faleconosco#collapse3
- DEBUR M.C.; BORDIGNON J.; SANTOS C.N.D.; VIDAL L.R.; NOGUEIRA M.B.; ALMEIDA S.M.; RABONI S.M. Acute respiratory infection by human metapneumovirus in children in southern Brazil. *J. Clin. Virol.*, 39:59–62, 2007. doi: 10.1016/j.jcv.2007.01.012
- DEBUR M.C.; VIDAL L.R.R.; STROPARO E.; NOGUEIRA M.B.; ALMEIDA S.M.; TAKAHASHI G.A.; ROTTA I.; PEREIRA L.A.; SILVEIRA C.S.; DELFRARO A.; NAKATANI S.M.; SKRABA I.; RABONI S.M. Impact of human metapneumovirus infection on in and outpatients for the years 2006–2008 in southern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 105(8):1010-8, 2010. doi: [org/10.1590/S0074-02762010000800010](https://doi.org/10.1590/S0074-02762010000800010)
- FERNÁNDEZ S.O.; PERALTA D.R.; HERNÁNDEZ A.G. Detección y caracterización rápida de los virus de influenza A y B em secreciones nasofaríngeas mediante el método de la inmunoperoxidasa. *Rev. Cubana Med. Trop.* 50:36–41; 1998.
- FISMAN D. Seasonality of viral infections: mechanisms and unknowns. *Clin. Microbiol. Infect.*, 18: 946–954, 2012.
- GARDINASSI L.G.; SIMAS P.V.M.; SALOMÃO J.B.; DURIGON E.L.; TREVISAN D.M.Z.; CORDEIRO J.A.; LACERDA M.N.; RAHAL P.; SOUZA F.P. Seasonality of viral respiratory infections in southeast of Brazil: the influence of temperature and air humidity. *Braz. J. Microbiol.*, (1): 98–108, 2012. doi: 10.1590/S1517-838220120001000011.
- GLEIZES O.; DESSELBERGER U.; TATOCHENKO V.; RODRIGO C.; SALMAN N.; MEZNER Z., et al. Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 25:S12-21, 2006. doi: 10.1097/01.inf.0000197563.03895.91
- GRAY G.C.; CAPUANO A.W.; SETTERQUIST S.F.; SANCHEZ J.L.; NEVILLE J.S.; OLSON J., et al. Human metapneumovirus, Peru. *Emerg. Infect. Dis.*, 12:347–50, 2006. doi: 10.3201/eid1202.051133
- HARRINGTON M.; BUTLER K.; CAFFERKEY M. Rotavirus infection in hospitalised children: incidence and impact on healthcare resources. *Ir. J. Med. Sci.*, 172:33-6, 2003. doi: [org/10.1007/BF02914784](https://doi.org/10.1007/BF02914784)
- JARTTI T.; VAN DEN HOOGEN B.; GAROFALO R.P.; OSTERHAUS A.D.M.E.; RUUSKANEN O. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet*, 360:1393–1394, 2002. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11391-2
- KANE E.M.; TURCIOS R.M.; ARVAY M.L.; GARCIA S.; BRESEE J.S.; GLASS R.I. The epidemiology of rotavirus diarrhea in Latin America. Anticipating rotavirus vaccines. *Rev. Panam. Salud Publica*, 16:371-377, 2004. doi: 10.1590/S1020-49892004001200002
- KLOWDEN M.; GREENBERG B. House fly and *Drosophila* cell cultures as hosts for human enteroviruses. *J. Med. Entomol.* 4:428-432, 1974. doi: 10.1093/jmedent/11.4.428



- LEOTTE J, TROMBETTA H, FAGGION HZ, ALMEIDA BM, NOGUEIRA MB, VIDAL LRR, RABONI SM. Impact and seasonality of human rhinovirus infection in hospitalized patients for two consecutive years. *J. Pediatr.* 93(3):294-300, 2017. doi: 10.1016/j.jpmed.2016.07.004.
- LITWIN C.M.; BOSLEY J.G. Seasonality and prevalence of respiratory pathogens detected by multiplex PCR at a tertiary care medical center. *Arch. Virol.*, 159:65-72, 2014.
- MONTO A.S. Studies of the community and family: acute respiratory illness and infection. *Epidemiol. Rev.* 16:351-73, 1994. doi: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036158
- MONTO A.S. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am. J. Med.* 112:6A, 2002. doi.org/10.1016/S0002-9343(01)01058-0
- MULLINS J.A.; ERDMAN D.D.; WEINBERG G.A. EDWARDS K., HALL C.B.; WALKER F.J., et al. Human metapneumovirus infection among children hospitalized with acute respiratory illness. *Emerg. Infect. Dis.*, 10:700-705, 2004. doi: 10.3201/eid1004.030555
- NUNES A.A.; DE MELLO L.M.; PARRODE R.N.; BITTAR J.P.; DOMINGUES A.L. Prevalence of rotavirus in acute diarrhea and its association with clinical signs and symptoms. *J. Trop. Pediatr.*, 56:212-213, 2010. doi: 10.1093/tropej/fmp091
- PARASHAR U.D.; GIBSON C.J.; BRESEE J.S.; GLASS R.I. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg. Infect. Dis.* 12:304-6, 2006. doi:10.3201/eid1202.050006
- PEREIRA L.A., FERREIRA C.E.O.; TURCHETTO G.D.; NOGUEIRA M.B.; VIDAL L.R.; CRUZ C.R.; DEBUR M.C.; ALMEIDA S.M.; RABONI S.M. Molecular characterization of rotavirus genotypes in immunosuppressed and non-immunosuppressed pediatric patients. *J. Pediatr.* 89(3):278-285, 2013. doi: 10.1016/j.jpmed.2012.11.002
- RABONI S.M.; NOGUEIRA M.B.; TSUCHIYA L.R.R. V.; TAKAHASHI G.R.A.; PEREIRA L.A.; PASQUINI R.; SIQUEIRA M.M. Respiratory tract viral infections in bone marrow transplant patients. *Transplantation*, 76:142-146, 2003. doi: 10.1097/01.TP.0000072012.26176.58
- RAMANI S.; ITURRIZA-GOMARA M.; JANA A.K.; KURUVILLA K.A.; GRAY J.J.; BROWN D.W.; et al. Whole genome characterization of reassortant G10P[11] strain (N155) from a neonate with symptomatic rotavirus infection: identification of genes of human and animal rotavirus origin. *J. Clin. Virol.* 45:237-244, 2009. doi: 10.1016/j.jcv.2009.05.003
- SÁFADI M.A.; BEREZIN E.N.; MUNFORD V.; ALMEIDA F.J.; DE MORAES J.C.; PINHEIRO C.F.; et al. Hospital-based surveillance to evaluate the impact of rotavirus vaccination in São Paulo, Brazil. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 29:1019-1022, 2010. doi: 10.1097/INF.0b013e3181e7886a
- SANTOS J.S.; ALFIERI A.F.; LEITE J.P.; SKRABA I.; ALFIERI A.A. Molecular epidemiology of the human group A rotavirus in the Paraná State, Brazil. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 51:287-294, 2008. doi.org/10.1590/S1516-89132008000200008
- SAWYER M.H. Enterovirus Infections: diagnosis and treatment. *Seminars in pediatrics infections diseases*, 53:40-47, 2002. doi.org/10.1053/spid.2002.29756
- SELWYN B.J. The epidemiology of acute respiratory tract infection in young children: comparison of findings from several developing countries. *Rev. Infect. Dis.*, 2 (Suppl 8), 1990. doi.org/10.1093/clinids/12.Supplement_S870
- STRALIOTTO S.M.; SIQUEIRA M.M.; MULLER R.L.; FISCHER G.B.; CUNHA M.L.T.; NESTOR S.M. Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 35:1-9, 2002. doi.org/10.1590/S0037-86822002000400002
- TSUCHIYA L.R.R.V.; COSTA L.M.D.; RABONI S.M.; NOGUEIRA M.B.; PEREIRA L.A.; ROTTA I.; TAKAHASHI G.R.A.; COELHO M, SIQUEIRA MM. Viral respiratory infection in Curitiba, Southern Brazil. *J. Infect.*, 51:401-407, 2005. doi:10.1016/j.jinf.2004.12.002
- VAN DEN HOOGEN B.G.; OSTERHAUS A.D.M.E. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *J. Ped. Infect. Dis.*, 23:S25-32, 2004a. doi: 10.1097/01.inf.0000108190.09824.e8
- VIDAL L.R.R.; ALMEIDA S.M.; MESSIAS-REASON I.J.; NOGUEIRA M.B.; DEBUR M.C.; PESSA L.F.C.; PEREIRA L.A.; ROTTA I.; TAKAHASHI G.R.A.; SILVEIRA C.S.; ARAÚJO J.M.R.; RABONI S.M. Enterovirus and herpesviridae Family as etiologic agents of lymphomonocytic meningitis, Southern Brazil. *Arq. Neuropsiquiatr.*, 69(3):475-481, 2011. doi.org/10.1590/S0004-282X2011000400013
- VIDAL L.R.R.; SIQUEIRA M.M.; NOGUEIRA M.B.; RABONI S.M.; PEREIRA L.A.; TAKAHASHI G.R.A.; ROTTA I.; DEBUR M.C.; DALLA-COSTA L.B. The epidemiology and antigenic characterization of influenza viruses isolated in Curitiba, South Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 103(2): 180-185, 2008.
- ZAMBON M.C.; STOCKTON J.D.; CLEWLEY J.P.; FLEMING D.M. Contribution of influenza and respiratory syncytial virus to community cases of influenza-like illness: an observational study. *Lancet*, 358:1410-1416, 2001. doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06528-X

Molecular detection on the bla_{KPC} gene in the extensively prevalent nosocomial isolates of drug resistant *Acinetobacter spp* at hospital in southeastern region of Brazil

Detecção molecular do gene bla_{KPC} dentre isolados nosocomiais de *Acinetobacter spp* extensivamente resistente a drogas isolados em um hospital na região sudeste do Brasil

XAVIER, M.A.S.^{1*}; DE LUCA, M.²; CARVALHO, A.A.³; CARDOSO, L.F.⁴; XAVIER, A.R.E.O.¹

¹Departamento de Fisiopatologia, Laboratório de Microbiologia, Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. ²Faculty of Medicine and Surgery, Università degli Studi di Napoli Federico II, Naples, Italy. ³Unidade Pediátrica Intensiva Neonatal, Hospital Santa Casa, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. ⁴Comitê de Controle de Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde, Hospital Santa Casa, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.

Autor correspondente: Mauro A. S. Xavier
+55 38 3229-8342 | +55 38 3229-8398 | mauro.xavier@unimontes.br

Recebido em 11/12/2018; Aceito em 17/12/2018

ABSTRACT:

Acinetobacter baumannii is a multiple drug resistance opportunistic pathogen who has been responsible for severe outbreaks in nosocomial environment. *A. baumannii* possesses several mechanisms of antibiotic resistance that make it resistant to β -lactamics, mainly due to OXA-type carbapenemases expression, and others antibiotics. The bla_{KPC} gene is an antibiotic resistance gene typical of *K. pneumoniae* and *P. Aeruginosa*. In 2009, bla_{KPC} was found in *A. baumannii* isolates in Puerto Rico and later in São Luis, Brazil. The aim of this study is to screening the presence of bla_{KPC} in nosocomial *A. baumannii* isolates from hospital environment monitoring. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Universidade Estadual de Montes Claros under number 852.002/2014. Thirty-one DNA samples of *Acinetobacter spp* extensively drug resistant isolated from hospitalized patients in the southeast of Minas Gerais state – Brazil and kept at -20°C were used for PCR amplification of bla_{KPC} gene detection. The expected amplicon size of 876 bp was visualized on 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide and photographed. Twenty-eight DNA samples of *Acinetobacter spp.* tested negative to bla_{KPC} gene and three isolates showed PCR expected amplicon of 876 bp. The presence of *K. pneumoniae* and *Acinetobacter spp.* in the same hospital environment could results in gene transfer between them. Also, the widespread and increasing uses of carbapenems could accelerate the spread of carbapenems-resistant strains by transferring resistance genes among the enterobacteriaceae and related microorganisms, impacting the public health system.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, multi-resistance, carbapenemase, bla_{KPC}

RESUMO:

Acinetobacter baumannii é um patógeno oportunista de resistência a múltiplas drogas que tem sido responsável por surtos graves em ambiente nosocomial. *A. baumannii* possui vários mecanismos de resistência aos antibióticos que o tornam resistente aos β -lactâmicos, principalmente devido à expressão de carbapenemases do tipo OXA, e a outros antibióticos. O gene bla_{KPC} é um gene de resistência a antibióticos típico de *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. Em 2009, o bla_{KPC} foi encontrado em isolados de *A. baumannii* em Porto Rico e depois em São Luís, Brasil. O objetivo deste estudo foi rastrear a presença de bla_{KPC} em *A. baumannii* nosocomiais isolados de ambiente hospitalar. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Montes Claros sob o número 852.002/2014. Trinta e uma amostras de DNA de *Acinetobacter spp.* extensivamente resistentes a drogas isoladas de pacientes hospitalizados no



sudeste de Minas Gerais e mantidas a -20°C foram utilizadas para detecção do gene bla_{KPC} por PCR. O tamanho esperado do amplicon era de 876 pb, o qual foi visualizado em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídio e fotografado. Vinte e oito amostras de DNA de *Acinetobacter* spp. foram negativos e três isolados mostraram o fragmento de 876 pb, correspondente ao gene bla_{KPC} . A presença de *K. pneumoniae* e *Acinetobacter* spp. no mesmo ambiente hospitalar e o uso crescente e generalizado de carbapenêmicos pode acelerar a disseminação de cepas resistentes aos mesmos pela transferência de genes de resistência entre as enterobactérias e microrganismos relacionados, com impacto no sistema público de saúde.

Palavras – chave: *Acinetobacter baumannii*, multirresistente, carbapenemase, bla_{KPC}

INTRODUCTION

Acinetobacter baumannii is a multiple drug resistance (MDR) opportunistic pathogen who in recent decades has been responsible for severe outbreaks in nosocomial environment (FONSECA et al. 2013; PEREZ et al. 2010; PELEG, SEIFERT and PATERSON 2008). Intensive care units, burn therapy units and long-term care units are the most associated with infections caused by *A. baumannii* and the most affected patients are the hospitalized one who are often elderly, debilitate, severe ill or immunocompromised (PEREZ et al. 2010; HAMMOUDI et al. 2015). *A. baumannii* can cause nosocomial pneumonia, urinary tract infections, endocarditis, meningitis and sepsis (MARTINEZ et al. 2016). Since its high antibiotic resistance and the precarious health condition of the patients, these infections are difficult to treat and have a mortality rate of 50% (CARVALHO et al. 2016). For this reason, the study of MDR pathogens and the control of their diffusion in a hospital environment is worldwide considered a major issue (PELEG, SEIFERT, and PATERSON 2008; CARVALHO et al. 2016).

A. baumannii possesses several mechanisms of antibiotic resistance that make it resistant to β -lactams, aminoglycosides, fluoroquinolones and tetracyclines. These mechanisms are due to chromosomal and plasmid-acquired β -lactamases, overexpression of efflux pumps, porins down regulation, aminoglycosides modifying enzymes, gyrase and topoisomerase mutations (HANDAL et al. 2017; BRATU et al. 2008). Among them, the major antibiotic resistance mechanism is due to β -lactamases expression. They are classified by Ambler in four families: classA, Extended-Spectrum β -lactamases; classB, metal- β -lactamases (MBLs); classC, *Acinetobacter*-derived cephalospori-

nases; classD, carbapenem-hydrolyzing β -lactamases known as OXA-type carbapenemases (CARVALHO et al. 2016).

In *A. baumannii* the major part of antibiotic resistance is due to OXA-type carbapenemases expressions. These have a spectrum breadth unrivalled by other β -lactamases (QUEENAN and BUSH 2007; AZIMI et al. 2015). The genes belonging to the OXA-type family were grouped into six subgroups: bla_{OXA-23} , bla_{OXA-24} , bla_{OXA-51} , bla_{OXA-58} , $bla_{OXA-143}$ and $bla_{OXA-235}$. In particular, bla_{OXA-23} is the most diffused carbapenemases coding gene in Brazil (FONSECA et al. 2013; CARVALHO et al. 2016).

Recently two other genes coding for carbapenemases have been found in isolates of *A. baumannii*, although they are not typical of this pathogen: bla_{NDM} , which encodes for a classB β -lactamase and bla_{KPC} which encodes for a classA β -lactamase (BERRAZEG et al. 2014; ROBLEDO et al. 2010; RIBEIRO et al. 2016). Their association with mobile genetic elements, transposons, suggests that both can be horizontally transferred between different pathogens (MARTINEZ et al. 2016; QUEENAN and BUSH 2007; ROBLEDO et al. 2010; RIBEIRO et al. 2016).

The bla_{NDM-1} gene is a chromosomal gene original from plant pathogens, such as *Pseudoxanthomonas*, and pathogens from the same environment. In 2007 there was the first recorded and published case of an infection caused by *K. pneumoniae* with bla_{NDM-1} gene. Since then, a worldwide spread of this gene has been recorded in other community or nosocomial pathogens, including in *A. baumannii* (BERRAZEG et al. 2014).

The bla_{KPC} gene is an antibiotic resistance gene typical of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* and is localized on



plasmid-borne transposon Tn4401. For the first time in 2009 bla_{KPC} was found in *A. baumannii* isolates in Puerto Rico and later in São Luis, Brazil (ROBLEDO et al. 2010; RIBEIRO et al. 2016). *A. baumannii* bla_{KPC} -positive specimens were collected in intensive care units and general medicine units of the same hospital where, at the same time, other infections caused by bla_{KPC} -positive *K. pneumoniae* were found. The coincidence about common hospital environment and its association with transposon Tn4401 makes to thinking that it could be possible for this gene to be horizontally transferred between different pathogens present simultaneously in the same environment.

It is believed that the acquisition of further antibiotic resistance mechanisms in *A. baumannii* is a worldwide issue and probably not only limited to this pathogen (ROBLEDO, AQUINO, and VÁZQUEZ 2011). The aim of this study is to screening the presence of bla_{KPC} in nosocomial *A. baumannii* isolates to pursue a hospital environment monitoring.

MATERIALS AND METHODS

CARVALHO et al. (2014) isolated extensively drug resistant (XDR) *Acinetobacter* spp from hospitalized patients at the hospital located in the southeast of Minas Gerais state - Brazil. The total DNA samples were kept in the freezer at -20°C in the laboratory. Thirty-one samples containing enough material for detection of bla_{KPC} gene by PCR were selected for this study.

Primers described by Yigit et al. (2001) were used to screen for the bla_{KPC} gene; they generated an amplicon size of 876 bp. All primers were synthesized by Integrated DNA Technology (USA). The amplifications were performed in a single PCR containing 2x GoTaq Green Master Mix[®] (Promega, USA), 2.5 mM MgCl_2 , 10 μM of each primer, and 50 ng of bacterial DNA in a final volume of 50 μL . The amplification conditions used were the same as those reported by the authors listed for each primer. The amplicons were visualized on a 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide and photographed. As a positive control for the PCR, two nosocomial strain of *K. pneumoniae* previously identified by a Brazilian reference laboratory (Ezequiel Dias Foundation), encoding bla_{KPC} , was used. Distilled and sterilized water was used as a negative control.

The research was performed in accordance with the Brazilian National Council of Research Ethics (CONEP) Resolution 466/12 and the Declaration of Helsinki. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Universidade Estadual de Montes Claros, affiliated with the CONEP, under number 852.002/2014

RESULTS

Twenty-eight DNA samples of *Acinetobacter* spp. in this study (n = 31) tested negative to bla_{KPC} gene (Figure 1A and 1B) and three isolates (ISO 15, ISO17 and ISO21) showed PCR expected amplicon of 876 bp, corresponding to the bla_{KPC} gene (Figure 1B).

DISCUSSION

Acinetobacter spp. has been reported as extensively drug-resistant, including Meropenem and Imipenem antibiotics (CARVALHO et al. 2016) and it has acquired a huge genetic repertoire via horizontal gene transfer, resulting in virulent and resistant microorganism to any environment (HANDAL et al. 2017), especially in the hospital due to the drug pressure and patient profile (CARVALHO et al. 2016).

Since, the Bla_{KPC} belonging first of all to *Klebsiella pneumoniae* and it is located in the mobile plasmid containing the transposon Tn4401 (MARTINEZ et al. 2016), the presence of *K. pneumoniae* and *Acinetobacter* spp. in the same hospital environment could results in gene transfer between them. The presence of bla_{KPC} in *A. baumannii* described in Puerto Rico (MARTINEZ et al. 2016; ROBLEDO et al. 2010), São Luis city in Brazil (RIBEIRO et al. 2016) and Iran (AZ-IMI et al. 2015) corroborates with this study. However, in this work was not possible to determine if the *Acinetobacter* spp. ISO15, ISO17 and ISO21 resistant to Imipenem and Meropenem was due to bla_{KPC} gene (this study) or bla_{OXA23} genes (CARVALHO et al. 2016). Also, it was unknown if the plasmid harboring bla_{KPC} gene was integrated into the *Acinetobacter baumannii* chromosome since we used total DNA extraction to detect the bla_{KPC} amplicon by PCR.

The widespread and increasing uses of carbapenems may accelerate the spread of carbapenems-resistant strains by transferring resistance genes among the

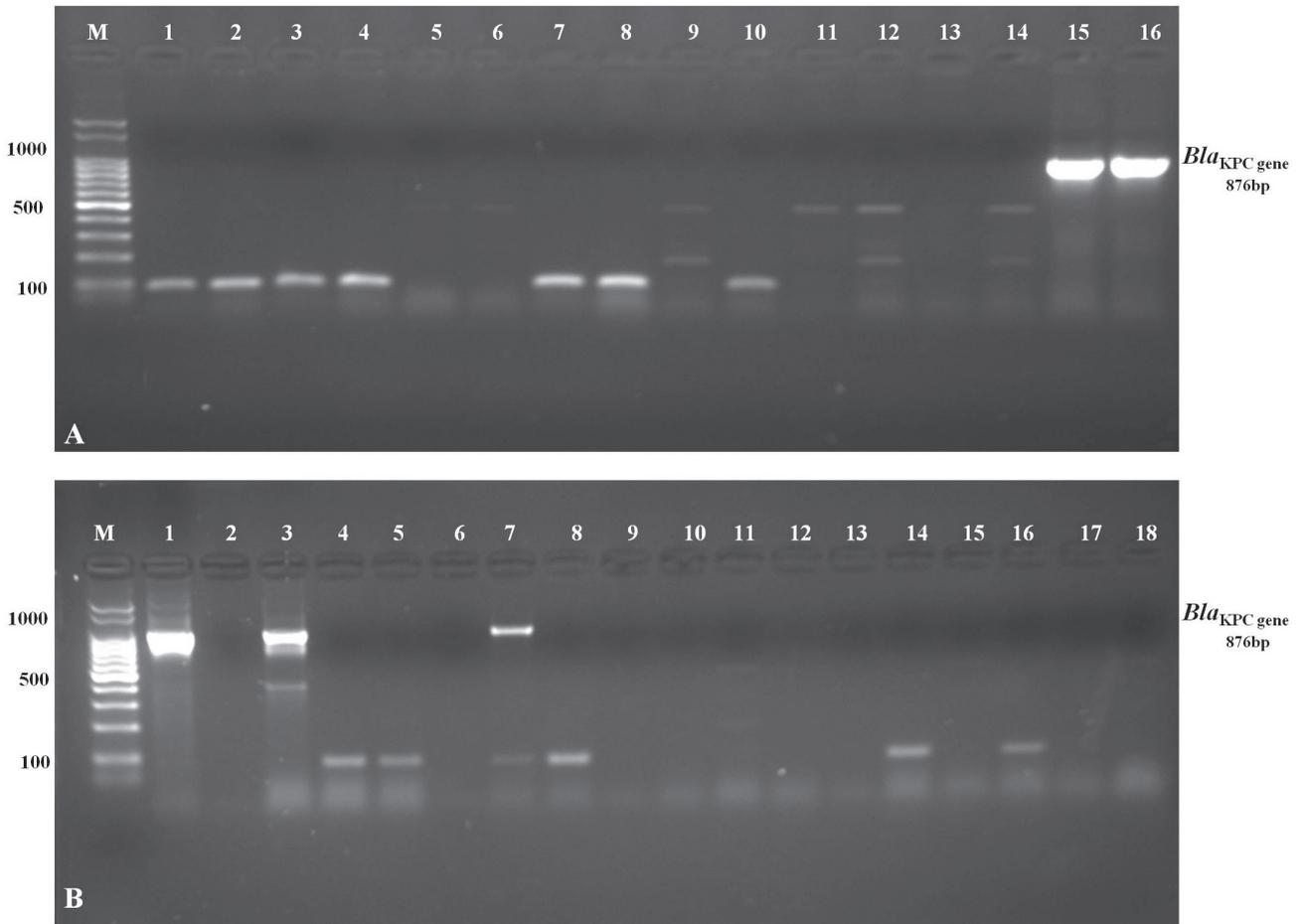


Figure 1. PCR for detection of the *bla*_{KPC} gene among carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp DNA on 1.5% agarose gel. Panel A: Lane M: Molecular mass marker 100 base pair (Ludwig biotechnology); Lane 1 to 14: *Acinetobacter* spp DNA. Lane 15 and 16: Positive control (*Klebsiella pneumoniae* reference strain carrying *bla*_{KPC} gene). Panel B: Lane M: Molecular mass marker 100 base pair (Ludwig biotechnology); Lane 1 to 17: *Acinetobacter* spp DNA. Lane 18: Negative control (*Distilled water*). The size of the 100bp Ludwig biotechnology marker, in base pairs, is indicated to the left. The expected 876-base pair amplified fragment corresponding to the *bla*_{KPC} gene is designated to the right of the gel.

enterobacteriaceae and related microorganisms with impact in the public health system. Then, we reported here by the first time in the southeast of Brazil the presence of *bla*_{KPC} gene in the *A. baumannii* isolates which are extensively drug resistant including carbapenems.

Acknowledgments

The authors thank the Laboratory of Clinical Analysis and the Nosocomial Infection Control Committee of the Hospital Santa Casa de Montes Claros for the permission to conduct this study. We also thank to

the International Federation of Medical Student's Associations that provided an author from Italy to come to Brazil by exchange in order to participate this research.

Conflict of Interest

The authors declare that is no conflict of interest

Financial Support

Research supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), Brazil.



REFERENCES

- AZIMI, L., TALEBI, M.; POURSHAFIE, M.-R.; OWLIA, P.; LARI, A.R. Characterization of Carbapenemases in Extensively Drug Resistance *Acinetobacter baumannii* in a Burn Care Center in Iran. *Int J Mol Cell Med.*, 4(1):46–53,2015. doi:PMC4359705.
- BERRAZEG, M.; DIENE, S.M., MEDJAHED, L.; PAROLA, P.; DRISSI, M.; RAOULT, D.; ROLAIN, J.M. New Delhi Metallo-Beta-Lactamase around the World: An eReview Using Google Maps. *Eurosurveillance* 19 (20): 1–14,2014. doi:10.2807/1560-7917.ES2014.19.20.20809.
- BRATU, S.; LANDMAN, D.; MARTIN, D.A.; GEORGESCU, C.; QUALE, J. "Correlation of Antimicrobial Resistance with Beta-Lactamases, the OmpA-like Porin, and Efflux Pumps in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* Endemic to New York City. *Antimicrob. Agents Chemother.*,52(9):2999–3005,2008. doi:10.1128/AAC.01684-07.
- CARVALHO, A.A., CARDOSO, L.L.; NOGUEIRA, H.S.; MENEZES, E.V.; XAVIER, M.A.S.; BARRETO, N.A.; FERNANDES, P.L.F.; XAVIER, A.R.E.O. Characterization and Molecular Prevalent Nosocomial Isolates of Drug-Resistant *Acinetobacter* spp. *Genet. Mol. Res.*,15(3):1–11,2016. doi:10.4238/gmr.15038608.
- FONSECA, E.L.; SCHEIDEGGER, E.; FREITAS, F.S.; CIPRIANO, R.; VICENTE, A.C.P. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: Role of carO Alleles Expression and blaOXA-23 Gene. *BMC Microbiol.*, 13(1):245,2013. doi:10.1186/1471-2180-13-245.
- HAMMOUDI, D., MOUBARECKA, A.; HAKIME, N.; HOUMANI, M.; BARAKAT, A.; NAJJAR, Z.; SULEIMAN, M.; FAYAD, N.; SARRAF, R.; SARKIS, D.K. Spread of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Co-Expressing OXA-23 and GES-11 Carbapenemases in Lebanon. *Int. J. Infect. Dis.*, 36:56–61,2015. doi:10.1016/j.ijid.2015.05.015.
- HANDAL, R.; QUNIBI, L.; SAHOURI, I.; JUHARI, M.; DAWODI, R.; MARZOUQA, H.; HINDIYEH, M.. Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Hospitalized Patients in Palestine. *Int. J. Microbiol.* 2017 (2006). Hindawi: 8012104. doi:10.1155/2017/8012104.
- MARTINEZ, T.; MARTINEZ, I.; VAZQUEZ, G.J.; AQUINO, E.E.; ROBLEDO, I.E. Genetic Environment of the KPC Gene in *Acinetobacter baumannii* ST2 Clone from Puerto Rico and Genomic Insights into Its Drug Resistance. *J. Med. Microbiol.*, 65(8):784–92,2016. doi:10.1099/jmm.0.000289.
- PELEG, A.Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D.L. A *cinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.*, 21(3):538–82,2008. doi:10.1128/CMR.00058-07.
- PEREZ, F.; ENDIMIANI, A.; RAY, A.J.; DECKER, B.K.; WALLACE, C.J.; HUJER, K.M.; ECKER, D.J. et al. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* across a Hospital System: Impact of Post-Acute Care Facilities on Dissemination. *J. Antimicrob. Chemother.* 65(8):1807–1818,2010. doi:10.1093/jac/dkq191.
- QUEENAN, A.M.; BUSH, K. Carbapenemases: The Versatile Beta-Lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.*,20 (3): 440–458, 2007. doi:10.1128/CMR.00001-07.
- RIBEIRO, P.C.S.; MONTEIRO, A.S.; MARQUES, S.G.; MONTEIRO, S.G.; MONTEIRO-NETO, V.; COQUEIRO, M.M.M.; MARQUES, A.C.G.; TURRI, R.J.G.; SANTOS, S.G.; BOMFIM, M.R.Q. Phenotypic and Molecular Detection of the bla_{KPC} gene in Clinical Isolates from Inpatients at Hospitals in São Luis, MA, Brazil. *BMC Infect. Dis.*, 16 (1):. 1–16. 2016. doi:10.1186/s12879-016-2072-3.
- ROBLEDO, I.E.; AQUINO, E.E.; SANTÉ, M.I.; SANTANA, J.L.; OTERO, D.M.; LEÓN, C.F.; VÁZQUEZ, G.. Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 54(3):1354–1357,2010. doi:10.1128/AAC.00899-09.
- ROBLEDO, I.E.; AQUINO, E.E.; VÁZQUEZ, G.J. Detection of the KPC Gene in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* during a PCR-Based Nosocomial Surveillance Study in Puerto Rico. *Antimicrob. Agents Chemother.*,55(6):2968–2970, 2011. doi:10.1128/AAC.01633-10.
- YIGIT, H.; QUEENAN, A.M.; ANDERSON, G.J.; DOMENECH-SANCHEZ, A.; BIDDLE, J.W.; STEWARD, C.D.; ALBERTI, S.; BUSH, K.; TENOVER, F.C. Novel Carbapenem-Hydrolyzing Beta-Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*,45(4):1151–61,2001. doi:10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001.

Efeitos anti-inflamatório tópico e antinociceptivo do extrato etanólico de *Lychnophora pinaster* (Arnica Brasileira)

Topical anti-inflammatory effect and antinociception of *Lychnophora pinaster* (Brazilian Arnica) ethanolic extract

FERREIRA, S.A.^a; GRABE-GUIMARÃES, A.^b; ASSIS, N.A.^a; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A.^{a,*}

^aLaboratório de Plantas Medicinais, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

^bLaboratório de Farmacologia Experimental, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

***Autor Correspondente:** Dênia Antunes Saúde-Guimarães

Escola de Farmácia, Campus Morro do Cruzeiro, UFOP, Ouro Preto, MG. | Tel.: +55 31 3559 1031 | E-mail: saude@ufop.edu.br

Recebido em 28/12/2018; Aceito em 14/01/2019

Resumo

As espécies do gênero *Lychnophora*, conhecidas no Brasil como arnica, são utilizadas na medicina popular brasileira para tratar inflamação, dor, reumatismo, contusões, hematomas e picadas de insetos. Em estudos prévios o extrato etanólico de *Lychnophora pinaster* apresentou ação anti-inflamatória e antinociceptiva. No presente trabalho, o extrato etanólico das partes aéreas de *L. pinaster* foi submetido a fracionamento cromatográfico em coluna de filtração em sílica gel para obtenção das frações hexânica, diclorometânica, acetato etílico e metanólica. O efeito tópico do extrato etanólico e de suas frações, veiculados em emulgel a 5 %, foi avaliado sobre o edema de pata induzido por carragenina em camundongos Swiss. Os tratamentos com o extrato e suas frações foram capazes de reduzir significativamente o edema, sugerindo a presença de substâncias de polaridade baixa, média e alta atuando em sinergismo para o efeito anti-inflamatório do extrato. A avaliação da atividade antinociceptiva do extrato etanólico e das suas frações foi realizada em camundongos Swiss utilizando dois protocolos *in vivo*, método da placa quente e de contorções induzidas pelo ácido acético. As frações foram administradas, por gavagem, na dose de 100 mg/kg. Indometacina foi utilizada como fármaco de referência para o teste de contorções induzidas por ácido acético e morfina para o teste da placa quente. O extrato etanólico e suas frações mostraram atividade antinociceptiva pelo método de contorções induzidas por ácido acético, o que sugeriu a presença, nesta fração, de compostos com ação em nível periférico, atuando sobre a modulação da liberação de substâncias que induzem a nocicepção. O extrato etanólico e as frações acetato etílico e metanólica demonstraram atividade também pelo método da placa quente, com efeito semelhante ao exercido pela morfina. Este resultado indicou a presença no extrato de substâncias, de polaridade média a alta, que parecem atuar em nível central. Os resultados demonstraram as ações do extrato etanólico da arnica na inflamação e dor e o potencial da espécie *L. pinaster* para o tratamento destas condições. Os terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos, isolados anteriormente de *L. pinaster*, podem ter relação com os efeitos anti-inflamatório e antinociceptivo do extrato etanólico.

Palavras chave: *Lychnophora pinaster*, emulgel, efeito anti-inflamatório, atividade antinociceptiva, contorções induzidas por ácido acético, placa quente.

Abstract

Species of the genus *Lychnophora*, known in Brazil as arnica, are used in Brazilian popular medicine to treat inflammation, rheumatism, bruises and insect bites. Previous studies showed the anti-bacterial and antinociceptive effects of *Lychnophora pinaster* ethanolic extract. In the present work, the ethanolic extract of *L. pinaster* aerial parts was subjected to a chromatographic fractionation in a gel filtration column to obtain hexane, dichloromethane, ethyl acetate and

methanolic fractions. The topical effect of the ethanolic extract and its fractions, into emulgel at 5%, was evaluated on Swiss mice paw oedema induced by carragenin. All treatments with ethanolic extract and its fractions were able to do reduce significantly the oedema, suggesting the presence of substances of low, medium and high polarity acting synergistically to the anti-inflammatory effect of the extract. Evaluation of the antinociceptive activity of ethanolic extract and its fractions were performed in mice, using hot plate and acetic acid induced contortion methods. The extract and its fractions were administered by oral route at 100 mg/kg. Indomethacin was used as reference drug for the contortions induced by acetic acid and morphine for the hot plate test. The ethanolic extract and its fractions presented antinociceptive activity observed by the contortion induced by acetic acid reduction, which suggests the peripheral effect, probably by the release modulation of the substances that induce nociception. The ethanolic extract and fractions of ethyl acetate and methanol showed effect at hot plate method, similarly to morphine. This result indicated the presence of substances of medium to high polarity, acting centrally. The results demonstrated the effects of arnica ethanolic extract to reduce inflammation and pain, as well as their potential to treat these conditions. The terpenes, flavonoids and phenolic acids of *L. pinaster* are maybe responsible for anti-inflammatory and antinociceptive effects of the ethanolic extract.

Key words: *Lychnophora pinaster*, anti-inflammatory effect, antinociceptive activity, edema, acetic acid-induced contortions, hot plate.

INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são plantas utilizadas tradicionalmente com finalidade terapêutica (BRASIL, 2006), com as quais se iniciou a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de doenças (SCHULZ et al., 2002). A partir delas desenvolveu-se a fitoterapia, terapêutica que utiliza estas plantas em suas diferentes formas farmacêuticas, mas sem a utilização de substâncias ativas isoladas, mesmo que essas sejam de origem vegetal (BRASIL, 2006).

O Brasil é detentor de uma enorme biodiversidade e, portanto, possui grande potencial de desenvolvimento de fitoterápicos. No entanto, a maior parte dos extratos vegetais que originam os fitoterápicos brasileiros ainda são provenientes da Europa e da Ásia (ANVISA, 2015).

A espécie *Lychnophora pinaster* Mart., conhecida popularmente como "arnica", "arnica da serra", "arnica brasileira", "arnica mineira" ou "candeia", começou a ser usada no século XVIII pelos imigrantes italianos, em substituição à variedade europeia (*Arnica Montana* L.), aqui inexistente (CERQUEIRA et al., 1987). Talvez devido à semelhança dos efeitos clínicos entre a *L.*

pinaster e a *Arnica montana*, estas sejam conhecidas vulgarmente por arnica.

A arnica brasileira, *L. pinaster* é uma espécie que apresenta diversas propriedades medicinais e crescimento arbustivo. Possui alto espectro farmacológico, apresentando atividades tripanossomicida (OLIVEIRA et al., 1996), anti-inflamatória, antinociceptiva (GUZZO et al., 2008), antimicrobiana (FARIA et al., 2009), inibidora da xantina oxidase (FERRAZ-FILHA et al., 2006), cicatrizante (BARBOSA et al., 2010), além dos usos populares em casos de inflamação, dor, reumatismo, contusões, inchaços, hematomas e traumatismos (CERQUEIRA et al., 1987, SAÚDE et al., 1998, RODRIGUES et al., 2001).

A inflamação é um mecanismo biológico que protege o corpo de possíveis danos causados por infecção ou lesão. Uma resposta inflamatória eficaz envolve o sistema imunológico e vascular e o tecido (TAAMS, 2018). O processo inflamatório é caracterizado pela liberação sequencial de vários mediadores, incluindo; aminas bioativas, eicosanóides, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que regulam o aumento da permeabilidade vascular e o recrutamento de leucócitos do sangue para o local do processo



inflamatório (BENEDEK et al., 2007; RODRIGUEZ-VITA and LAWRENCE, 2010;). Neutrófilos, monócitos e macrófagos estão entre as principais células que atuam na resposta inflamatória, sendo as principais fontes de mediadores pró-inflamatórios incluindo a ativação e a indução da expressão de enzimas, a produção do fator de necrose tumoral tipo alfa (TNF- α) e interleucinas (ILs). Entre as citocinas que são produzidas durante o processo inflamatório, o TNF- α juntamente com IL-1, IL-6 e IL-8 desempenham funções essenciais na amplificação da resposta inflamatória (BENEDEK et al., 2007). A inflamação também está envolvida em muitas doenças crônicas tais como as diferentes artrites inflamatórias, incluindo a gota, doença de Alzheimer, doenças cardiovasculares, doenças autoimunes e câncer (TAAMS, 2018). Assim, anti-inflamatórios são atualmente usados no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, apesar dos seus efeitos adversos.

Os anti-inflamatórios esteroidais e os não-esteroidais (AINES) são utilizados com a finalidade de conter e reverter o processo inflamatório seja ele local ou sistêmico (MENDES, 2001). Devido a esta toxicidade, podem ser usados durante curtos períodos, exceto nos casos muito sérios onde os riscos são aceitáveis. O uso prolongado de AINES está associado a efeitos adversos severos, tais como a hemorragia gastrointestinal (ROBERT et al., 1979; MILLER, 1983), reações cutâneas, efeitos renais adversos, distúrbios da medula óssea e distúrbios hepáticos (CRONSTEIN and TERKELTAUB, 2006). Nem os inibidores seletivos da ciclooxigenase-2 (COX-2) parecem estar livres de riscos (MARTIN ARIAS et al., 2019). Conseqüentemente, há uma necessidade de desenvolver novos agentes anti-inflamatórios com efeitos adversos mínimos (VANE and BOTTING, 1987).

Segundo a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED, 2009), a sua incidência de forma persistente chega a 40% dos indivíduos no mundo e 50% já apresentaram algum tipo de

comprometimento de suas atividades rotineiras, afetando consideravelmente sua qualidade de vida. Nocicepção é um termo aplicado aos mecanismos neurológicos que detectam um estímulo lesivo (FERREIRA, 2002). Uma vez que os animais não são capazes de verbalizar os componentes subjetivos da dor, neles não se avalia dor, mas nocicepção. Sendo assim, termos como dor e analgesia são mais adotados para humanos e nocicepção e antinocicepção para animais (JONES, 1992).

O arsenal farmacológico para o tratamento da dor é composto, basicamente, por dois grandes grupos de drogas analgésicas: os opióides, que abolem diretamente a transmissão nociceptiva no sistema nervoso central pela ligação em receptores opióides (HOSKIN & HANKS, 1991; ZADINA *et al.*, 1997), e drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINES) que previnem a sensibilização de receptores periféricos e centrais da dor inibindo a ciclooxigenase (CASHMAN, 1996).

Analgésicos opióides como a morfina, papaverina e codeína são indicados no tratamento de dores agudas, moderadas ou intensas, que não respondem a analgésicos menos potentes. Embora os opióides sejam muito efetivos, sua utilização é limitada pelo fato desses fármacos apresentarem muitos efeitos indesejados, como a constipação, náuseas, vômitos, broncoconstrição, hipotensão, bradicardia e depressão respiratória (MCQUEEN, 1983; HOSKIN and HANKS, 1991; BRUNTON, 2012).

A busca por novos analgésicos e anti-inflamatórios se faz necessária. E o estudo de plantas usadas como analgésicas e anti-inflamatórias é um caminho lógico e promissor para a pesquisa de novas substâncias (NEWMAN and CRAGG, 2016). Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos anti-inflamatório tópico e antinociceptivo do extrato etanólico e das frações de *L. pinaster* em modelos experimentais in vivo em camundongos.

METODOLOGIA

Material Vegetal

As partes aéreas de *Lychnophora pinaster* Mart. foram coletadas em março de 2007, nos campos rupestres do município de Itabirito (MG), sob autorização do IBAMA. O material botânico foi identificado pelo Dr. Júlio Antônio Lombardi (UFMG). As exsicatas foram depositadas no Herbarium do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB/UFMG) e catalogadas com o número de registro 19.520.

As partes aéreas frescas foram deixadas em estufa ventilada, a 40° C, até a completa secagem. Posteriormente, o material vegetal foi pulverizado em moinho de facas, pesado e armazenado.

Obtenção do extrato etanólico

O material vegetal seco e triturado (2.139,0 g) foi percolado com etanol (PA) até o seu esgotamento. O solvente extrator foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo à temperatura não superior a 40° C para a obtenção do extrato etanólico bruto. Este extrato foi mantido sob vácuo até completa eliminação do solvente e denominado LPiEEB.

Fracionamento cromatográfico de LPiEEB

O extrato etanólico bruto (LPiEEB 62,0 g) foi submetido a cromatografia em coluna de filtração em sílica gel utilizando-se coluna cromatográfica aberta (6,5 cm de diâmetro) e como eluentes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. Foram obtidas quatro frações: hexânica (LPiH; 0,6 g), diclorometânica (LPiD; 9,4 g), acetato etílica (LPiAcOEt; 26,0 g) e metanólica (LPiMeOH; 26,0 g).

Avaliação dos efeitos farmacológicos

Animais

Para os estudos das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva foram utilizados camundongos *Swiss*

machos (30 ± 5 g, n = 8 por grupo) fornecidos pelo Centro de Criação Animal (CCA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Estes animais foram mantidos em gaiolas em grupos de cinco, em sala com temperatura (22 ± 2° C) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas) controladas e com ração e água "ad libitum". Para os experimentos na qual a administração por via oral das soluções dos extratos foi realizada por gavagem, os animais foram mantidos em jejum doze horas antes do início dos experimentos com água "ad libitum". Os protocolos experimentais foram submetidos ao Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) da UFOP (protocolo nº 06/2009).

Avaliação da atividade anti-inflamatória

Preparo das soluções do extrato etanólico e frações

Para a avaliação da atividade anti-inflamatória o extrato etanólico (LPiEEB) e suas frações LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH foram solubilizados em glicerina e etanol (PA) na proporção de 1:1 obtendo-se a concentração de 333 mg/ml.

Preparo do emulgel

Para a avaliação do efeito anti-inflamatório do extrato etanólico e frações de *L. pinaster* aplicados topicamente, foi utilizado uma formulação emulgel. Esta formulação foi preparada com a seguinte composição:

| | |
|--|-------------|
| Polawax..... | 4% |
| Natrozol..... | 7% |
| Propilenoglicol..... | 2% |
| Coco caprilato caprato..... | 3% |
| Parafinalíquida (óleomineral)..... | 2% |
| Álcoolestearílico..... | 4% |
| Trietanolamina..... | q.s. |
| Solução conservante Nipagin/Nipazol..... | 2% |
| Água destilada..... | q.s.p. 100g |



Os componentes das fases oleosa e aquosa foram aquecidos, separadamente, em banho-maria. Após a fusão completa dos componentes da fase oleosa e o aquecimento da fase aquosa à 60°C, verteu-se a fase aquosa na oleosa e a mistura foi levada a um agitador mecânico a 500 rpm. Após o resfriamento até 40°C foi adicionado a trietanolamina. O peso foi então completado com água destilada. O extrato etanólico bruto e suas frações, na concentração de 333 mg/ml, foram incorporados em emulgel para concentrações finais de 1% e 5%.

Edema de pata induzido por carragenina

Para a avaliação da atividade anti-inflamatória foi empregado o método de edema de pata induzido pela carragenina descrito por WINTER e colaboradores (1962) com modificações. Antes de qualquer tratamento, as patas posteriores (direita e esquerda) dos animais foram mensuradas utilizando-se um paquímetro colocado da região dorsal à plantar medial de cada pata, método validado por GUZZO (2007). Um volume de 0,02 ml de carragenina (0,1% em salina 0,9%) foi aplicado na região plantar medial da pata direita posterior dos camundongos e a pata esquerda foi submetida apenas a introdução da agulha (injeção fictícia).

O extrato etanólico de partes aéreas de *L. pinaster* (LPiEEB) e suas frações (LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH) incorporados em emulgel (0,4 g) foram administrados topicamente, logo após a injeção de carragenina ou a introdução da agulha nas patas dos animais. Dois grupos receberam medicamento padrão que apresentam o efeito anti-inflamatório tópico, a saber o diclofenaco de dietilamônio – 11,6 mg/g (Cataflam Emulgel®, Novartis) e o diclofenaco de dietilamônio (obtido da Farmácia de Manipulação Aviar – Mariana, MG) incorporado na mesma concentração no emulgel preparado (11,6 mg/g). O emulgel base sem princípio ativo, foi usado como controle do edema inflamatório induzido pela carragenina.

Para garantir o contato da formulação com o local do edema inflamatório, foram utilizados curativos de gaze e esparadrapo do tipo micropore que impediram que os animais retirassem a formulação. Após a administração da carragenina e das formulações, os animais foram mantidos em gaiolas individuais durante três horas. Após este período, correspondente ao pico máximo de formação do edema, as espessuras das patas foram novamente mensuradas. A variação da espessura da pata (edema formado) foi expressa percentualmente e calculada entre o tempo zero e três horas após a administração da carragenina.

Avaliação da atividade antinociceptiva

Preparo das soluções do extrato etanólico e frações

Para a avaliação da atividade antinociceptiva, LPiEEB e as frações LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH foram solubilizados em DMSO, Tween 80 e água destilada na proporção de 1:1:8 e soluções foram preparadas na concentração de 10 mg/ml.

Método da placa quente

Para avaliar a atividade antinociceptiva (tempo de latência para a resposta nociceptiva) foi utilizado o método descrito por EDDY and LEIMBACK (1953), com modificações. Os animais do grupo controle receberam apenas o veículo DMSO:Tween 80: água destilada (1:1:8). Os animais dos grupos tratados receberam, por via oral por gavagem, soluções de LPiEEB ou das frações (LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH) na dose de 100 mg/kg ou o fármaco padrão morfina 10 mg/kg (1 mg/ml), por via intraperitoneal (i.p.), em solução aquosa de NaCl 0,9 %. Todos os tratamentos foram administrados 30 minutos antes da exposição à placa aquecida.

Os animais foram colocados individualmente sobre a placa aquecida por um banho-Maria a 55±1°C, tendo como meio de contenção um funil de vidro. O



tempo para que os animais apresentassem o reflexo de lambar a pata traseira foi registrado antes e 30, 60, 90 e 120 min após a administração oral do veículo, soluções do extrato, frações ou fármaco de referência. O tempo de reação do animal foi registrado com auxílio de um cronômetro e o tempo máximo de permanência do animal sobre a placa foi estimado em 45 segundos para evitar danos ao mesmo. O efeito antinociceptivo, definido como aumento do tempo de reação, foi calculado como a variação dos resultados obtidos antes e após a administração das soluções.

Método de contorções induzidas pelo ácido acético

Para avaliar a atividade antinociceptiva foi utilizado também o método descrito por KOSTER e colaboradores (1959), com modificações. O ácido acético administrado por via i.p. produz contração do músculo abdominal juntamente com estiramento das patas posteriores do animal. O número de contorções foi o parâmetro avaliado.

Os animais do grupo controle receberam apenas o veículo DMSO:Tween 80: água destilada (1:1:8). Os animais dos grupos tratados receberam, por via oral por gavagem, o extrato LPIIEB ou as soluções preparadas a partir das frações (LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH), na dose de 100 mg/kg, ou os fármacos padrão dipirona 200 mg/kg (25 mg/ml em água destilada), ou indometacina 10 mg/kg (1 mg/ml em água destilada e 0,5% de Tween 80). Todos os tratamentos foram administrados 30 minutos antes da administração i.p. do ácido acético 0,8% v/v (10 ml/kg).

As contorções foram contadas por 30 minutos, em períodos de 5 minutos, iniciando logo após a administração do ácido acético. A redução significativa do número de contorções comparada ao grupo controle foi considerada resposta antinociceptiva positiva.

Análise estatística

Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (e.p.m.) com $n \geq 6$ para cada grupo experimental. Os resultados foram submetidos à análise de variância (One-way ANOVA) seguida do teste de *Dunnet* para determinação de diferenças em relação aos grupos controle e tratamentos padrões. Para todas as análises foi adotado intervalo de confiança de 95%, sendo que as diferenças foram consideradas significativas quando o valor de *P* foi menor ou igual a 0,05 ($P \leq 0,05$). Todas as análises estatísticas utilizaram o Software GrafPad Prisma 5.0.

RESULTADOS

Avaliação da atividade anti-inflamatória

Na Tabela 1 estão apresentados os dados do edema de pata induzido por carragenina seguido dos tratamentos tópicos padrões com o Cataflam Emulgel® ou diclofenaco de dietilamônio incorporado em emulgel, e os tratamentos com LPIIEB, LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH em emulgel sobre a espessura da pata dos camundongos.

A injeção de carragenina induz ao aumento agudo e progressivo do volume da pata dos animais. Este edema, que é proporcional à intensidade da resposta inflamatória, constitui-se em parâmetro útil na avaliação da atividade anti-inflamatória (PEREIRA et al., 2006). Os animais do grupo tratado apenas com emulgel base apresentaram aumento significativo na espessura da pata e aqueles do grupo submetidos a injeção fictícia não tiveram aumento significativo no volume da pata, indicando que o método foi eficiente.

Os tratamentos com os medicamentos padrões (diclofenaco), o extrato LPIIEB e as frações LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH, veiculados em emulgel a 5 %, foram capazes de reduzir o edema na terceira hora após a sua indução.

Avaliação da atividade antinociceptiva



Tabela 1 - Variação percentual (%) da espessura das patas dos animais após injeção de carragenina ou introdução da agulha na pata seguido do tratamento tópico com emulgel.

| Tratamento tópico | Variação da espessura das patas (%) |
|----------------------------|-------------------------------------|
| Injeção Fictícia | 3,10 ± 0,59* |
| Emulgel base (edema total) | 36,13 ± 1,08# |
| Diclofenaco (Cataflam®) | 6,92 ± 0,51* |
| Diclofenaco (manipulado) | 5,18 ± 1,02* |
| LPiEEB (5%) | 12,35 ± 2,24* |
| LPiH (5%) | 10,61 ± 1,53* |
| LPiD (5%) | 9,77 ± 1,28* |
| LPiAcOEt (5%) | 17,78 ± 1,79* |
| LPiMeOH (5%) | 7,63 ± 0,79* |

Os valores representam a média ± e.p.m. em %. As medidas foram realizadas antes e 3 h depois da administração da carragenina (0,1%) em camundongos. $P < 0,05$ ANOVA seguido do teste *Dunnnett*: *comparado ao grupo carragenina e tratamento com emulgel base e #comparado ao grupo injeção fictícia sem tratamento.

O presente estudo avaliou a atividade antinociceptiva do extrato etanólico e das diferentes frações em dois modelos experimentais, utilizando os métodos da placa quente e das contorções induzidas por ácido acético para a descrição das atividades central e periférica, respectivamente (VERMA et al., 2005). O baixo rendimento da fração LPiH não possibilitou a avaliação de sua atividade antinociceptiva por nenhum dos métodos usados.

A Figura 1 mostra os dados do tempo que os animais levaram para reagir ao estímulo do calor imposto pela placa quente. Foi observado que no tempo de 30 minutos, o animais que receberam o extrato LPiEEB (5,6 ± 1,5 s) e a fração LPiMeOH (5,9 ± 1,3 s), na dose de 100 mg/kg, apresentaram efeito significativo quando comparados ao grupo controle não tratado (1,2 ± 0,4 s), resposta semelhante à morfina (6,3 ± 1,8 s). Este efeito foi de duração rápida, pois não foi observado nos tempos subsequentes, sendo que nos tempos

de 1 hora e 1,5 horas o extrato e as frações não apresentaram atividade significativa. No tempo de 2 horas após o tratamento, os animais tratados com a fração LPiAcOEt (12,1 ± 3,6 s) apresentaram efeito significativo no tempo de latência em reação ao calor, quando comparado ao controle (2,8 ± 1,0 s), e sua atividade também foi similar ao fármaco padrão (12,4 ± 2,0 s).

A Figura 2 apresenta os resultados encontrados para o extrato etanólico de *L. pinaster* e as frações avaliadas no método das contorções induzidas por ácido acético. Tanto o extrato como as frações inibiram significativamente as contorções nos animais tratados quando comparados ao grupo controle não tratado.

DISCUSSÃO

A população brasileira, principalmente dos Estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia, onde as arnicas são nativas, utilizam as partes aéreas de *L. pinaster* maceradas em álcool etílico para o tratamento tópico de inflamação, dor, reumatismos, traumatismos, contusões e picadas de insetos (CERQUEIRA et al., 1987, SAÚDE et al., 1998, RODRIGUES et al., 2001). Assim, a via tópica foi escolhida para avaliar a atividade anti-inflamatória *in vivo* do extrato etanólico (LPiEEB) e de suas frações veiculadas em emulgel na concentração de 5%.

A administração tópica representa uma via alternativa da administração oral e intravenosa de ativos medicamentosos e oferece muitas vantagens como ausência de efeito de primeira passagem, liberação contínua da droga, diminuição dos efeitos adversos e melhor aceitação do paciente (GUY et al., 1987; GWAK and CHUN, 2002).

O modelo de inflamação usado neste trabalho envolve a liberação de vários mediadores que induzem a reação inflamatória em fases distintas (VINEGAR et al., 1969; DI ROSA et al., 1971a, 1971b, DI ROSA, 1972; HENRIQUES et al., 1987; SÜLEYMAN

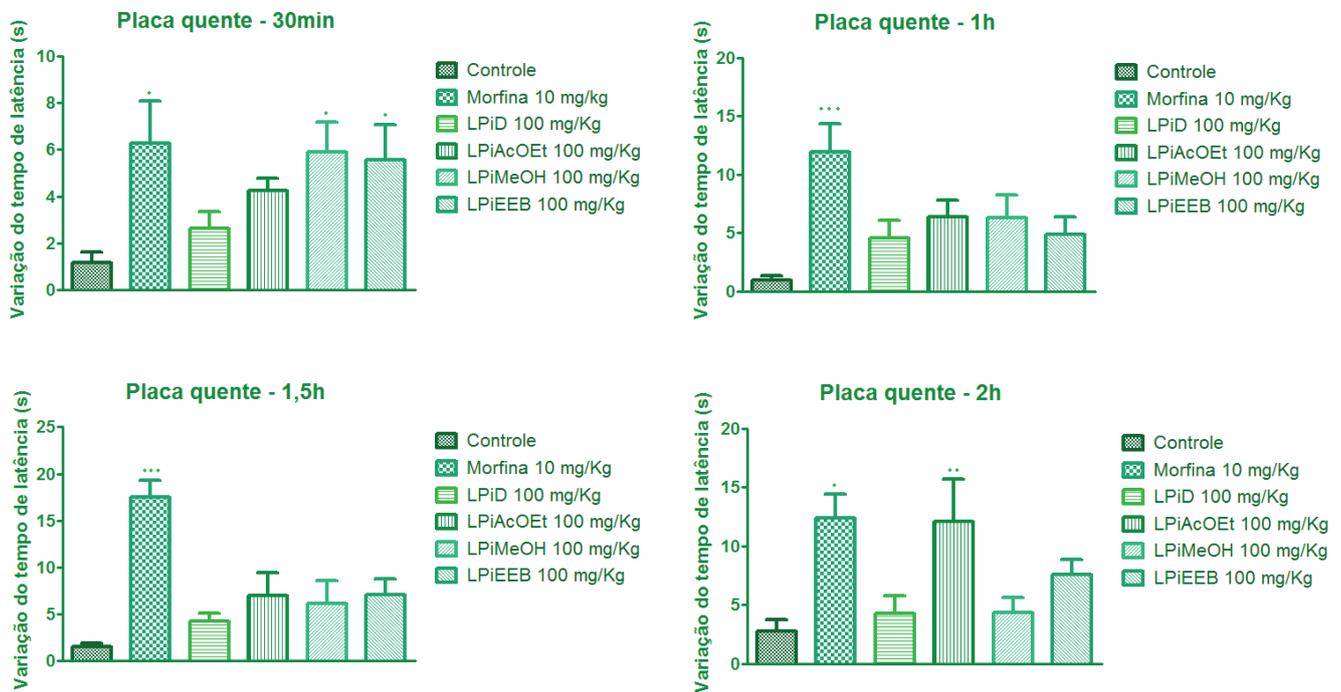


Figura 1: Efeito do extrato etanólico de *Lychnophora pinaster* (LPiEEB) e das suas frações diclorometânica (LPiD), acetato etílica (LPiAcOEt) e metanólica (LPiMeOH), na dose de 100 mg/kg, sobre a variação do tempo gasto para que os camundongos lambessem a pata ou pulassem da placa aquecida, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração dos tratamentos e do veículo. Os valores representam a média \pm e.p.m. * $P \leq 0,05$ comparado ao grupo controle. ANOVA seguido de teste de *Dunnett*.

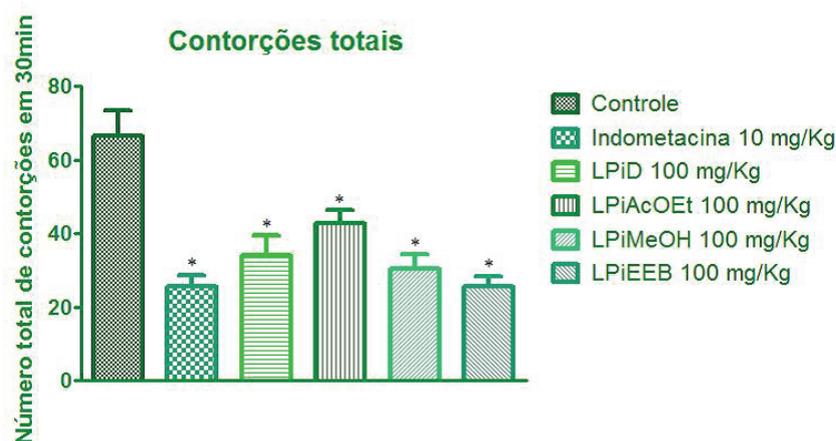


Figura 2: Efeito do extrato etanólico de *Lychnophora pinaster* (LPiEEB) e das suas frações diclorometânica (LPiD), acetato etílica (LPiAcOEt) e metanólica (LPiMeOH) sobre o número total de contorções induzidas pelo ácido acético em camundongos em 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. (n=8 por grupo). * $P \leq 0,05$ comparado ao grupo controle. ANOVA seguido de teste de *Dunnett*.



& BÜYÜKOKUROĞLU, 2001; MORRIS, 2003). Durante a primeira hora, o edema de pata induzido por carragenina está relacionado ao trauma da injeção. Na fase inicial (60 - 90 min) ocorre a liberação de histamina e serotonina. A fase intermediária (aumento da permeabilidade vascular) é mantida por cininas (principalmente a bradicinina produzida pela calicreína) de 90 - 150 minutos. A fase final (150 min - 6h) está correlacionada à elevada produção de prostaglandinas, produtos da ciclooxigenase, na resposta inflamatória (RONALD and CHRISTOPHER, 1990), principalmente da ciclooxigenase-2 (Cox-2) (SEIBERT et al., 1994). Nesta última fase da reação inflamatória as prostaglandinas desempenham ação principal caracterizada por hiperalgesia, migração de leucócitos e edema pronunciado, com pico entre a terceira e quarta hora (HENRIQUES et al., 1987). As cininas e as prostaglandinas são apontadas como as principais substâncias desencadeantes deste edema (VANE and BOLTING, 1995).

O diclofenaco é um anti-inflamatório não-esteroidal com baixa seletividade para a COX-2 (CRYER & FELDMAN, 1998), classicamente utilizado em modelos animais da inflamação (SÜMEN et al., 2001). No edema induzido por carragenina, a COX-1 predomina nas primeiras duas horas seguido do predomínio da COX-2 na terceira hora do estímulo (SEIBERT et al., 1994; TORIYABE et al., 2004). O diclofenaco afeta indistintamente, ambas as isoformas de COX sendo mais eficiente na modulação do edema inflamatório quando comparado às drogas seletivas da COX-2 (CAVALCANTE, 2007). Por ser um inibidor da COX, conseqüentemente, reduz a produção de PGs evitando a potencialização exercida pelo efeito vasodilatador destes mediadores lipídicos reduzindo, assim, o edema inflamatório (TULUNAY, 2000).

Baseado no exposto acima, o extrato etanólico de *L. pinaster* e suas frações parecem exercer o efeito antiedematogênico pela atuação sobre a produção de prostaglandinas por meio da inibição das enzimas

responsáveis pela produção das mesmas.

Das folhas, caule e flores de *L. pinaster* foram isolados hidrocarbonetos saturados, os ácidos isoclorogênico, clorogênico, caféico, cinâmico, os flavonoides quercetina, rutina, isovitexina, vitexina e pinobanksina, os terpenos ácido *E*-licnofórico, 15-desoxigoiazensolida, lupeol, misturas de α e β amirinas e friedelina, 3-*O*-acetil-lupeol, 3-*O*-acetil-pseudotaraxasterol, 3-*O*-acetil- α -amirina, 3- β -*O*-Ac, Δ^7 -baurenila e 4,4-dimetil-cholesta-22-24-dien-5-ol e os esteroides estigmasterol e β -sitosterol (ALCÂNTARA et al., 2005; SILVEIRA et al., 2005; FERREIRA et al., 2005; KELES et al., 2010; ABREU et al., 2011).

Os terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos possuem comprovado efeito anti-inflamatório e podem contribuir para a atividade antiedematogênica apresentada pelo extrato etanólico.

Em animais, a resposta nociceptiva pode ser detectada por meio de uma reação de fuga ao estímulo nocivo. Além disto, manifestações fisiológicas de nocicepção medular ou supramedular podem ser utilizadas na avaliação de possíveis efeitos analgésicos de drogas e seus mecanismos de ação, bem como no entendimento do processo doloroso (ZIMMERMANN, 1983).

A escolha do método mais apropriado para avaliação da resposta nociceptiva é fundamental para a correta interpretação e estudo dos mecanismos envolvidos na transmissão da resposta dolorosa e dos agentes que interferem nestas vias. As características desejáveis de um método de avaliação incluem a reprodutibilidade além de não ser invasivo e permitir a quantificação do fenômeno (LE BARS et al., 2001).

Em geral, os testes algésimétricos inflamatórios são baseados na análise de respostas comportamentais desencadeadas diretamente por um processo inflamatório, como os modelos de contorção abdominal e incapacitação articular, ou que são deflagradas indiretamente por um estímulo exógeno



primário ou associado ao processo inflamatório como os testes de retirada da pata evocada por pressão ou calor (LAVICH et al., 2005).

O modelo da placa quente é um dos testes termoalgesimétricos comumente utilizados para investigação de nocicepção e analgesia em roedores. Este método foi originalmente descrito por Woolfe & Macdonald (1944). Posteriormente, foram propostas adaptações ao teste visando uniformizar e aumentar sua reprodutibilidade (EDDY and LEIMBACH, 1953). Estes autores propuseram que fossem utilizadas temperaturas entre 50 e 55° C, caracterizando melhor a resposta observada. A técnica consiste no registro temporal do início da resposta nociceptiva dos animais colocados sobre uma superfície com temperatura constante. Decorridos alguns segundos o estímulo térmico se torna aversivo e os animais reagem com um padrão consistente de comportamento. As respostas observadas incluem salto, pontapés, sapateio, sacudida da pata, lambida ou até mesmo a contenção da pata junto ao corpo. A observação de um destes comportamentos determina o final do teste. Parte da confiabilidade deste teste reside no fato de que estes comportamentos raramente são manifestados pelo animal na ausência do estímulo térmico (EDDY et al., 1950). Este teste é capaz de detectar e quantificar os efeitos analgésicos de drogas que atuam no sistema opioidérgico e as que previnem a sensibilização de nociceptores, tais como a morfina e AINEs (paracetamol e ácido acetilsalisílico).

O método de contorções induzidas por ácido acético envolve uma resposta à administração intraperitoneal desse agente nocivo, que consiste em uma onda de constrição e alongação que passa pela parede abdominal, algumas vezes acompanhada pela torção do tronco e seguida de uma extensão das patas traseiras, essa resposta foi denominada contorção abdominal (COLLIER et al., 1968).

Segundo alguns autores o efeito nociceptivo resulta

de um mecanismo envolvendo eicosanóides e aminas simpaticomiméticas (SANTOS et al., 1988). Um estudo mais aprofundado levou à demonstração de que essa ação se deve a um efeito sinérgico das citocinas TNF- α , interleucina 1 β e interleucina 8, que são produzidas por macrófagos peritoneais e mastócitos (RIBEIRO et al., 2000).

A indometacina é considerada o melhor fármaco para supressão das contorções induzidas por acetilcolina em camundongos (COLLIER et al., 1968), que possui características semelhantes ao ácido acético, no que diz respeito à geração da contorção. Por isso esse fármaco foi utilizado como referência neste teste. Esse método é considerado de triagem, uma vez que é bastante inespecífico, e permite detecção de substâncias com atividade antinociceptiva, principalmente, periférica.

Todas as frações avaliadas e o extrato etanólico apresentaram atividade significativa em relação ao controle, possuindo ação semelhante à do fármaco padrão, indometacina, e indicando um efeito antinociceptivo periférico. Um provável mecanismo para a ação antinociceptiva seria a redução da liberação de substâncias endógenas que se relacionam com o processo da dor e que são avaliadas por esse método. Que pode ocorrer devido às muitas substâncias isoladas de *L. pinaster*, terpenos (CHATURVEDI, 2011), flavonoides e ácidos fenólicos (KASSIM et al., 2010), que possuem comprovada atividade anti-inflamatória via moderação da liberação de mediadores químicos que induzem a nocicepção.

No método da placa quente o calor induz a nocicepção, que ocorre por uma interação entre as fibras C, que apresentam terminações termoceptivas e as fibras A δ , que induzem o reflexo de retirada da pata pela ativação das mesmas terminações (TAVARES, 2008).

Apesar de diversos fármacos, como sedativos e relaxantes musculares, atuarem em nível central (VAZ et al., 1996), a indometacina não apresenta atividade



nesse método (SANTOS et al., 1998), que é comumente utilizado para avaliação de analgésicos narcóticos. Por isso, o fármaco referência utilizado foi a morfina, um narcótico opióide que apresenta atividade nesse teste. A variação do tempo para que os animais apresentassem o reflexo de lamber a pata traseira ou pulassem da placa foi o parâmetro considerado neste ensaio. Como foram feitas medições aos 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração das soluções analisadas, há possibilidade de comparar o tempo de ação das diferentes frações, quando essa for significativa.

O arsenal farmacológico para o tratamento da dor é composto, basicamente, por dois grandes grupos de drogas analgésicas: os opióides, que atuam diretamente na transmissão nociceptiva do sistema nervoso central pela ligação aos receptores opióides (HOSKIN and HANKS, 1991; ZADINA et al., 1997), e drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINES) que previnem a sensibilização de receptores periféricos e centrais da dor inibindo a ciclooxigenase (CASHMAN, 1996).

Os opióides e as drogas anti-inflamatórias não-esteroidais, não são adequados a todos os pacientes e em todos os casos. Particularmente é na dor crônica, onde se observa suas limitações, como por exemplo, nos numerosos efeitos adversos, incluindo propensão à tolerância. Dessa forma, a pesquisa visando à descoberta de outras terapias alternativas se faz necessária. As plantas medicinais são conhecidas por serem importante fonte de novas substâncias químicas com potenciais efeitos terapêuticos. A pesquisa com plantas utilizadas tradicionalmente pela população no alívio de dores desempenha papel estratégico na busca de novas drogas analgésicas (VONGTAU et al., 2004).

Da arnica *L. pinaster* já foram isolados os flavonoides quercetina, rutina, isovitexina, vitexina e pinobanksina e os ácidos isoclorogênico, clorogênico e caféico (ALCÂNTARA et al., 2005; SILVEIRA et al., 2005.; FERREIRA

et al., 2005; KELES et al., 2010; ABREU et al., 2011). Estas substâncias possuem relativa polaridade, podendo estar presentes nas frações mais polares, o que sugere que essas substâncias possam estar envolvidas na atividade antinociceptiva promovida por LPiAcOEt e LPiMeOH. Além da atividade periférica, apresentam a ação analgésica em nível central, já que as frações apresentaram resultados pelos dois métodos. Nesse sentido, outro estudo também demonstrou que a quercetina induz atividade antinociceptiva pela modulação de vias adrenérgicas (KAUR, 2005).

CONCLUSÕES

Os resultados encontrados confirmam as ações do extrato etanólico de *L. pinaster* sobre a inflamação e dor e que estas atividades podem estar relacionadas com mediadores da inflamação envolvidos na nocicepção e enzimas responsáveis pela produção de prostaglandinas responsáveis por indução de inflamação. Os terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos podem estar relacionados com o efeito anti-inflamatório produzido pelo extrato etanólico e os flavonoides e ácidos fenólicos podem contribuir para o efeito antinociceptivo do extrato etanólico de *L. pinaster*.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não possuir nenhum conflito de interesse.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG (APQ-01355-08) pelo apoio financeiro, ao CNPq e UFOP pelas bolsas de iniciação científica de Nayara Assis e à CAPES pela bolsa de mestrado concedida a Simone Ferreira.

REFERÊNCIAS

ABREU, V G. C.; TAKAHASHI J. A.; DUARTE, L. P.; PILÓ-VELOSO, D.; POLICARPO, A. S.; ALVES, O. R.; ROMANHA, A. J.; ALCÂNTARA, A. F. C. Evaluation of the bactericidal and



trypanocidal activities of triterpenes isolated from the leaves, stems, and flowers of *Lychnophora pinaster*. Rev. Bras. Farm. 21:615-621, 2011.

ALCÂNTARA, A.F.C.; SILVEIRA, D.; CHIARI E.; OLIVEIRA A. B.; GUIMARÃES J. E.; RASLAN D. S. Comparative analysis of the trypanocidal activity and chemical properties of *E*-lychnophoric acid and its derivatives using theoretical calculations. Eclat. Quím. 30 (3):37-45, 2005.

ANVISA http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpX9qY7FbU/rss?p_p_cacheability=cacheLevelFull, acesso em 12 de dezembro de 2018.

BARBOSA, L.C.O.; RASCADO, M. R.; MARCENES, C. F.; FERREIRA, J. V.; SOUZA, M. R.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; GRABE-GUIMARÃES, A.; SILVA-BARCELLOS, N.M. Healing activity of *Lychnophora* species (Arnica) in gel pharmaceutical form. In: XXI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, 2010, João Pessoa -PB. Anais do XXI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Vol. 1, 2010

BENEDEK, B.; KOPP, B.; MELZIG, M.F. *Achillea millefolium* L. S.I. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition. J. Ethnopharmacol., 113:312-317, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p

BRUNTON, L.L. GOODMAN & GILMAN: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 12ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.

CASHMAN, J. N. The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia. Drugs, 52 (5): 13-23, 1996.

CAVALCANTE, D. S. O aumento da seletividade COX-2 influencia na modulação do edema de pata de rato induzido por carragenina? Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 45 f, 2007.

CERQUEIRA, M.B.S.; SOUZA, J.T.; JÚNIOR, R.A.; PEIXOTO, A.B.F. Ação analgésica do extrato bruto aquoso liofilizado do caule e folhas de *Lychnophora ericoides* Mart. *Ciência e Cultura*, 39: 551-553, 1987.

CHATURVEDI, D. Sesquiterpene lactones: Structural diversity and their biological activities. In: CHATURVEDI, D. Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry. Kerala, India. p. 313-334. ISBN: 978-81-308-0448-4, 2011.

COLLIER, H.O.J.; DINNEEN, L.C.; JOHNSON, C.A.;

SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br. J. Pharmacol. Chemother., 32:295-310, 1968.

CRONSTEIN, B. N.; TERKELTAUB, R. The inflammatory process of gout and its treatment. Arthritis Res. Ther., 8: 1-7, 2006.

CRYER, B.; FELDMAN, M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am. J. Med., 104(5):413-421, 1998.

DI ROSA, M.; GIROUD, J.P.; WILLOUGHBY, D. A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. Am. J. Pathol., 104(1): 15-29, 1971a.

DI ROSA, M.; WILLOUGHBY, D. A. Screens for anti-inflammatory drugs. J. Pharm. Pharmacol., 23(4): 297-298, 1971b.

DI ROSA, M. Biological properties of carrageenan. J. Pharm. Pharmacol., 24(2): 89-102, 1972.

EDDY, N. B.; TOUCHBERRY, C. F.; LIEBERMAN, J. E. Synthetic analgesics I. Methadone isomers and derivatives. J. Pharmacol. Exp. Ther., 98(2): 121-137, 1950.

EDDY, N. B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. J. Pharmacol. Exp. Ther., 107:385-393, 1953.

FARIA, I.J.S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; SOUZA, J. Estudos comparativos entre a atividade antimicrobiana de extratos de espécies do gênero *Lychnophora* e a própolis. In: XVII Seminário de Iniciação Científica da UFOP, Ouro Preto. Anais do XVII Seminário de Iniciação Científica da UFOP, Vol. 1. p. 1-1. 2009

FERRAZ FILHA, Z.S.; VITOLO, I.F.; FIETTO, L.G.; LOMBARDI, J.A.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A. Xanthine oxidase inhibitory activity of *Lychnophora* species from Brazil. J. Ethnopharmacol., 107 (1):79-82, 2006.

FERREIRA, S. H. Entre a compreensão e a confusão: alodínia e hiperalgisia. Dor on line Disponível em <<http://www.dol.inf.br/html/EditoriaisAnteriores/Editorial31.html>> 2002. Acesso em 02 de outubro de 2009.

FERREIRA, A.A.; AZEVEDO, A.O.; SILVEIRA, D.; OLIVEIRA, P.M.; CASTRO, M.S.; RASLAN, D.S. 2005. Constituents of *Lychnophora pinaster* hydroalcoholic extract. Chem. Nat. Compd. 41, 466-466.

GUY R.H.; HADGRAFT J.; BUCKS D.A. Transdermal drug delivery and cutaneous metabolism. Xenobiotica, 17(3):325-43, 1987.



- GUZZO, L. S. Avaliação de atividades farmacológicas de diferentes espécies de *Lychnophora* utilizadas pela população. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 99 f, 2007.
- GUZZO, L. S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; SILVA, A.C.A.; LOMBARDI, J. A.; GUIMARÃES, A. G. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic extracts of *Lychnophora* species. *J. Ethnopharmacol.*, 116:120-124, 2008.
- GWAK, H. S.; CHUN, I. K. Effect of vehicles and penetration enhancers on the *in vitro* percutaneous absorption of tenoxicam through hairless mouse skin. *Int. J. Pharm.*, 236(1-2):57-64, 2002.
- HENRIQUES, M. G. M. O.; SILVA, P. M. R.; MARTINS, M. A.; FLORES, C. A.; CUNHA, F. Q.; ASSREUY-FILHO, J.; CORDEIRO, R. S. B. Mouse paw edema: A new model for inflammation? *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 20:243-249, 1987.
- HOSKIN, P J; HANKS, G W. Opioid agonist-antagonist drugs in acute and chronic pain states. *Drugs*, 41(3):326-344, 1991.
- JONES, S. L. Anatomy of pain. In: SINATRA, R. S.; HORD, A. H.; GINSBERG, B.; PREBLE, L. M. (Eds.) *Acute Pain: Mechanisms & Management*. St. Louis: Mosby-Year Book, cap. 2, p. 8-28, 1992.
- KASSIM, M.; ACHOUI, M.; MUSTAFA, M. R.; MOHD, M. A.; YUSOFF, K. M. Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate *in vitro* anti-inflammatory activity. *Nutr. Res.*, 30:p. 650-659, 2010.
- KAUR, R.; SINGH, D.; CHOPRA, K. Participation of α_2 receptors in the antinociceptive activity of quercetin. *J. Med. Food*, 8(4):529-532, 2005.
- Keles, L.C., Melo, N.I., Aguiar, G. P., Wakabayashi, K. A. L., Carvalho, C. E., Cunha, W. R., Crotti, A. E. M. 2010. *Lychnophorinae* (Asteraceae): a survey of its chemical constituents and biological activities. *Quím. Nov.* 33, 2245-2260.
- Koster, R., Anderson, M., Beer, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Federal Proc.*, 18:412-417, 1959.
- LAVICH, T. R.; CORDEIRO, R. S. B.; SILVA, P. M. R.; MARTINS, M. A. A novel hot-plate test sensitive to hyperalgesic stimuli and non-opioid analgesics. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 38(3):445-451, 2005.
- LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.*, 53(4):597-652, 2001.
- MARTÍN ARIAS L.H.; MARTÍN GONZÁLEZ A.; SANZ FADRIQUE R.;VAZQUEZ E.S. Cardiovascular Risk of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Classical and Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors: A Meta-analysis of Observational Studies. *J. Clin. Pharmacol.*, 59(1):55-73, 2019.
- McQUEEN, D. S. Opioid peptide interactions with respiratory and circulatory systems. *Br. Med. Bull.*, 39(1):77-82, 1983.
- MENDES, A. Avaliação em larga escala do diclofenaco colestiramina em lesões traumáticas agudas. *Rev. Bras. Med.*, 58(4):249-256, 2001.
- MILLER, T. A. Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanisms. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 245(5):601-623, 1983.
- MORRIS, C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol.*, 225:115-121, 2003.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.*, 79(3):629-661, 2016.
- OLIVEIRA, A. B.; SAÚDE, D. A.; PERRY, K. S. P.; DUARTE, D. S.; RASLAN, D. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Trypanocidal sesquiterpenes from *Lychnophora* species. *Phytother. Res.* 10:292-295, 1996.
- PEREIRA, H. L. A.; RIBEIRO, S. L. E.; CICONELLI, R. M. Tratamento com antiinflamatórios tópicos na osteoartrite de joelho. *Rev. Bras. Reumatol.*, 46(3):188-193, 2006.
- RIBEIRO, R.A.; VALE, M.L.; THOMAZZI, S.M.; PASCHOLATO, A.B.P.; POOLE, S.; FERREIRA, S.H.; CUNHA, F.Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 387:111-118, 2000
- ROBERT, A.; HANCHAR, A J.; LANCASTER, C.; NEZAMIS, J. E. Prostacyclin inhibits enteropooling and diarrhea. In: Vane, J. R.; Bergström, S. (Eds.), *Prostacyclin*. New York: Raven Press, p. 147-158, 1979.
- RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Plantas medicinais no domínio dos cerrados. Lavras: UFLA, 180 p. 2001.
- RODRIGUEZ-VITA, J.; LAWRENCE, T. The resolution of inflammation and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 21:61-65, 2010.
- RONALD M.B.; CHRISTOPHER D.H. A bradykinin antagonist inhibits carrageenan oedema in rats. *Arch. Pharmacol.*, 342:189-193, 1990.
- SANTOS, A.R.S.; VEDANA, E.M.A.; DE FREITAS, G.A.G.



- Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. *Inflamm. Res.*, 47:302–307, 1998.
- SAÚDE, D. A.; RASLAN, D. S.; SOUZA FILHO, J. D.; OLIVEIRA, A. B. Constituents from the aerial parts of *Lychnophora trichocarpa*. *Fitoterapia*, LXIX (1):90–91, 1998.
- SBED – Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor. Disponível em <http://www.dor.org.br/dor_impactos.asp>. Acesso em 27 de setembro de 2009.
- SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V.E. *Fitoterapia racional: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde*. 1ed. Barueri: Manole. p. 1 – 2, 2002.
- SEIBERT, K.; ZHANG, Y.; LEAHY, K.; HAUSER, S.; MASFERRER, J.; PERKINS, W.; LEE, L.; ISAKSON, P. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 91(25):12013–12017, 1994.
- SILVEIRA, D., SOUZA FILHO, D.J., OLIVEIRA, A.B., RASLAN, D.S. Lychnophoric acid from *Lychnophora pinaster*: a complete and unequivocal assignment by NMR spectroscopy. *Eclat. Quím.* 30: 37–41, 2005.
- TAVARES, J.A.W. Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato bruto, das frações e dos compostos obtidos de *Geissospermum vellosii*. Dissertação de mestrado. Santa Maria, RS, 2008.
- TORIYABE, M.; OMOTE, K.; KAWAMATA, T.; NAMIKI, A. Contribution of interaction between nitric oxide and cyclooxygenases to the production of prostaglandins in carrageenan-induced inflammation. *Anesthesiology*, 101(4):983–390, 2004.
- SANTOS, A.R.S.; VEDANA, E.M.A.; DE FREITAS, G.A.G. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. *Inflamm. Res.*, 47:302–307, 1998.
- SÜLEYMAN, H.; BÜYÜKOKUROĞLU, M. E. The Effects of Newly Synthesized Pyrazole Derivatives on Formaldehyde-, Carrageenan-, and Dextran- Induced acute paw edema in rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 24(10):1133–1136, 2001.
- SÜMEN, G.; CIMSIT, M.; EROGLU, L. Hyperbaric oxygen treatment reduces carrageenan-induced acute inflammation in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 431(2):265–268, 2001.
- TAAMS, L. S. Inflammation and immune resolution. *Clin. Exp. Immunol.*, 193:1–2, 2018.
- TULUNAY, F. C. NSAIDs: behind the mechanisms of action. *Funct. Neurol.*, 15(suppl. 3):202–207, 2000.
- VANE, J.; BOTTING, R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *FASEB J.*, 1:89–96, 1987.
- VANE, J. R.; BOLTING, R. M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm. Res.*, 44(1):1–10, 1995.
- VAZ, Z.R.; et al. Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxybenzofuran, a novel xanthoxylene derivative, on chemical and thermal models of nociception in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 278:304–312, 1996.
- VERMA, P.R.; JOHARAPURKAR, A.A.; CHATPALLIWAR, V.A.; ASNANI, A.J. Antinociceptive activity of alcoholic extract of *Hemidesmus indicus* R.Br. in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 102:298–301, 2005.
- VINEGAR, R.; SCHREIBER, W.; HUGO, R. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 166(1):96–103, 1969.
- VONGTAU, H. O.; ABBAH, J.; MOSUGU, O.; CHINDO, B. A.; NGAZAL, I. E.; SALAWU, A. O.; KWANASHIE, H. O.; GAMANIEL, K. S. Antinociceptive profile of the methanolic extract of *Neorautanenia mitis* root in rats and mice. *J. Ethnopharmacol.*, 92(2-3):317–324, 2004.
- WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.W. Carrageenan-induced oedema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. In: *Exp. Biol. Med.*, 111:544–547, 1962.
- WOOLFE, G.; MacDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (DEMEROL). *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 80(3):300–307, 1944.
- ZADINA, J. E.; HACKLER, L.; GE, L. J.; KASTIN, A. J. A potent and selective endogenous agonist for the μ -opioid receptor. *Nature*, 386: 499–502, 1997.
- ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16(2):109–110, 1983.

Perfil de erros de dispensação de acordo com o sistema de dispensação adotado em um hospital público

Profile of dispensing errors according to the dispensing system adopted in a public hospital

ARAÚJO, M.T.F.L.¹; WANDERLEY, L.A.S.²; ROSA, M.B.^{3,4}; NASCIMENTO, M.M.G.^{3,5*}

1 Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte

2 Oncocentro Oncologia e Medicina Interna de Minas Gerais

3 Instituto para Práticas Seguras no Uso de Medicamentos (ISMP Brasil)

4 Hospital João XXIII, Fundação Hospitalar de Minas Gerais (HJXXIII/FHEMIG)

5 Centro de Estudos em Atenção Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (CEAF/FAFAR/UFMG) e Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (PFA/FAFAR/UFMG)

***Autora correspondente:** Mariana Martins Gonzaga do Nascimento

Faculdade de Farmácia/UFMG - Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG/Brasil | CEP 31270-901 | Tel.: (+55 31) 34096728 | marianamgn@yahoo.com.br

Recebido em 05/01/2019; Aceito em 22/01/2019

RESUMO

Erros de medicação são frequentes e devem ser foco para prevenção de danos relacionados ao uso de medicamentos sob olhar amplo e sistêmico. Nesse âmbito, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar o perfil de erros de dispensação em um hospital público de Belo Horizonte (MG), e avaliar a associação de sua ocorrência com o perfil de dispensação. Para tal, realizou-se um estudo transversal na farmácia da unidade de internação para identificar a frequência, tipo de erro, e medicamento envolvido no erro (tipo de fármaco e se era medicamento potencialmente perigoso - MPP) por perfil de dispensação (perfil I – embalagem única dispensada a cada 24 h; perfil II – embalagem única dispensada a cada 12 h; perfil III – fita selada dispensada a cada 12 h). A diferença na proporção de erros entre os perfis foi determinada (teste qui-quadrado de Pearson; significância estatística = 5%). Foram analisadas 726 prescrições, sendo que em 109 delas (15%) foram encontrados 138 erros de dispensação; 26 desses erros (n=19%) envolviam MPP. O erro mais comum foi a 'omissão de dose' (n=55; 40%). Os medicamentos mais envolvidos em erros foram a dipirona (n=26;19%), metoclopramida (n=14;10%) e heparina (n=10;7%). O perfil de dispensação III apresentou maior proporção de prescrições com erros (n=42; 16%). Quanto aos itens dispensados (n=9.730), 3% deles apresentou erro (n=268). Destacou-se o perfil II, com a maior proporção de itens com erros (n=114;4%), que se mostrou superior aos demais perfis de dispensação (p<0,05). Foi detectada elevada frequência de erros de dispensação com destaque para erros de omissão e para o perfil de dispensação II.

Palavras-chave: Erros de medicação; Sistemas de Medicação; Assistência Farmacêutica; Erros de Dispensação.

ABSTRACT

Medication errors are frequent and should be focus in the prevention of medication-related harm under a broad and systemic approach. In this context, the aim of the present study was to characterize the profile of dispensing errors in a public hospital in Belo Horizonte (MG), and to evaluate the association of its occurrence with the the dispensing system. For this purpose, a cross-sectional study was carried out at the pharmacy of the hospitalization unit. The frequency, type of error, and drug involved in the error (type of drug and whether it was a high-alert medication - HAM) were determined by dispensing system (profile I - single pack dispensed every 24 hours; profile II - single pack dispensed every 12 hours,



profile III – individual packaging according to the administration time dispensed every 12 hours). The difference in the proportion of errors between the profiles was determined (Pearson's chi-square test; statistical significance = 5%). A total of 726 prescriptions were analyzed, and in 109 of them (15%) 138 dispensing errors were found; 26 of these errors (n = 19%) involved a HAM. The most common error was 'dose omission' (n = 55; 40%). The drugs most involved in errors were metamizole (n = 26; 19%), metoclopramide (n = 14; 10%) and heparin (n = 10; 7%). The dispensing profile III presented a higher proportion of prescriptions with errors (n = 42; 16%). Regarding the dispensed items (n = 9,730), 3% of them presented an error (n = 268). Profile II was highlighted, with the highest proportion of items with errors (n = 114, 4%), which was superior to the other dispensing profiles ($p < 0.05$). A high frequency of dispensing errors was detected among the prescription orders, highlighting the omission errors and the dispensation profile II.

Keywords: Medication Errors; Medication Systems; Pharmaceutical Services; Dispensing Errors.

INTRODUÇÃO

A segurança do paciente possui relevância internacional e tem ganhado destaque crescente ao longo dos anos, uma vez que os eventos adversos associados ao cuidado de saúde configuram uma das principais causas de morte no mundo (MAKARY, 2016). Estudos recentes estimam que entre 210.000 e 400.000 mortes ocorram por ano devido aos eventos adversos relacionados a assistência em saúde somente nos Estados Unidos (MAKARY, 2016; JAMES, 2013).

Dentre os eventos adversos relacionados à assistência em saúde, destacam-se os erros de medicação, que configuram a principal causa de dano evitável nos sistemas de saúde mundiais e envolvem gastos anuais estimados em 42 bilhões de dólares (WHO, 2013). Frente a este cenário, a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu como desafio global para a Aliança Mundial para Segurança do Paciente em 2017 o uso seguro de medicamentos e destacou a necessidade de melhorar os sistemas de medicação em todo o mundo (WHO, 2013).

O sistema de medicação refere-se ao perfil e organização dos processos, procedimentos, equipamentos, interfaces, estrutura, ambiente e condições de trabalho envolvidas no processo de uso de medicamentos (ISMP). Em ambiente hospitalar, é comum que este sistema consista, essencialmente, dos

processos de prescrição, dispensação e administração de medicamentos, que são complexos e podem envolver a ocorrência de erros de variadas causas (ALDHWAIH et al, 2016; ANACLETO et al, 2005). Estes erros são considerados erros de medicação, que são incidentes evitáveis que, de fato ou potencialmente, podem levar ao uso inadequado do medicamento (WHO, 2008).

Os erros de dispensação, em específico, constituem um tipo de erro de medicação que decorre de desvio na interpretação da prescrição (BRASIL, 2013). Estudos internacionais mostram que as taxas de erros de dispensação em farmácias hospitalares são comuns, apesar de variarem muito entre países (de 0,02 a 33,5%) e apresentam-se mais elevadas em instituições brasileiras (ALDHWAIHI et al., 2016). Este tipo de erro de medicação pode ser decorrente de diversos fatores, uma vez que o processo de dispensação tem elevada complexidade (ALDHWAIHI et al, 2016; CHEUNG et al, 2009). Frente a essas questões, conhecer o perfil de erros de dispensação se faz essencial para planejar e estabelecer melhorias nos serviços de farmácia hospitalar. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar o perfil de erros de dispensação em um hospital público de grande porte de Belo Horizonte (MG), e avaliar a associação de sua ocorrência com o perfil de dispensação empregado.



METODOLOGIA

Tipo e local de estudo

Um estudo transversal foi realizado em uma farmácia satélite da unidade de internação de um complexo de urgência emergência de grande porte que contava, à época do estudo (2012), com 455 leitos (316 permanentes e 139 emergenciais).

A farmácia satélite em estudo funciona 24 horas e conta com 22 auxiliares de farmácia e 3 farmacêuticos. Dos 22 auxiliares de farmácia, 19 são responsáveis pela dispensação dos medicamentos. Os funcionários se revezam diariamente entre as atividades realizadas dentro da farmácia, não havendo exclusividade de pessoal no preparo das prescrições de um determinado perfil ou setor. As prescrições são dispensadas durante o plantão diurno, ficando para o plantão noturno apenas o atendimento de solicitações extras de medicamentos e materiais.

A farmácia em estudo atendia aproximadamente 200 prescrições por dia dos setores de: pediatria, unidade de cuidados progressivos, cirurgia geral, neurologia, clínica médica, cirurgia plástica/ortopédica e unidade de tratamento de queimados. A segunda via da prescrição era impressa diretamente na farmácia. O número de leitos de cada setor, que geralmente é equivalente ao número de prescrições, encontra-se descrito no Quadro 1 juntamente com o perfil de dispensação empregado para cada um deles (Perfil I, II e III).

Nas embalagens onde eram dispensadas as prescrições (saco plástico – usado no perfil de dispensação I e II - e fita selada – montada no perfil de dispensação III), colocava-se apenas medicamentos (comprimidos, cápsulas, envelopes, ampolas, frascos-ampola, bolsas de medicamentos de pequeno volume e seringas preenchidas). Colírios e pomadas são dispensados por paciente à medida que se fazem necessários sendo repostos pela farmácia mediante apresentação do recipiente dispensado

anteriormente vazio. Materiais hospitalares, soluções parenterais de pequeno e grande volume, soluções e suspensões orais são dispensadas por setor. Já as soluções e suspensões orais de medicamentos sujeitos a controle especial são dispensadas por paciente no momento de administração em seringas próprias para administração destas formas farmacêuticas (*Oralpack*®) com etiqueta de identificação do paciente, leito e quantidade prescrita. Os medicamentos termolábeis e vacinas ficam na geladeira na farmácia e são dispensados no momento da administração.

Os medicamentos prescritos de forma condicional (exemplos: “se dor”, “se necessário”) são enviados em quantidade igual à metade do total prescrito, salvo os medicamentos prescritos dessa forma que são sujeitos a controle especial, que devem ser buscados na farmácia no momento da administração.

Coleta de dados e amostra

A coleta de dados foi realizada durante o plantão diurno, de segunda a sexta-feira, durante três meses (total de 66 dias), por meio da conferência dos medicamentos dispensados com a respectiva prescrição pela farmacêutica responsável pela farmácia das unidades de internação. Foram excluídos da análise qualquer medicamento dispensado fora das embalagens plásticas (saco plástico ou fita selada).

Foram determinadas três amostras aleatórias simples de prescrições dispensadas a serem analisadas de acordo com o perfil de dispensação (perfil I, II e III) no software EpiInfo 7.0 (COCHRAN, 1977). Para tal, adotou-se um nível de significância e um erro relativo previsto de 5%, e levou-se em conta o número total de prescrições esperadas por perfil de dispensação no período de estudo, bem como uma média de frequência de erros de dispensação de 15% (detectada por meio do indicador de qualidade interno já aplicado na farmácia em estudo pela farmacêutica responsável). Estabeleceu-se que seriam analisadas 11 prescrições por dia (quantidade por perfil de

Quadro 1 - Número de leitos e perfil de dispensação por setor de internação e amostra de prescrições avaliadas durante o período de estudo.

| Setor de internação | Número de leitos | Perfil de dispensação | Amostra de prescrições avaliadas por dia (total no período total de estudo) |
|------------------------------------|------------------|---|---|
| Unidade de tratamento de queimados | 9 | Perfil I Embalagem única (em saco plástico) dispensada a cada 24 horas | 3 (198) |
| Pediatria | 23 | Perfil II Embalagem única (em saco plástico) dispensada de 12 em 12 horas | 4 (264) |
| Unidade de cuidados progressivos | 26 | | |
| Cirurgia geral | 35 | | |
| Neurologia | 35 | | |
| Cirurgia plástica/ortopédica | 35 | Perfil III Fita selada por horário dispensada de 12 em 12 horas | 4 (264) |
| Clínica médica | 35 | | |
| Unidade de tratamento de queimados | 24 | | |

*De segunda a sexta-feira durante 3 meses consecutivos (total de 66 dias).

dispensação descrita na Quadro 1) que foram selecionadas por sorteio aleatório do número do leito atendido.

Dados coletados

Medicamentos envolvidos no erro de dispensação

Todos os medicamentos envolvidos em algum erro de dispensação foram identificados quanto ao seu princípio ativo, concentração e forma farmacêutica. Eles também foram classificados como sendo ou não um Medicamento Potencialmente Perigoso (MPP) (ISMP, 2011).

Tipos de erros de dispensação

Foi adotado como conceito de erro de dispensação: qualquer discrepância entre o solicitado na prescrição e o atendido e dispensado fisicamente pelos funcionários da farmácia em estudo. Os erros de dispensação foram sub-classificados de acordo com os critérios adaptados de Anacleto (2003) (Quadro 2) (ANACLETO, 2003).

Quadro 2 - Tipos de erros de dispensação identificados.

| | |
|--|---|
| <p>1. Omissão de dose:</p> <p>1.1 Quando uma quantidade menor que a prescrita foi dispensada.</p> <p>1.2 Quando nenhuma unidade (ou dose) do medicamento prescrito foi dispensada</p> | <p>5. Medicamento errado dispensado:</p> <p>5.2 Prescrito um medicamento e dispensado outro</p> <p>5.3 Medicamento não foi prescrito e foi dispensado</p> |
| <p>2. Medicamento dispensado mesmo com ausência ou incorreção de dados essenciais na receita:</p> <p>2.1 Horário</p> <p>2.2 Quantidade a ser administrada</p> <p>2.3 Forma farmacêutica</p> <p>2.4 Concentração</p> | <p>6. Medicamento dispensado na forma farmacêutica errada</p> |
| <p>3. Medicamento dispensado com concentração errada:</p> <p>3.2 Concentração menor que a prescrita</p> <p>3.3 Concentração maior que a prescrita</p> | <p>7. Medicamento dispensado com rotulagem errada</p> <p>7.2 Erros do rótulo do próprio medicamento</p> <p>7.3 Erros na etiquetagem aplicada na farmácia</p> |
| <p>4. Dose excessiva: quando uma ou mais unidades (ou doses) foram dispensadas além da quantidade prescrita</p> | <p>8. Medicamentos dispensado com desvio de qualidade (problemas físicos detectados a partir de observação visual)</p> |
| | <p>9. Medicamento dispensado em horário ou turno diferente do prescrito</p> |

Fonte:
Adaptado de Anacleto (2003).

Processamento e análise de dados

Foi criado um banco de dados no Programa Excel®. Os dados de erros de dispensação foram analisados inicialmente de forma descritiva por meio de medidas de frequência e medidas de tendência central (média) e de dispersão (desvio padrão).

Em seguida, com auxílio do programa EpiInfo® 7.0, foram realizadas análises univariadas para comparar as proporções de prescrições e itens com erros entre os diferentes perfis de dispensação. Para tal, utilizou-se o teste de qui-quadrado de Pearson. Foi utilizada como medida de associação o resultado de *odds ratio* e seus respectivos intervalos de confiança de 95% estimados por regressão logística. Um nível de significância estatística de 5% foi adotado.

Aspectos éticos

O presente estudo foi conduzido dentro dos padrões exigidos pela Declaração de Helsinque e a resolução

do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012. Sua aprovação foi comunicada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hospitalar de Minas Gerais no dia 03 de outubro de 2012, sob registro CAAE-03709012.8.0000.5119.

RESULTADOS

Frequência e tipos de erros de dispensação por prescrição

Um total de 138 erros de dispensação foram detectados em 109 prescrições (15,0%). Uma maior frequência de erros foi detectada entre as prescrições atendidas por meio do perfil de dispensação III (n=42; 15,9%), seguido do perfil II (n=41; 15,5%) e perfil I (n=26; 13,1%). Não houve, no entanto, diferença estatisticamente significativa entre as proporções de prescrições com erro nos diferentes perfis de dispensação (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação da proporção de prescrições com pelo menos um erro entre os diferentes perfis de dispensação. Belo Horizonte – MG. 2012.

| Perfil de dispensação* | Prescrição com erro | | valor p** | OR (IC95%) |
|------------------------|---------------------|-----------|-----------|------------------|
| | Sim n(%) | Não n(%) | | |
| I | 26(13,1) | 172(86,9) | 0,47 | 0,82 (0,48-1,40) |
| II | 41(15,5) | 223(84,5) | | |
| I | 26(13,1) | 172(86,9) | 0,40 | 0,80 (0,47-1,35) |
| III | 42(19,7) | 222(80,3) | | |
| II | 41(15,5) | 223(84,5) | 0,90 | 0,97 (0,61-1,55) |
| III | 42(19,7) | 222(80,3) | | |

*I= embalagem única dispensada a cada 24 horas; II=embalagem única dispensada a cada 12 horas; III=fita selada dispensada a cada 12 horas. **Qui-quadrado de Pearson; significante quando <0,05. *** Odds ratio e intervalo de confiança de 95% estimados por regressão logística

Nos perfis de dispensação I, II e III, o maior número de erros (n=20, 16 e 19, respectivamente) foi referente ao tipo de erro 1.2 (quando nenhuma unidade – ou dose – do medicamento prescrito foi dispensada). Os medicamentos mais envolvidos neste tipo de erro foram a metoclopramida (n=13; 23,6%) e dipirona (n=10; 18,2%). Em segunda colocação, detectou-se: para o perfil I, o erro tipo 1.1 (quantidade menor que a prescrita dispensada; n=7; 21,2%), sendo que desses, 3 envolvendo a dipirona; e o erro do tipo 4 (quantidade maior que a prescrita dispensada) para o perfil II (n=11; 20,8%) e perfil III (n=10; 19,2%) (Tabela 2).

Tabela 2 – Frequência de tipo de erro de dispensação por perfil de dispensação, relacionado ou não a Medicamento Potencialmente Perigoso (MPP). Belo Horizonte – MG. 2012.

| Tipo de Erro | Frequência do erro - n(%) | | | | | | | | |
|---|---------------------------|---------|----------|----------------------------|---------|----------|------------------------------|---------|----------|
| | Perfil de dispensação I* | | | Perfil de dispensação II** | | | Perfil de dispensação III*** | | |
| | Total | Com MPP | Sem MPP | Total | Com MPP | Sem MPP | Total | Com MPP | Sem MPP |
| 1.1 Quando uma quantidade menor que a prescrita foi dispensada | 7(21,2) | 0(0) | 7(22,6) | 9(17,0) | 0(0) | 9(22,0) | 5(9,6) | 1(8,3) | 4(10,0) |
| 1.2 Quando nenhuma unidade (ou dose) do medicamento prescrito foi dispensada | 20(60,6) | 1(50,0) | 19(61,3) | 16(30,2) | 3(25,0) | 13(31,7) | 19(36,5) | 3(25,0) | 16(40,0) |
| 2.1 Medicamento dispensado mesmo com ausência ou incorreção de dados essenciais na receita - horário | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 10(18,9) | 5(41,7) | 5(12,2) | 6(11,5) | 2(16,7) | 4(10,0) |
| 2.2 Medicamento dispensado mesmo com ausência ou incorreção de dados essenciais na receita - quantidade a ser administrada | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 2.3 Medicamento dispensado mesmo com ausência ou incorreção de dados essenciais na receita - forma farmacêutica | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 1(1,89) | 0(0) | 1(2,44) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 2.4 Medicamento dispensado mesmo com ausência ou incorreção de dados essenciais na receita - concentração | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 3.1 Medicamento dispensado com concentração errada - concentração menor que a prescrita | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 1(1,92) | 0(0) | 1(2,50) |

| | | | | | | | | | |
|---|----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|
| 3.2 Medicamento dispensado com concentração errada - concentração maior que a prescrita | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 1(1,89) | 1(8,34) | 0(0) | 1(1,92) | 0(0) | 1(2,50) |
| 4 Dose excessiva: quando uma ou mais unidades (ou doses) foram dispensadas além da quantidade prescrita | 4(12,1) | 1(50,0) | 3(9,7) | 11(20,8) | 2(16,7) | 9(22,0) | 10(19,2) | 6(50,0) | 4(10,0) |
| 5.1 Medicamento errado dispensado - prescrito um medicamento e dispensado outro | 1(3,0) | 0(0) | 1(3,2) | 4(7,6) | 1(8,3) | 3(7,3) | 4(7,7) | 0(0) | 4(10,0) |
| 5.2 Medicamento errado dispensado - medicamento não foi prescrito e foi dispensado | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 6 Medicamento dispensado na forma farmacêutica errada | 1(3,03) | 0(0) | 1(3,2) | 1(1,9) | 0(0) | 1(2,4) | 1(1,9) | 0(0) | 1(2,5) |
| 7.1 Medicamento dispensado com rotulagem errada - erros do rótulo do próprio medicamento | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 7.2 Medicamento dispensado com rotulagem errada - erros na etiquetagem aplicada na farmácia | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 8 Medicamentos dispensado com desvio de qualidade (problemas físicos detectados a partir de observação visual) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 9 Medicamento dispensado em horário ou turno diferente do prescrito | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 5(9,6) | 0(0) | 5(12,5) |
| TOTAL | 33(100) | 2(100) | 31(100) | 53(100) | 12(100) | 41(100) | 52(10) | 12(100) | 40(100) |

*I= embalagem única dispensada a cada 24 horas; **II=embalagem única dispensada a cada 12 horas; ***III=fita selada dispensada a cada 12 horas.

Erros de dispensação por itens dispensados

Levando-se em conta o número de itens dispensados (n=9.730), foram detectados 268 itens com erros (2,8%). Uma maior proporção de itens com erros foi detectada no perfil de dispensação II (n=114; 4%) (Tabela 3) e a diferença desta em relação à proporção

dos demais perfis foi estatisticamente significativa (p<0,05) (Tabela 4). A chance de detecção de itens com erros no perfil I foi 46% da chance de erros do perfil II, e 65% da chance de erros no perfil III. Já a chance de detecção de itens com erros no perfil III representou 71% da chance de erros do perfil II (Tabela 4).

Tabela 3 – Frequência de itens dispensados com erro por perfil de dispensação. Belo Horizonte – MG. 2012.

| Indicador | Perfil de dispensação I* | Perfil de dispensação II** | Perfil de dispensação III*** | Total |
|---|--------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------|
| Itens dispensados - n | 4.190 | 2.864 | 2.676 | 9.730 |
| Média itens dispensados por prescrição (média±DP) | 21,4±10,4 | 11,0±5,2 | 10,1±5,0 | 13,5±8,5 |
| Frequência de itens dispensados com erro -n(%) | 78 (1,9) | 114 (4,0) | 76 (2,8) | 268 (2,8) |
| Média de itens dispensados com erro - (média±DP) | 0,4±1,0 | 0,4±1,7 | 0,3±0,7 | 0,4±1,2 |

*I= embalagem única dispensada a cada 24 horas; **II=embalagem única dispensada a cada 12 horas; ***III=fita selada dispensada a cada 12 horas.

Tabela 4 – Comparação da proporção de itens dispensados com pelo menos um erro entre os diferentes perfis de dispensação. Belo Horizonte – MG. 2012.

| Perfil de dispensação* | Itens dispensados com erro | | valor p** | OR (IC95%)* |
|------------------------|----------------------------|-------------|-----------|-----------------|
| | Sim n(%) | Não n(%) | | |
| I | 78(1,9) | 4.112(98,1) | <0,001 | 0,46(0,34-0,61) |
| II | 114(4,0) | 2.750(96,0) | | |
| I | 78(1,9) | 4.112(98,1) | 0,007 | 0,65(0,47-0,89) |
| III | 76(2,8) | 2.600(97,2) | | |
| III | 76(2,8) | 2.600(97,2) | 0,019 | 0,71(0,52-0,95) |
| II | 114(4,0) | 2.750(96,0) | | |

*I= embalagem única dispensada a cada 24 horas; II=embalagem única dispensada a cada 12 horas; III=fita selada dispensada a cada 12 horas.

**Qui-quadrado de Pearson; significante quando <0,05.

*** Odds ratio e intervalo de confiança de 95% estimados por regressão logística



Tipos de medicamentos envolvidos nos erros de dispensação

Um total de 26 erros (18,8%) envolviam um MPP, com destaque para os perfis de dispensação II e III (12 erros com MPP em cada perfil; 23,0%) (Tabela 2). Dentre os MPP envolvidos em erros, os mais frequentes foram heparina (n=10; 7,3%) e enoxaparina (n=6; 4,4%). O erro mais frequente envolvendo MPP foi o tipo 4 (quando uma ou mais unidades foram dispensadas além da quantidade prescrita – n=9; 34,6%); destes, a maioria envolveu a heparina (n=4).

O erro do tipo 1.2 (nenhuma unidade do medicamento prescrito foi dispensada) também apresentou uma frequência representativa entre os MPP (n=7; 26,9%), com destaque para o número de erros envolvendo heparina (n=3). O erro do tipo 2.1 (medicamento dispensado com ausência de horário na prescrição) apresentou frequência equivalente (n=7; 26,9%), sendo que a heparina e enoxaparina apresentaram frequência igual entre estes erros (ambas com n=3).

Os medicamentos mais envolvidos nos erros de dispensação foram a dipirona (n=26; 18,8% do total de medicamentos envolvidos em erros), metoclopramida (n=14; 10,1%), heparina (n=10; 7,3%) e ranitidina (n=9; 6,6%).

A dipirona foi o medicamento mais envolvido em erro de dispensação nos três perfis de dispensação, representando 24,2% dos erros (n=8) no perfil I, 25,0% (n=13) no perfil II e 9,6% (n=5) no perfil III. Os tipos de erros nos quais a dipirona estava envolvida em maior frequência foram 1.1 (quantidade menor que a prescrita foi dispensada – n=8; 30,8%), 1.2 (nenhuma unidade do medicamento prescrito foi dispensada – n=10; 38,5%), 4 (quando uma ou mais unidades foram dispensadas além da quantidade prescrita – n=3; 11,5%). A dipirona ampola e ranitidina ampola também estavam envolvidas no erro 5.1 (prescrito um medicamento e dispensado outro) com frequência (n= 29; 65,2%).

A metoclopramida estava envolvida nos erros 1.1 (quantidade menor que a prescrita foi dispensada – n=1; 7,15%) e 1.2 (nenhuma unidade do medicamento prescrito foi dispensada – n=13; 92,85%). Já a heparina estava envolvida nos erros 1.1 (quantidade menor que a prescrita foi dispensada – n=3; 30%), 1.2 (nenhuma unidade do medicamento prescrito foi dispensada – n=3; 30%) e 4 (quando uma ou mais unidades foram dispensadas além da quantidade prescrita – n=4; 40%).

DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta como limitação metodológica o fato do profissional responsável pela coleta de dados estarem inserido no serviço, uma vez que este fator pode levar os funcionários do setor a ficarem mais atentos no processo de separação e preparo da prescrição. Por outro lado, o indicador de erros de dispensação já era uma rotina do setor antes da realização do presente estudo, sendo, no entanto, realizada em frequência menor e com o fator surpresa (uma vez ao mês em dia aleatório com análise de todas as prescrições daquele dia).

Foi detectada uma proporção elevada de erros por prescrições dispensadas (15%), mas inferior à detectada em um estudo brasileiro realizado em um hospital universitário de pequeno porte (19%) (RISSATO, ROMANO-LIEBER, 2013) e outro realizado no mesmo hospital do presente estudo por Anacleto et al. em (2007) (81,8%) (ANACLETO, 2007); em ambos casos, era utilizada prescrição manual para dispensação. Quanto à proporção de itens dispensados com erros (3%), o presente estudo mostrou uma frequência similar a outro estudo brasileiro (3,2%) (RISSATO, ROMANO-LIEBER, 2013), um estudo francês (2,5%) (BOHAND et al, 2009) e outro realizado no Reino Unido (2,7%) (BESO et al, 2005); porém, consideravelmente inferior à frequência detectada por Albuquerque et al. (2012) em um hospital oncológico brasileiro (10,4%) (ALBUQUERQUE et al, 2012) e ANACLETO et al. (2007)



no mesmo hospital de estudo (33,3%) (ANACLETO, 2007). Falhas no processo de dispensação significam que um dos últimos elos de utilização segura dos medicamentos foi violada, e mesmo que a maior parte eles não causem danos aos pacientes, sua participação global no total de erros de medicação é considerável e sua existência aponta para um maior risco de ocorrência de eventos adversos (ALDHWAIHI et al, 2016; ANACLETO et al, 2005).

Ao avaliar o número de itens dispensados, destacou-se o perfil de dispensação do tipo II e III, que mostrou maior a frequência de itens com erros, destacando-se a omissão de medicamento prescrito ou envio de número maior de unidades que prescritos. Desta forma, os resultados apontam que a divisão das prescrições em horários (de 12 em 12 horas em embalagem única ou fita selada), apesar de ter como importante objetivo a redução de erros de administração quanto ao seu horário (“hora certa”) e evitar a presença de estoque volumoso nas unidades de internação, pode aumentar a frequência de erros, devendo envolver um processo mais bem estruturado, ambiente adequado e funcionários treinados para sua execução (ANACLETO et al, 2005; KEERS et al, 2013).

Outros fatores operacionais do hospital também podem influenciar na frequência de itens com erros nas prescrições e devem sempre ser levados em consideração na organização do processo de dispensação. O perfil de dispensação I (em embalagem única), que apresentou menor proporção de itens dispensados com erro (1,86%), por exemplo, é referente a um setor cujas prescrições são extensas (média de 20 itens), porém homogêneas e similares entre os diferentes pacientes (unidade de tratamento de queimados). Além disso, este é o setor que entrega as prescrições mais cedo na farmácia, o que pode influenciar no tempo gasto no preparo da prescrição na farmácia. Em contrapartida, o perfil II (maior proporção de itens com erros - 4,0%) é utilizado para

atender os setores de clínica cirúrgica, que possui prescrições muito diversificadas e que costumam ser entregues à farmácia fora do horário acordado (13 h) devido à admissão de pacientes vindos do bloco cirúrgico em horários diferenciados.

O tipo de erro mais frequente nos três perfis de dispensação (não envio de nenhuma unidade do medicamento prescrito) envolveu principalmente os medicamentos frequentemente prescritos de forma condicional pelo médico (metoclopramida e dipirona). A omissão (RISSATO, ROMANO-LIEBER, 2013; BOHAND et al, 2009; COSTA et al, 2008) e o envio de quantidades diferentes das prescritas (BESO et al, 2005; ALBUQUERQUE et al, 2012; COSTA et al, 2008; CINA et al, 2006), também foi um tipo de erro que também se destacou em outros estudos que avaliaram erros de dispensação. Igualmente, os medicamentos mais frequentemente envolvidos em erros de uma forma global também foram estes. Isso nos indica a necessidade de padronizar e divulgar entre os funcionários o procedimento interno da farmácia no tocante ao envio ou não dos medicamentos prescritos de forma condicional.

Erros envolvendo a troca entre as medicamentos com aspecto similar também foram frequentes, sendo um erro predominante também em outros estudos e destacado como domínio de prioridade para implementação de estratégias para prevenção de erros pela OMS(WHO, 2013; IRWIN et al, 2011; ANTO et al, 2011). Destacou-se a troca entre ampolas de ranitidina e dipirona (ambas de coloração âmbar e escrito em amarelo) que pode ser reduzida de forma mais imediata com a separação dos locais de armazenamento no espaço da farmácia, identificação diferenciada dos *containers* de armazenamento com etiquetas de dizeres destacados, e identificação individual das ampolas com etiquetas diferenciadas (ISMP, 2014; EMMERTON, RIZK, 2012).

Apesar de reduzida, a frequência de erros envolvendo



MPP (18,8% do total de erros) deve ser analisada cuidadosamente, uma vez que estes medicamentos tendem a estar associados a um maior risco de causar danos graves aos pacientes (ISPM, 2015). A heparina, por exemplo, que representou o terceiro medicamento mais envolvido em erros de uma forma global, e primeiro entre os MPP, é um medicamento frequentemente associado a erros graves (colocar boletim de heparina) (ISMP, 2013). O segundo MPP mais envolvido em erros de dispensação foi a enoxaparina. Ambos, quando utilizados em subdose ou sobredose (os erros mais frequentes foram o envio de unidades a mais ou a menos do que prescrito) podem ocasionar eventos tromboembólicos ou hemorragias graves e até fatais (ISMP, 2013). Por essa razão, esses medicamentos estão entre os medicamentos de alto risco apontados no acrônimo "A PINCH" (A – antiinfeciosos; P – potássio e outros eletrólitos; I – insulina; N – narcóticos e outros sedativos; C – quimioterápicos do inglês *chemotherapeutice* imunossupressores; H – heparinase agentes anticoagulantes) pela Comissão de Exatidão Clínica que devem ser priorizados em intervenções para minimizar a ocorrência e dimensão dos danos associados ao uso de medicamentos (SHEIKH et al, 2017). Estratégias de conscientização da equipe, dupla checagem e destaque dos *containers* de armazenamento e das unidades de medicamentos podem ser adotadas para evitar tais erros (ISMP, 2015, 2013).

De uma forma geral, acredita-se que o envolvimento de mais de um profissional de farmácia no preparo de uma mesma prescrição e a adoção de conferência da embalagem com os itens de prescrição por parte da enfermagem poderiam também ser fatores a reduzir a frequência de erros no setor, representando a checagem independente do processo de dispensação (WANG et al, 2016). A implantação da dispensação via sistema informatizado com leitor de código de barras também estava em vias de ser implantada

no hospital em questão, podendo contribuir como uma checagem adicional informatizada no processo (CHEUNG et al., 2009; EMMERTON, RIZK, 2012; JAYME, CARNEIRO, 2016; CAMPMANS et al, 2018).

Observou-se, portanto, um elevado número de erros de dispensação similar ao detectado em outros estudos. Uma pequena proporção dos erros envolvia MPP, sendo a metoclopramida e dipirona os medicamentos mais envolvidos em erros. A dispensação em embalagens divididas por horários aumentou a chance de erros. A omissão de dose foi o principal tipo de erros detectado. Acredita-se que a determinação dos tipos de erros e medicamentos envolvidos nos erros de acordo com os perfis de dispensação adotados é importante para proposição de medidas individualizadas para minimizar a ocorrência de erros de dispensação.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES NO TRABALHO

Maria Tereza de Feritas Lima Araújo: concepção do estudo; coleta, análise e interpretação dos dados; desenvolvimento, revisão e aprovação do conteúdo do artigo. Loredana Alvis Silva Wanderley, Mário Borges Rosa e Mariana Martins Gonzaga do Nascimento: concepção do estudo; análise e interpretação dos dados; desenvolvimento, revisão e aprovação do conteúdo do artigo.

FINANCIAMENTO

O presente trabalho não foi financiado por nenhuma instituição ou fundo.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, P.M.S.; DANTAS, J.G.; VASCONCELOS, L.A.; CARNEIRO, T.F.O.; SANTOS, V.S. Identification of error in the dispensing of drugs in a oncology hospital. *Ver Bras. Farm. Hosp. Serv. Saúde*, 3(1):15-18, 2012.
- ALDHWAIHI, K., SCHIFANO, F.; PEZZOLESI, C.; UMARU, N. A Systematic review of the nature of dispensing errors in hospital pharmacies. *Integr.Pharm. Res.Pract.*, 5:1–10,2016.
- ANACLETO, T.A. Erros de dispensação em uma farmácia

- hospitalar de Belo Horizonte – Minas Gerais. 2003. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- ANACLETO, T.A.; PERINI, E.; ROSA, M.B.; CÉSAR, C.C. Medication errors and drug-dispensing systems in a hospital pharmacy. *Clinics (São Paulo)*, 60(4):325-332, 2005.
- ANACLETO, T.A.; PERINI, E.; ROSA, M.B.; CÉSAR, C.C. Drug-dispensing errors in the hospital pharmacy. *Clinics (São Paulo)*, 62(3):243-250, 2007.
- ANTO, B.; BARLOW, D.; OBORNE, C.A.; WHITTLESEA, C. Incorrect drug selection at the point of dispensing: a study of potential predisposing factors. *Int. J. Pharm. Pract.*, 19(1):51–60, 2011.
- BESO, A.; FRANKLIN, B.D.; BARBER, N. The frequency and potential causes of dispensing errors in a hospital pharmacy. *Pharm. World Sci.*, 27(3):182–190, 2005.
- BOHAND, X.; SIMON, L.; PERRIER, E.; MULLOT, H.; LEFEUVRE, L.; PLOTTON, C. Frequency, types, and potential clinical significance of medication-dispensing errors. *Clinics (Sao Paulo)*, 64(1):11-16, 2009.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Fundação Oswaldo Cruz. Fundação Hospitalar de Minas Gerais. Protocolo de segurança na prescrição, uso e administração de medicamentos. Brasília (DF): ANVISA; <http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/seguranca-na-prescricao-uso-e-administracao-de-medicamentos>. Acesso em novembro de 2018.
- CAMPMANS, Z.; VAN RHIJN, A.; DULL, R.M.; SANTEN-REESTMAN, J.; TAXIS, K.; BORGSTEEDE, S.D. Preventing dispensing errors by alerting for drug confusions in the pharmacy information system-A survey of users. *PLoS One*, 13(5):e0197469, 2018.
- CHEUNG, K.C.; BOUVY, M.L.; DE SMET, P.A. Medication errors: the importance of safe dispensing. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 67(6):676-680, 2009.
- CINA, J.L.; GANDHI, T.K.; CHURCHILL, W.; et al. How many hospital pharmacy medication dispensing errors go undetected? *Jt. Comm. J. Qual. Patient Saf./Jt. Comm. Resour.*, 32(2):73–80, 2006.
- COCHRAN, W.G. *Sampling techniques*, 3. Ed. New York, Wiley & Sons, 1977.
- COSTA, L.A.; VALLI, C.; ALVARENGA, A.P. Medication dispensing errors at a public pediatric hospital. *Rev. Lat. Am. Enfermagem*, 16(5):812-817, 2008.
- EMMERTON, L.M.; RIZK, M.F.S. Look-alike and sound-alike medicines: risks and 'solutions'. *Int. J. Clin. Pharm.*, 34(1):4-8, 2012.
- INSTITUTE FOR SAFE MEDICATION PRACTICES. ISMP. ISMP's list of high-alert medications [Internet]. ISMP; http://diabetesed.net/page/_files/ISMP-High-Alert-Medications.pdf. Acesso em novembro de 2018.
- INSTITUTO PARA PRÁTICAS SEGURAS NO USO DE MEDICAMENTOS. ISMP Brasil. Questionário de autoavaliação sobre a segurança do sistema de utilização de medicamentos em hospitais [Internet]. Belo Horizonte (MG): ISMP Brasil; http://questionario.ismp-brasil.org/QUESTIONARIO_ISMP_BRASIL.pdf
- INSTITUTO PARA PRÁTICAS SEGURAS NO USO DE MEDICAMENTOS. ISMP Brasil. Nomes de Medicamentos com grafia ou som semelhantes. *Boletim ISMP Brasil*, 3(6):1-8, 2014.
- INSTITUTO PARA PRÁTICAS SEGURAS NO USO DE MEDICAMENTOS. ISMP Brasil. Medicamentos potencialmente perigosos de uso hospitalar e ambulatorial – Listas atualizadas 2015. *Boletim ISMP Brasil*, 4(3):1-8, 2015.
- INSTITUTO PARA PRÁTICAS SEGURAS NO USO DE MEDICAMENTOS. ISMP Brasil. Heparina: erros de medicação, riscos e práticas seguras na atualização. *Boletim ISMP Brasil*, 2(5):1-6, 2013.
- IRWIN, A.; ROSS, J.; SEATON, J.; MEARNES, K. Retrospective analysis of DATIX dispensing error reports from Scottish NHS hospitals. *Int. J. Pharm. Pract.*, 19(6):417–423, 2011.
- JAMES, J.T. A new evidence-based estimate of patient harms associated with hospital care. *J. Patient Saf.*, 9(3):122-128, 2013.
- JAMES, K.L.; BARLOW, D.; BURFIELD, R.; HIOM, S.; ROBERTS, D.; WHITTLESEA, C. A study of unprevented dispensing incidents in Welsh NHS hospitals. *Int. J. Pharm. Pract.*, 16(3):175–188, 2008.
- JAYME, M.O.; CARNEIRO, M.C. Bar-code technology and prevention of error in dispensing of drugs. *Ver Bras. Farm. Hosp. Serv.*, 7(2):22-25, 2016.
- KEERS, R.N.; WILLIAMS, S.D.; COOKE, J.; ASHCROFT, D.M. Causes of medication administration errors in hospitals: a systematic review of quantitative and qualitative evidence. *Drug Saf.*, 36(11):1045-1067, 2013.
- MAKARY, M.A. Medical error-the third leading cause of death in the US. *B.M.J.* 353:i2139, 2016.



RISSATO, M.A.R.; ROMANO-LIEBER, N.S. Drug Dispensing Errors at a University Hospital in Brazil. *Lat. Am. J.Pharm.*, 32(1):60-66, 2013.

ROLLAND, P. Occurrence of dispensing errors and efforts to reduce medication errors at the Central Arkansas Veteran's Healthcare System. *Drug Saf.*, 27(4):271-282, 2004.

SHEIKH, A.; DHINGRA-KUMAR, N.; KELLEY, E.; KIENY, M.P.; DONALDSON, L.J. The third global patient safety challenge: tracking medication-related harm. *Bulletin of the World Health Organization*, 95:546-546A, 2017.

WANG, B.N.; BRUMMOND, P.; STEVENSON, J.G. Comparison of barcode scanning by pharmacy technicians and

pharmacists' visual checks for final product verification. *Am. J. Health. Syst. Pharm.*, 73(2):69-75, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Conceptual framework for the international classification for patient safety. Geneva: World Health Organization. 2009.<https://www.who.int/patientsafety/implementation/taxonomy/ICPS-report/en/>. Acesso em novembro de 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Medication without harm – Global patient safety challenges on Medication Safety. Geneva: World Health Organization. 2017.<https://www.who.int/patientsafety/medication-safety/en/> Acesso em novembro de 2018.

O uso da avaliação formativa como instrumento de gestão em escolas que utilizam métodos ativos

The use of formative assessment as a management tool at schools using active methods

ALMEIDA M.T.C.^{1,2}; MAIA F.A.¹; SOUZA F.A.³; CARVALHO M.A.⁴; SILVA F.L.O.⁵; BATISTA N.A.⁶

¹Departamento de Fisiopatologia - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade Estadual de Montes Claros, ²Faculdades Unidas do Norte de Minas/Funorte, ³Graduado em medicina, ⁴Estudante de Medicina - Faculdades Integradas Pitágoras - Fipmoc, ⁵Estudante de Medicina - Universidade Estadual de Montes Claros, ⁶Departamento de Saúde, Educação e Sociedade - Universidade Federal de São Paulo.

Autor correspondente: Maria Tereza Carvalho de Almeida
+55 38 99922-0759 tereza.farmaco@hotmail.com

Recebido em 22/12/2018; Aceito em 17/01/2019

RESUMO:

Este trabalho tem como objetivo discutir a importância da avaliação formativa como instrumento de gestão em escolas que utilizam métodos ativos de ensino – aprendizagem. Os sujeitos desta pesquisa foram 115 professores do curso médico de uma universidade estadual. Na coleta de dados utilizamos um questionário com assertivas e análise do grau de concordância e/ou discordância que foram sistematizadas, classificadas e tabuladas. Para o aprofundamento da pesquisa, utilizamos a entrevista semiestruturada, cujos dados foram submetidos à análise temática. Verificou-se que, nos métodos ativos, os docentes são convidados a assumir efetivamente a função de gestores em todo o processo de ensino – aprendizagem, e a avaliação formativa é destacada como um importante instrumento de gestão. Faz-se necessário que o curso conte com um núcleo de avaliação que acompanhe o processo de ensino – aprendizagem, e conseqüentemente, os atores envolvidos, que garanta um diagnóstico situacional, que sistematize os achados e que alimente a gestão do curso.

Palavras-chave: Gestão; Avaliação Formativa; Educação Médica; Aprendizagem Baseada em Problemas; Desenvolvimento Docente.

ABSTRACT:

This work has as an objective to discuss the importance of formative assessment as a management tool in schools that uses active methods of teaching and learning. The subjects were 115 teachers of a State University of medicine. In the data collection we used a questionnaire with statements and analysis of the degree of agreement and/or disagreement systematized, classified and tabulated. For further research, we used a semi-structured interview, and the data was submitted to thematic analysis. We found that, in active methods, teachers are invited to assume effectively the role of managers throughout the teaching/learning process and formative assessment is highlighted as an important management tool. It is necessary that the course count on an assessment core, which accompanies the process of teaching/learning and consequently the actors involved, to ensure a situation analysis, which systematizes the findings and feed management course.

Key-words: Management; Formative Assessment; Medical Education; Problem Based Learning; Faculty Development



INTRODUÇÃO

Os cursos na área da saúde têm optado pela utilização de métodos ativos de ensino – aprendizagem com o objetivo de atender às demandas das Diretrizes Curriculares Nacionais (DCNs), bem como as demandas do Sistema Único de Saúde (SUS) vigente no país (ALMEIDA et al., 2012). Dentre os métodos ativos destacam-se o uso da Aprendizagem Baseada em Problemas (ABP) e da Problematização.

Na ABP, o estudante deve adquirir a capacidade de gerenciara autoaprendizagem. Os mesmos trabalham em pequenos grupos sob a orientação de um tutor/instrutor (docente) e aprendem trabalhando na solução de problemas elaborados com a finalidade de fornecer um contexto significativo para sua aprendizagem (TSUJI et al., 2010; BARROWS, 1985). Na Problematização, professores e estudantes são mediatizados pela realidade que apreendem e da qual extraem o conteúdo da aprendizagem a fim de atuarem nela e, assim, possibilitar a transformação social. Portanto, o que é aprendido não decorre da imposição ou da memorização, mas do nível crítico de conhecimento ao qual se chega pelo processo de compreensão, reflexão e crítica (TSUJI et al., 2010).

Assim, os professores passam a assumir diversificadas funções docentes (ALMEIDA et al., 2012). Nos módulos de Conteúdos Específicos – MCE, cujo objetivo é promover a articulação e integração dos conteúdos disciplinares, busca-se uma abordagem inter e multidisciplinar na construção dos problemas que serão utilizados nas sessões tutoriais, em que os docentes assumem diversas modalidades de ensino – aprendizagem: construção de módulos, tutoria, palestras/conferências/ mesa redonda, consultorias em várias áreas (relacionadas aos temas do módulo), atividades práticas nos laboratórios de autoaprendizagem (Morfofuncional) e de apoio (Anatomia, Bioquímica, Embriologia, Farmacologia, Fisiologia, Imunologia, Microbiologia, Patologia

e Parasitologia). Nos módulos de Habilidades e Atitudes – MHA, os professores são responsáveis pela elaboração e execução do mesmo e exercem a função de instrutores, facilitando aos estudantes a construção do conhecimento, aquisição de habilidades e desenvolvimento de atitudes favorecendo seu desempenho para as atividades da prática médica: atividades clínicas, habilidades de comunicação com o paciente, família e colegas; realização de procedimentos médicos e no âmbito da propedêutica laboratorial. No módulo de Interação Aprendizagem Pesquisa Serviço e Comunidade – IAPSC, que é desenvolvido com abordagem multiprofissional e adota como estratégia a problematização, o professor tem a função de instrutor, favorecendo o desenvolvimento das competências necessárias ao desempenho das atividades na prática médica.

Em cada período os módulos MCE, MHA e IAPSC são construídos por uma equipe multiprofissional e coordenados por um docente. Dessa forma, a função do gestor, nos métodos ativos, não se restringe ao coordenador do curso. Nos diversificados cenários citados os professores passam a assumir a função de gestor. Segundo ALMEIDA et al. (2011) a gestão das escolas médicas implica no desenvolvimento de lideranças capazes de planejar e gerenciar o currículo, bem como garantir que as atividades docentes e discentes sejam cumpridas com motivação e os resultados esperados sejam alcançados. Dentre outras atribuições, VENTURELLI et al. (2001) ainda ressaltam: a identificação das necessidades organizacionais e administrativas; o desenvolvimento da missão do curso e o planejamento de como pode ser cumprida sua responsabilidade social em relação às necessidades de saúde da sociedade e aos objetivos promovidos pela Organização Mundial de Saúde; a organização de sistemas de apoio aos docentes, para sua avaliação acadêmica e planejamento de contratações e a proteção do “acervo profissional docente”.



Neste contexto, ser gestor em um curso que utiliza métodos ativos de ensino – aprendizagem ainda é mais desafiador. Alguns estudos destacam que os gestores das escolas médicas não receberam preparo formal para o exercício da gestão (ALMEIDA, et al. (2012); ALMEIDA (2008)). ALMEIDA et al. (2012) apontam que os gestores não têm utilizado uma importante ferramenta: a avaliação formativa.

A avaliação formativa permeia todo o processo de ensino – aprendizagem, todos os atores envolvidos avaliam e são avaliados: estudantes avaliam professores, professores avaliam estudantes, oralmente, ao final de cada uma das atividades realizadas nos MCE, MHA, IAPSC e internato e formalmente, na intranet, ao final desses módulos. Ambos, estudantes e professores, avaliam todo o processo de ensino – aprendizagem. Assim, a avaliação assume um caráter formativo no desempenho tanto dos estudantes quanto dos docentes e gestores.

TRONCOM (1996) define a avaliação formativa como aquela que é realizada de forma regular e sistemática, ao longo do processo educacional, com fins de obter dados sobre o progresso alcançado e, assim, efetivar a oportuna correção das distorções observadas, preencher as lacunas identificadas e valorizar as conquistas realizadas. Para o autor, uma característica importante da avaliação formativa é o *feedback* imediato que deve ser fornecido ao avaliado com o objetivo de favorecer a obtenção de dados como uma atividade educacional.

Assim, torna-se pertinente discutir a importância da avaliação formativa como instrumento de gestão em escolas médicas que utilizam métodos ativos de ensino – aprendizagem.

METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa exploratória, descritiva e analítica com abordagens quantitativa e qualitativa. A população de estudo consistiu em 115 docentes

(63,2% do total de professores) atuantes no curso de medicina da Universidade Estadual de Montes Claros/Unimontes. Todos os docentes exerciam alguma atividade no currículo com métodos ativos de ensino-aprendizagem e tinham vivenciado os impactos da mudança curricular (ocorrida em 2001).

Para a coleta de dados utilizamos um questionário fechado e uma entrevista semiestruturada de aprofundamento. O uso de mais de uma técnica de coleta de dados permitiu aos pesquisadores combinar vantagens e corrigir algumas deficiências, ou seja, validar e aprofundar a representação das informações obtidas (PASQUALI, 1996).

Para a elaboração do questionário foram utilizadas quatro questões fechadas para caracterização da amostra (idade, tempo de docência, profissão e titulação acadêmica) e dezenove assertivas sobre a formação e o desenvolvimento docente os quais, numa escala de Likert, os sujeitos da pesquisa apontaram seus níveis de concordância/discordância (BOGDAN et al., 1994).

O questionário foi aplicado durante as reuniões periódicas mensais de cada departamento e os dados obtidos foram sistematizados, classificados, tabulados e dispostos em gráficos.

Na segunda fase (entrevistas de aprofundamento), trabalhamos com 15 docentes selecionados por sorteio aleatório conforme funções desempenhadas no currículo: 3 tutores, 2 construtores, 4 preceptores, 3 instrutores, 1 professor da comissão de avaliação, 1 coordenador de período e 1 gestor membro da Comissão de Educação Médica. É importante ressaltar que a maioria dos participantes nesta fase já tinha exercido pelo menos duas dessas funções.

O número de sujeitos desta etapa da pesquisa foi determinado em função dos dados qualitativos terem-se mostrado “suficientes para realizar aquilo a que nos propusemos” (BOGDAN et al., 1994, p. 200). Para MINAYO (2004), nos pressupostos qualitativos o



número de entrevistas torna-se suficiente à medida que se observa uma reincidência das informações.

As entrevistas foram realizadas seguindo um roteiro prévio determinado a partir das análises dos dados obtidos com o questionário sem limitar ou restringir a espontaneidade das respostas dadas pelos participantes no estudo. Foram gravadas e transcritas pelos pesquisadores respeitando-se as pausas e outras expressões que pudessem auxiliar a tradução da realidade. Após sua transcrição, os dados foram sistematizados e submetidos à análise temática, uma das técnicas de Análise de Conteúdo, valorizando os significados presentes nas falas, a sua correlação com as questões formuladas e a articulação com o marco teórico adotado na pesquisa.

Ao realizar a análise do conteúdo das transcrições das entrevistas identificou-se uma ênfase dada à importância da avaliação formativa no processo de ensino – aprendizagem, e foram feitas referências quanto à utilização da avaliação formativa como um instrumento de gestão. Apesar de não se tratar do objetivo inicial desta pesquisa e do instrumento de coleta de dados não contar com uma pergunta específica sobre o tema discutido neste artigo, consideramos relevante discutir sobre a importância da avaliação formativa como instrumento de gestão em escolas médicas que utilizam métodos ativos.

Este estudo é parte de uma dissertação de mestrado desenvolvida junto à Universidade Federal de São Paulo/Unifesp (2009-2010), aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade, em cumprimento da resolução nº 196/96. Protocolo nº 0445/09. Os sujeitos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, garantindo-se o sigilo dos dados coletados, bem como o direito às informações necessárias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se trabalhar com métodos ativos, faz-se necessário um investimento maior na avaliação com

fins de alcançar os resultados almejados por essa proposta pedagógica. Assim, a avaliação formativa dos atores envolvidos e do processo de ensino – aprendizagem tem ganhado destaque no meio acadêmico e se tornado cada vez mais imprescindível no direcionamento das atividades propostas.

A avaliação formativa permeia todo o processo de ensino – aprendizagem, assume uma dimensão norteadora e está estruturada de forma coerente com os princípios psicopedagógicos e sociais do currículo (TSUJI et al., 2010), pode ser utilizada para fins de diagnóstico e para orientar a tomada de decisão que se fizer necessária (ALMEIDA et al., 2012). É por meio dela que diagnosticamos as fragilidades e as potencialidades, traçamos e executamos o planejamento do que deve orientar os processos de mudança e acompanhamos se os resultados esperados se efetivam configurando assim a sua importância como um valioso instrumento de gestão.

HOFFMAN (2008) reforça essa posição construtivista da avaliação, e ressalta a importância de desenvolver uma avaliação compromissada, assumindo-se uma postura mais interativa do avaliador, mais responsável e comprometida com o sujeito avaliado. Esse fato determina a relevância das relações interpessoais e busca-se a motivação, a inquietação, a mediação, contrapondo a avaliação que reproduz e aliena, favorecendo o respeito à individualidade e às diferenças.

A avaliação, de acordo com MENDÉZ (2002), permite a construção e reconstrução de nossos saberes, uma vez que avaliamos para conhecer e, assim, asseguramos o aspecto formativo, tanto de quem avalia como de quem é avaliado. Nesse processo dialético, a avaliação constitui-se em um momento de aprendizagem contínua. Estas falas vêm ao encontro desta reflexão (P10; P11): “Eu tenho melhorado bastante [...], eu faço autocríticas em cima do que eu [...] apresento [...], eu espero que eu ainda esteja



em processo de crescimento”; “É através da avaliação que nós sabemos das nossas qualidades e das nossas dificuldades. E sabendo melhor das nossas dificuldades, nós poderemos crescer mais [...], o que eu devo fazer para ser diferente”.

DEMO (2005) e HOFFMAN (2008) acrescentam que a avaliação dialógica surge para conhecer, mediar e motivar o aluno e o professor em suas atividades. Estamos falando de uma prática avaliativa que visa promover a melhoria da realidade educacional através de funções que visam à recuperação, a orientação e a formação do sujeito (P9): “A avaliação tem influenciado no sentido de me dar mais estímulo [...] a melhorar cada vez mais”.

Na Unimontes, professores e estudantes são convidados a realizar a avaliação formativa e registrá-las na intranet. Ao final de cada atividade, o estudante se autoavalia, avalia seus pares, o docente, as atividades (módulos, estágios, atividades práticas, etc.), os serviços (biblioteca, laboratórios, cenários de prática, etc.). O docente também se autoavalia e avalia o estudante, as atividades e os serviços. A avaliação formativa é referenciada em critérios e acontece de forma oral ao final de cada sessão tutorial/atividade e ao final de cada módulo MCE, MHA e IAPSC é formalizada na *intranet*.

Entretanto, apesar de reconhecerem sua importância para a gestão das atividades, os professores comentam que nem os estudantes e nem eles próprios são estimulados a utilizar o espaço da *intranet* para realizar as avaliações e que ainda persiste uma cultura avaliativa arraigada no medo e na imaturidade (P1): “A avaliação da intranet não está boa, os meninos não estão escrevendo [...] eu acho difícil essa avaliação ajudar a coordenação [...] ela é falha (P3); As avaliações não são verídicas, são [...] superficiais [...] o estudante tem muito medo de estar avaliando criticamente o tutor ou o profissional”.

Outro aspecto enfatizado por SI-MUI SIM et al. (2006)

é a necessidade de prévia definição dos critérios dos instrumentos avaliativos com dimensões a serem observadas pelos avaliados e pelos avaliadores (P4): “A avaliação pesa muito porque, querendo ou não, a gente está submetido a esses critérios e é horrível não passar no crivo”. DEMO (2005) acrescenta que o número de critérios definidos no instrumento avaliativo também deve ser adequado, de fácil utilização e deve-se buscar uma constante revisão e negociação dos mesmos por parte dos atores envolvidos. VENTURELLI et al. (2001) afirmam que não é suficiente ter instrumentos de avaliação, é necessário aprender a usá-los, avaliá-los e modificá-los segundo as necessidades do processo de implantação da mudança. Nessa pesquisa, os professores identificam a falta de clareza na definição/compreensão dos critérios de avaliação como algo que impede o melhor aproveitamento da mesma (P1): “Eu acho que falta estudo, falta capacitação, falta a gente discutir mais os critérios de avaliação”. Vale ressaltar que apesar do curso de Medicina da Unimontes contar com um sistema de avaliação formativa, os critérios de avaliação utilizados são os mesmos em todas as fases do curso, ou seja, não acompanham uma progressão no desempenho dos atores envolvidos. Além do mais, observa-se que não houve uma reformulação/atualização, apenas uma redução dos mesmos, desde a implantação da ABP.

Outra observação é que não há uma sistematização dos dados das avaliações realizadas na intranet e também não é oferecido um *feedback* aos atores envolvidos. Os professores pesquisados confirmam esta observação e sugerem formas de utilizá-lo (P5; P11): “Existe um instrumento eletrônico da avaliação dos estudantes para os professores, [...] a coordenação do curso [...] poderia fazer um consolidado disso, talvez semestral [...] chamar esse professor, num ambiente separado, pra dar esse *feedback*”; “Tanto individualmente, pra que ele tenha acesso aos seus dados individuais e pessoais, e de uma forma coletiva



levantando resumos sobre a avaliação dos docentes, mostrando pra eles como está a evolução dos docentes". Eles ressaltam ainda a importância dessa sistematização e do *feedback* (P4; P3): "E a gente tinha que ter acesso a um relatório, a um sumário desses dados (da Intranet). Isso teria que ser devolvido pra cada professor [...] isso não acontece."; "À medida que a gente tem registros bem feitos, a gente vai ter a possibilidade de fazer levantamentos e propor *feedback*".

Para HOFFMANN (2008), o *feedback* contribui para o crescimento e para o desenvolvimento das potencialidades se a avaliação for significativa, e para isso os dados têm que ser verdadeiros e os instrumentos avaliativos coerentes e adequados. De acordo com RUSHTON (2005) o *feedback* para que seja efetivo, faz-se necessário a motivação, a capacitação e a utilização de estratégias adequadas (P2):

"Às vezes, a gente pega, estou falando como coordenadora (de período), um docente, um tutor que não vem tendo uma avaliação boa. Já tivemos momentos, por exemplo, de levar isso para a coordenação e não terem tomado atitude no sentido de mudar aquela pessoa [...] isso desmotiva."

GIBBS et al. (2004) acrescentam que o *feedback* deve refletir o cuidado de quem avalia em relação a quem é avaliado, para assim motivar a aprendizagem. A importância desse cuidado também é observada pelos professores pesquisados (P14): "Tentar interpretar aquele momento de cada professor, ter um grupo de trabalho específico pra cada aspecto desses professores que não tiveram uma boa avaliação".

Há também uma ênfase na importância da reflexão sobre a prática, a partir das avaliações realizadas, para orientar a tomada de decisão (P1; P6):

"Às vezes, a gente vê fragilidade, mas a gente não dá conta de avançar para o próximo semestre, de sanar essas fragilidades, porque a gente não tem

esse exercício de estar avaliando o grupo, avaliando a construção";

"Tomar conhecimento da avaliação, os problemas mais encontrados [...] a gente fizesse um momento de reflexão sobre a nossa prática."

HOFFMANN (2008) e os professores participantes desta pesquisa reforçam que a transformação da realidade e a mudança de atitudes só são possíveis por meio de uma avaliação reflexiva (P15; P15): "A gente tem que ver como acontece, refletir e modificar [...] Você tem que reavaliar e traçar mudanças". "Eu acho que é sempre válido a gente ver, ouvir, ler sobre a avaliação da gente que é feita pelo estudante [...] ela estimula pra gente a reflexão [...] do dia-a-dia".

Os recursos da avaliação diagnóstica podem ser utilizados para a identificação, confirmação e caracterização dos problemas encontrados, de modo a propor a solução para os mesmos (P6; P9):

"Sempre eu olho a avaliação [...] é o momento de você refletir o que você pode melhorar [...] a influência da avaliação é fundamental pra gente crescer";

"Falar assim [...] o ideal é que você pudesse melhorar nisso ou naquilo, ou aperfeiçoar isso, o que que você precisa? Você está disposto? De repente não quer [...] muda de área, muda de posição, muda de postura."

COSTA (2007, p.27) aponta outro problema, que é evidenciado na avaliação formativa, o individualismo da ação docente: os docentes do ensino superior são dominados pela "síndrome do ensinar à minha maneira", e consideram esse "um dos fatores que os leva a adotar estilos pedagógicos que tem tanto de pessoal e de empírico". A citação a seguir confirma esse dado e nos faz refletir o quanto os gestores devem se preparar para enfrentar esta questão, uma vez que ela infere diretamente nos resultados almejados (P12):

"Eu trabalho da minha forma, eu não sei se eu trabalho da forma correta".



Nesse contexto, o gestor poderia utilizar a avaliação formativa como um instrumento norteador do processo de ensino – aprendizagem. Para tanto, ele deveria contar com um processo avaliativo eficiente que contribua de maneira mais efetiva para a construção do conhecimento, para a aquisição de habilidades e para o desenvolvimento de atitudes dos atores envolvidos tendo em vista a formação médica proposta. Entretanto, a fala abaixo nos remete que a avaliação formativa existe e tem sido realizada, mas ainda não tem sido utilizada como um instrumento de gestão (P4):

“Se a gente pudesse fazer uma tabela, bem simples de como foi meu desempenho no ano passado, e no semestre passado em relação a esse semestre [...] Eu penso que isso aí podia ser útil porque [...] vai bulir na motivação da gente”.

Para tanto, o curso precisa contar com um núcleo/comissão de avaliação que acompanhe o processo de ensino – aprendizagem, e conseqüentemente, os atores envolvidos, que garanta um diagnóstico situacional (ALMEIDA et al., 2012), que sistematize os achados e que alimente a gestão do curso. Um professor assim se posiciona (P13): “A avaliação do processo também é falha em função [...] da falta que uma comissão de avaliação faz.”. E os docentes, membros da comissão de avaliação, também reconhecem a necessidade de aperfeiçoamento e identificam a necessidade de interagir com os professores, com os estudantes e com os colegas de outras instituições (P11): “No nosso caso (da comissão de avaliação), talvez, a nossa interação deveria ser com todos os professores, com todos os estudantes, e com grupos de avaliação de outras universidades, pra gente fazer uma troca de experiências”. TSUJI et al. (2010) acrescentam que ao constituir o seu núcleo de avaliação, a instituição deve levar em consideração as particularidades individuais, o modelo curricular e o método pedagógico.

No entanto, para ALMEIDA (2008) apenas um sistema de avaliação que alimente e retroalimente o processo de tomada de decisões não é suficiente, uma vez que o não planejado acontece todos os dias, a todo o momento, em quantidade e gravidade quanto menos estratégico for o estilo de gestão. De acordo com ALMEIDA et al. (2012) o gestor é o propulsor do processo de ensino – aprendizagem, e no exercício de qualquer uma das suas atividades ele é constantemente avaliador. Nesse sentido, esses autores utilizam a figura do catavento para representar as funções docentes nos métodos ativos de ensino – aprendizagem e destacam as funções de gestor e de avaliador no centro da mesma (figura 1).

Dessa forma, faz-se necessário que os gestores dominem o processo de ensino – aprendizagem e sintam-se responsáveis pela motivação dos atores envolvidos (ALMEIDA et al., 2012). Os docentes podem atuar de forma não cooperativa e comprometer os resultados esperados quando não se sentem motivados (ALMEIDA, 2008).

Ao trabalhar com métodos ativos, os docentes são convidados a assumir efetivamente a função de gestores. Na Unimontes, as atividades do curso médico são orientadas pelo colegiado de curso e gerenciadas pela Comissão de Educação Médica (CEM). A CEM é composta pelo coordenador de curso, pelo diretor do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) e por dois membros de cada uma das comissões: Comissão de Currículo (CC), de Desenvolvimento Docente (CDD) e de Avaliação (CAV). Cada período do curso é gerenciado por um coordenador que está subordinado ao coordenador do curso e à CEM.

Neste contexto, é importante ressaltar que apesar de serem convidados a exercerem o papel de gestores os docentes não receberam um preparo formal para assumir tal função (P4; P4): “O gestor [...] não tem capacitação para ser, para gerenciar e administrar

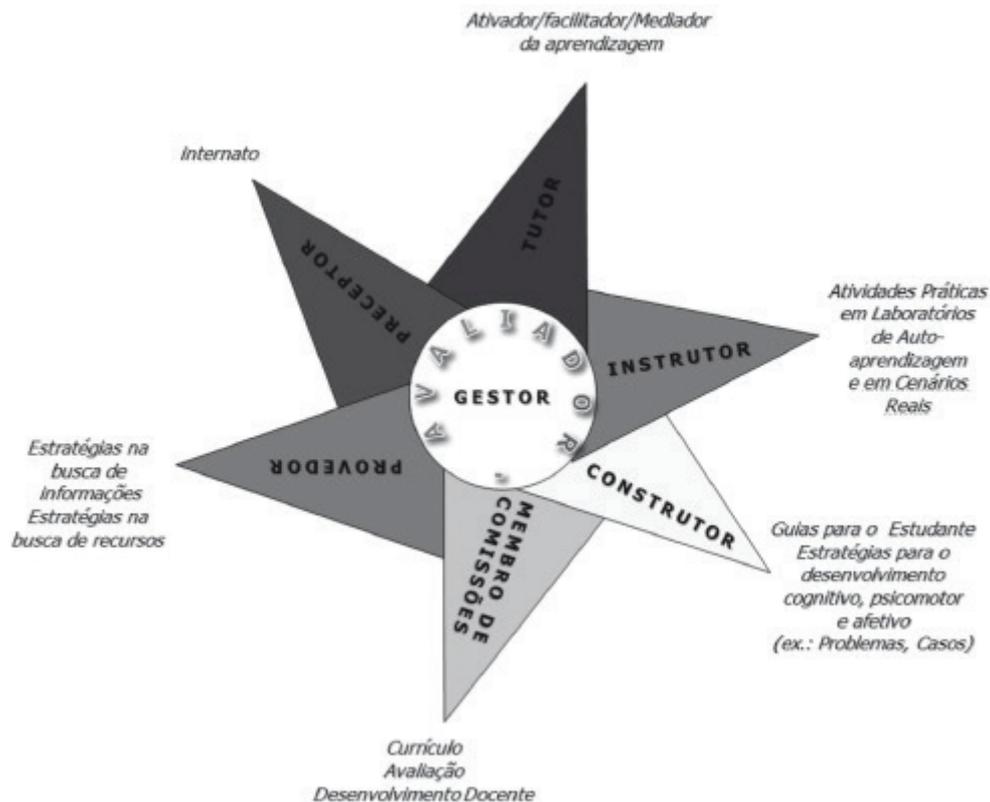


Figura 1 – Representação das atividades do gestor nos Métodos Ativos (Almeida, Maia e Batista, 2012).

grupos, pessoas, recursos humanos”. “A gestão, os gestores, eles têm as suas limitações, que estão no plano institucional, têm suas limitações pessoais.” O que vai de encontro com ALMEIDA (2008) que afirma que a gestão na escola médica não é profissionalizada, não é reconhecida nem valorizada pela comunidade acadêmica.

Outro aspecto relevante é que, na maioria dos casos, os gestores também não receberam preparo formal para serem avaliadores, o que provavelmente justifica as dificuldades dos mesmos de utilizarem a avaliação formativa como um instrumento de gestão. Esse apontamento pode ser constatado na fala desse professor (P7):

“Existem erros praticados que já foram avaliados, que já foram colocados em formato crítico e que não foram corrigidos [...] nem sempre a avaliação feita

ganha força dentro da sua potência, dentro da sua potencialidade, ela fica enfraquecida.”

A avaliação formativa pode e deve ser utilizada como um importante instrumento de gestão: ao estimular/motivar os atores envolvidos para realizarem e registrarem as avaliações feitas; ao constituir um núcleo, preparado em avaliação, para sistematizar os dados e alimentar os gestores, bem como propor o *feedback* necessário aos atores envolvidos com o objetivo de estimular a reflexão sobre a prática e a tomada de decisão; ao estimular os professores a refletirem sobre os consolidados sistematizados pelo núcleo de avaliação; ao estimular os professores a receberem o preparo formal para assumirem as funções de gestores e avaliadores. Desta maneira, tornar mais efetiva a construção do conhecimento, a aquisição de novas habilidades e o desenvolvimento



de atitudes nos atores envolvidos visando o alcance dos resultados esperados pelas escolas médicas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.T.C.; MAIA, F.A.; BATISTA, N.A. Gestão nas escolas médicas e sustentabilidade dos programas de desenvolvimento docente, a ser editado pela Avaliação. 1414-4077, 2012.
- ALMEIDA, M.J. Gestão na escola médica: crítica e autocrítica. Rev. Bras. Educ. Med. 32: 202-209, 2008.
- ALMEIDA, M.T.C. Desenvolvimento Docente em Métodos Ativos de Ensino – aprendizagem na Formação do Médico. 2010. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2010.
- ALMEIDA, M.T.C.; BATISTA, N.A. Ser docente em métodos ativos de ensino – aprendizagem na formação do Médico. Rev. Bras. Educ. Med. 35, 4: 468-476, 2011.
- BARROWS, H.S. How to design a problem-based curriculum for the preclinical years. Springer Publishing Company New York. Series on Medical Education:1985.
- BOGDAN, R.; BIKLEN, S. Investigação Qualitativa em Educação – Uma introdução à teoria e aos métodos. Coleção Ciências da Educação – 1994.
- COSTA, N.M.S.C.; Docência no Ensino Médico: por que é tão difícil mudar? Rev. Bras. Educ. Med. 31: 21-30, 2007.
- DEMO, P. Avaliação sob o olhar propedêutico. 6 ed. Campinas: Papyrus, 2005.
- GIBBS, G.; SIMPSON, C. Conditions Under Which assessment Supports Student's Learning. Learning and Teaching in Higher Education, Issue 1, 2004-05.
- HOFFMANN, J. Avaliar para promover: as setas do caminho. 27 ed. Porto Alegre: Meditação, 2008.
- MÉNDEZ, J.M.A. Avaliar para conhecer examinar para excluir. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002.
- MINAYO, M.C.S. O Desafio do Conhecimento-Pesquisa Qualitativa em Saúde - São Paulo: Hucitec, 8ª edição, 2004.
- PASQUALI, L. (org.) Teoria e métodos de medida em ciências do comportamento. Brasília (DF): Laboratório de Pesquisa em Avaliação e Medida. Instituto de Psicologia. Universidade de Brasília, Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais, 1996.
- RUSHTON, A. Formative assessment: a key to deep learning? Med. Teach. 27, 6: 509-513, 2005.
- SI-MUI S. et al. A simple instrument for the assessment of student performance in problem-based learning tutorials. Ann. Acad. Med. Singapore. 35: 634-641, 2006.
- TRONCON, L.E.A. Avaliação do estudante de medicina. Medicina (Ribeirão Preto), 29, 4: 429-439, 1996.
- TSUJI, H.; AGUILAR-DA-SILVA, R.H. Aprender e ensinar na escola vestida de branco: Do modelo biomédico ao humanístico. São Paulo: Editora Forte: 2010.
- VENTURELLI, J.; FIORINI, V.M. Programas Educacionais Inovadores em Escolas Médicas: Capacitação Docente. Rev. Bras. Educ. Med. 25: 7-21, 2001.

O desafio de novas vias de administração para Anfotericina B

The challenge of new administration routes for Amphotericin B

PATRICIO, B.F.C.¹; PRADO, L.D.¹; ROCHA, H.V.A.^{1*}

¹Laboratório de Micro e Nanotecnologia, Farmanguinhos / Fiocruz

Autor correspondente: Helvécio Rocha

Av. Brasil, 4036, sala 107, Maré, Rio de Janeiro-RJ, CEP: 21040-361 | helvecio.rocha@far.fiocruz.br

Recebido em 14/12/2018; Aceito em 17/12/2018

RESUMO:

As leishmanioses representam um conjunto de doenças com uma grande diversidade clínica e epidemiológica, sendo classificadas em duas formas principais: tegumentar e visceral. Estima-se uma prevalência de doze milhões de casos em todo o mundo e esse número continua a aumentar, com 1,5 a 2 milhões de novos casos por ano, principalmente em áreas tropicais e subtropicais. A anfotericina B (AmB) é um fármaco pouco solúvel em água e pouco absorvido no trato gastrointestinal. É utilizado no tratamento de primeira linha para infecções fúngicas invasivas e é o fármaco contra a leishmaniose mais potente disponível comercialmente. As formulações com esse fármaco disponíveis são administradas por via parenteral, o que dificulta sua viabilidade em locais remotos. A formulação convencional da AmB apresenta alta nefrotoxicidade e, por conta disso, foram desenvolvidas formulações injetáveis lipídicas que melhoraram o efeito adverso. Entretanto, elas apresentam a mesma eficácia. Por conta disso, há uma crescente busca por novas formulações de AmB, com destaque para as formulações lipossomais catiônicas por via intravenosa e as nanoformulações lipídicas, como os sistemas autoemulsificantes, para via oral. Algumas dessas formulações orais já estão em testes clínicos, sendo uma esperança no tratamento de doenças fúngicas e leishmanioses.

Palavras – chave: anfotericina B, leishmaniose, nanotecnologia, sistemas de liberação de fármacos.

ABSTRACT:

Leishmaniasis represents a group of diseases with a great clinical and epidemiological diversity, it is classified in two main forms: cutaneous and visceral. A prevalence of 12 million cases is estimated worldwide and this number continues to increase, with 1.5 to 2 million new cases per year, especially in tropical and subtropical areas. Amphotericin B (AmB) is a poorly water-soluble drug and poorly absorbed in the gastrointestinal tract. It is used in first-line treatment for invasive fungal infections and is the most potent commercially available leishmaniasis drug. All drug formulations available are administered parenterally, which hampers their viability at remote sites. In addition, the conventional formulation of AmB shows high nephrotoxicity. The lipid formulation have less side effect, but have the same efficacy. Because of this, there is a growing search for new formulations of AmB, with emphasis on intravenous cationic liposomal formulations and lipid nanoformulations, such as oral self-emulsifying delivery systems. Some of these oral formulations are already in clinical trials, being a hope in the treatment of fungal diseases and leishmaniasis.

Keywords: amphotericin B, leishmaniasis, nanotechnology, drug delivery systems



INTRODUÇÃO

A descoberta de novas entidades químicas é de extrema importância para a inovação farmacêutica (MACRAE et al., 2015). Entretanto, nos últimos anos, a inovação tem surgido em novos sistemas de liberação de fármacos com a finalidade de modelar a cinética de liberação, incrementar a absorção, aumentar a estabilidade do fármaco ou vetorizá-lo para uma determinada população celular, órgão ou tecido (THORLEY et al., 2013; ZHAO et al., 2014). Os novos sistemas terapêuticos surgiram da necessidade de minimizar problemas existentes com a administração das formas farmacêuticas tradicionais.

No desenvolvimento de um medicamento, aspectos biofarmacêuticos e patofisiológicos devem ser considerados, os quais, dentre outros fatores, determinam sua via de administração. Por exemplo, a anfotericina B (AmB) é muito pouco solúvel em água e dificilmente absorvida pelo trato gastrointestinal, devendo ser administrada por via parenteral (SERRANO et al., 2015).

A AmB permanece como tratamento de primeira linha para infecções fúngicas invasivas. Nas últimas décadas, a incidência dessas infecções apresentou um aumento significativo (PETRIKKOS et al., 2007), sendo causa de morbidade e mortalidade, principalmente em pacientes imunodeprimidos (SHAO et al., 2007). Além disso, é o fármaco contra a leishmaniose mais potente disponível comercialmente (LEMKE et al., 2005). O difícil acesso da população aos serviços de saúde foi um dos fatores que contribuíram para o aumento do número de casos de leishmaniose no Brasil e no mundo (WHO et al., 2018). Por ser administrada por via parenteral, existem muitas limitações ao uso da AmB, como a segurança associada com a administração e a viabilidade da administração do produto em locais remotos (LEMKE et al., 2005).

LEISHMANIOSES

As leishmanioses representam um conjunto de doenças com uma grande diversidade clínica e epidemiológica, sendo classificadas em duas formas principais, leishmaniose tegumentar (LT) e leishmaniose visceral (LV) ou calazar (DESJEUX, 2004). São prevalentes em áreas tropicais e subtropicais e são endêmicas em mais de oitenta países da África, Ásia, sul da Europa e América Latina (WHO et al., 2018). Estima-se uma prevalência de doze milhões de casos em todo o mundo e esse número continua a aumentar, com 1,5 a 2 milhões de novos casos por ano. A doença também ocorre em focos não endêmicos em decorrência das mudanças ecológicas e de habitat do inseto vetor, da urbanização e do aumento do trânsito de pessoas (AMEEN, 2010).

As leishmanioses são doenças causadas pela infecção de protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes à ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae*, gênero *Leishmania*. A LT é prevalente em 82 países e sua incidência é estimada em 1,5 milhões de casos por ano (GOTO et al., 2010).

O tratamento da LT pode ser local ou sistêmico. O último é empregado como terapia para LV e nos casos de LT não responsivos ou não indicados ao tratamento tópico. Nesse contexto, a terapia convencional das leishmanioses é a administração parenteral de antimoniais pentavalentes: estibogluconato de sódio (Pentostam) e antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime) (GOTO et al., 2010). O Pentostam é usado principalmente em países de língua inglesa e Glucantime é usado no Brasil e em outros países da América Latina (SANTOS et al., 2008). Ambos são tratamentos longos de 20 a 30 dias que requerem a internação do paciente e administração intravenosa (GOTO et al., 2010).

A eficácia dos antimoniais é variável, dependendo da região geográfica, espécie de *Leishmania* e apresentação clínica. Infelizmente, o aumento de casos de falha terapêutica tem sido reportado



em várias regiões do mundo. O aparecimento de resistência de espécies de *Leishmania* aos antimoniais é relatado, principalmente onde seu uso foi indiscriminado, como na Índia (PISCOPO et al., 2006; AMEEN, 2010). Por fim, os antimoniais não são efetivos no tratamento de alguns tipos da LT, especialmente na manifestação severa (PISCOPO et al., 2006).

Nos casos em que o tratamento preconizado com antimoniais pentavalentes não é efetivo ou não pode ser empregado, agentes de segunda escolha podem ser utilizados, tais como anfotericina B, pentamidina e paramomicina (SANTOS et al., 2008). Sendo a AmB o tratamento mais potente comercialmente (LEMKE et al., 2005).

ANFOTERICINA B

A AmB é indicada para o tratamento de infecções fúngicas potencialmente graves e leishmaniose, sendo administrada por via intravenosa. Em uma das extremidades da molécula de ativo, encontra-se um resíduo micosamina (lactona) com um grupamento amina livre, de pK_a igual a 9,5, e um grupo carboxil, de pK_a igual a 3,5 (MAZERSKI et al., 1990). Estes dois grupos, em pH fisiológico, conferem características zwitteriônicas à molécula e constituem a cabeça polar (GOLENSER et al., 2006). Devido à essas características, a AmB tende a formar agregado em meio aquoso, podendo apresentar diferentes estados de agregação (TORRADO et al., 2008). É instável em faixas de pH abaixo de 6 e acima de 9 e em presença de luz, calor e oxigênio (ARAÚJO, 2005).

A AmB é um fármaco da Classe IV, segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), apresentando baixa solubilidade e baixa permeabilidade (AMIDON et al., 1995). Dessa forma, só existem formulações endovenosas desse fármaco. O primeiro medicamento comercialmente disponível foi o Fungizon (1960), disponibilizado como uma suspensão coloidal. Nesta formulação, o sal biliar,

desoxicolato de sódio, é utilizado como agente solubilizante, formando um complexo micelar com a AmB (VYAS et al., 2006). Essa associação é a chamada formulação convencional e é por infusão intravenosa lenta em uma solução contendo 5% de dextrose (SHADKHAN et al., 1997). Atualmente, no Brasil, encontra-se disponível o medicamento Anforicin B como formulação convencional.

Após a administração endovenosa, o Fungizon é diluído no sangue, o que leva à completa dissociação da dispersão coloidal composta de AmB e desoxicolato de sódio. A AmB convencional causa hemólise e associa-se extensamente a lipoproteínas de baixa densidade (LDL), sendo captada pelas células que exibem receptores para essas lipoproteínas, por exemplo, as células renais, sendo altamente nefrotóxica (ROMERO et al., 2008). Outra questão para a toxicidade dessa formulação está no fato do fármaco dissociar-se rapidamente e formar agregados (forma solúvel em água), que é a forma mais tóxica (TORRADO et al., 2008).

A redução desta nefrotoxicidade é o principal objetivo das formulações lipídicas que surgiram na década de 1990 (VYAS et al., 2006; TORRADO et al., 2008). Além da formulação convencional, três preparações lipídicas estão disponíveis comercialmente: AmB lipossomal (AmBisome), complexo lipídico de AmB (Abelcet) e dispersão coloidal de AmB (Amphocil) (VYAS et al., 2006). Estas formulações apresentam eficácia semelhante (GOTO et al., 2010) e diferem quanto à estrutura, forma, tamanho, composição e conteúdo (Tabela 1).

Sistemas lipídicos são capazes de interagir fortemente com as moléculas de AmB, formando uma entidade molecular nova, que apresentam propriedades físico-químicas distintas do fármaco isolado. As formulações lipídicas comercialmente disponíveis têm indicação regulamentada apenas para LV (VYAS et al., 2006). A AmB lipossomal não tem sido extensamente usada na LT, mas relatos isolados de seu uso *off-label* em casos

Tabela 1 - Preparações comerciais de anfotericina B (Adaptado de IMAN *et al.*, 2011).

| Nome Comercial | Tecnologia | Composição | Tamanho | Carga superficial |
|-------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--|-------------------|
| Fungizon | Dispersão coloidal (micelas) | Desoxicolato, AmB | ≈ 1 μm (diâmetro) | Negativa |
| AmBisome | Lipossomas SUV | HSPC-Chol-DSPGAmB (2:1:0,8:0,4) | < 100 nm (diâmetro) | Negativa |
| Abelcet | Complexo lipídico (forma de fita) | DPMC- DMPGAmB (7:3:3) | 1 a 6 μm (diâmetro) | Negativa |
| Amphotec Amphocil | Dispersão coloidal (forma de disco) | Colesterilsulfato de sódio- AmB (1:1) | ≈ 100 nm (diâmetro) x < 10 nm (espessura) | Negativa |

HSPC: fosfatidilcolina hidrogenada de soja. Chol: colesterol. DSPG: diestearoilfosfatidilglicerol. DPMC: dimiristoilfosfatidilcolina. DMPG: dimiristoilfosfatidilglicerol. SUV: Vesículas Unilamelares Pequenas.

de resistência têm mostrado efetividade (PISCOPO *et al.*, 2006).

Dentre as formulações comerciais, a AmBisome é menos tóxica do que as outras. Nela, a AmB ancora-se fortemente na bicamada lipídica devido às interações favoráveis com os lipídios ao redor. A forte associação faz com que a AmB não seja liberada prontamente quando entra na circulação sanguínea e não se agregue, o que modifica a biodistribuição do fármaco, diminuindo sua captação por células renais e reduzindo a toxicidade (VYAS *et al.*, 2006; ROMERO *et al.*, 2008).

Devido à natureza coloidal das formulações lipídicas, em especial AmBisome, elas são removidas da circulação pelas células do sistema fagocítico mononuclear (SFM), levando a alterações no perfil farmacocinético. Esse direcionamento passivo ao alvo é útil para diminuir a toxicidade renal da AmB e, além disso, pode servir como estratégia de tratamento de infecções de células fagocíticas do SFM causadas por parasitas, como ocorre, por exemplo, na LV (TORRADO *et al.*, 2008).

Diversos sistemas de liberação são descritos na literatura para incorporação da AmB. A maioria dos estudos envolve nanossistemas, empregados para o aumento da biodisponibilidade da AmB e para a redução da toxicidade. Além disso, algumas abordagens utilizadas são direcionadas para a veiculação da AmB por via oral, visando também a

proteção das moléculas contra degradação no trato gastrointestinal.

Pela via parenteral, diferentes sistemas podem ser citados: lipossomas (ETTEN *et al.*, 1995), micelas poliméricas (LAVASANIFAR *et al.*, 2001), emulsões submicrônicas (BOUCHEMAL *et al.*, 2004; FILIPPIN *et al.*, 2008), microemulsões (DAROLE *et al.*, 2008) e nanopartículas lipídicas (MORIBE *et al.*, 2010). Para veiculação da AmB é interessante pensar em lipossomas positivamente carregados pois isso confere um maior reconhecimento pelo sistema imune do hospedeiro. Dessa forma, maior quantidade dessa formulação ficará retida em baço e fígado, ajudando no tratamento da enfermidade (OWENS *et al.*, 2006).

Diversos outros sistemas foram utilizados para veicular AmB, como emulsomas (GUPTA *et al.*, 2007; GILL *et al.*, 2011), micro e nanoemulsões (MORENO *et al.*, 2001) e microesferas de albumina (BRUNETE *et al.*, 2004).

Apesar de efetivas, existem muitas limitações do uso parenteral, como a segurança associada com a administração, viabilidade da administração de produtos parenterais em locais remotos, adesão do paciente ao tratamento (TORRADO *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2017). O desenvolvimento de uma formulação oral efetiva, estável e segura de AmB, resultaria em aplicações significativas no tratamento de infecções fúngicas disseminadas e expandiria o acesso ao



tratamento da LV. Entretanto, a biodisponibilidade da AmB é muito baixa (0,2-0,9%) devido à sua baixa solubilidade em água, a sua instabilidade em pH baixo do fluido gástrico e baixa permeabilidade (SERRANO et al., 2017).

Alguns estudos administraram 2-10 g de AmB por dia a pacientes. Entretanto, foi observado que a concentração plasmática no sangue não altera. Outro estudo administrou AmB por via oral através de múltiplas doses e observou um aumento da concentração plasmática, apesar de ainda baixa (HALDE et al., 1957; LOURIA, 1958; KRAVETZ et al., 1961). Isso sugere que a absorção da molécula do fármaco ocorre por processo saturável (SERRANO et al., 2017).

Além da baixa biodisponibilidade oral, a AmB apresenta efeitos adversos devido a uma toxicidade no trato gastrointestinal como náusea, vômito, diarreia e perda de apetite. Esses efeitos acabam sendo ainda mais críticos devido à alta dose necessária para uma melhor biodisponibilidade oral (SERRANO et al., 2017).

Da mesma forma, diversos estudos estão descritos na literatura com a busca de sua veiculação e administração por via oral. Já foram desenvolvidas nanopartículas de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (ITALIA et al., 2009), nanopartículas de quitosana, formulações lipídicas (SERRANO et al., 2015) e nanossuspensão (KAYSER et al., 2003).

Os cocleatos assumem certo destaque, como nos trabalhos de Mannino (2010) e Sesana (2011). A tecnologia Bioral (*Biodelivery Sciences*), baseada em cocleatos, encapsula e protege fármacos sem formar ligações químicas, facilitando a veiculação oral especialmente de fármacos utilizados por via parenteral. Uma formulação de AmB com cocleatos foi desenvolvida pela *Biodelivery Sciences* e estudos pré-clínicos demonstraram o potencial deste sistema de liberação (DELMAS et al., 2002). Em 2016 deu-se

início um estudo de fase II desse sistema (CLINICAL TRIALS, 2018). O maior problema dessa formulação é o escalonamento e custo final do produto (ZARIF et al., 2002).

A incorporação da AmB em micelas compostas por mono- e diglicerídes e fosfolípidios apresentou um aumento da concentração plasmática e diminuiu a parasitemia (WASAN, 2009 e 2010). Uma delas já está em estudo clínico iCo-10 (ICO THERAPEUTICS, 2017). Essas formulações podem ser consideradas sistemas auto-emulsificantes (SEDDS, do Inglês *Self-Emulsifying Drug Delivery System*) e soluções e suspensões com excipientes líquidos. As formulações SEDDS foram obtidas utilizando triglicerídeos de cadeia média, ácidos graxos e surfactantes não-iônicos e formam microemulsões apenas com os movimentos peristálticos do trato gastrointestinal (SACHS-BARRABLE et al., 2008). Um dos problemas dessas formulações é a baixa solubilidade da AmB nos componentes lipídicos (IBRAHIM et al., 2012).

No caso de nanopartículas para veiculação oral de AmB para o tratamento LV é interessante a captação pelo sistema linfático. Nesse caso, dois pontos são importantes, o tamanho (100 – 500 nm) e a composição de superfície que deve adsorver a maior quantidade de sais biliares possível (GHOSH et al., 2014; TREVASKIS et al., 2015).

CONCLUSÃO

A leishmaniose é uma doença prevalente em áreas tropicais e subtropicais e o número de novos pacientes infectados cresce a cada ano nessas regiões. O tratamento dessa doença é complexo, com uso de medicamentos por via intravenosa com muitos efeitos adversos. A anfotericina B é o medicamento de segunda escolha no tratamento dessa doença, mas o mais potente. Esse fármaco também é utilizado com maior frequência no tratamento de doenças fúngicas. Existem diferentes formulações de AmB no mercado,



sendo a convencional a que apresenta maior incidência de nefrotoxicidade. As outras formulações lipídicas apresentam a mesma eficácia com uma diminuição dos efeitos adversos. Por conta disso, muitos trabalhos na literatura vêm buscando novas formulações de AmB. Para a administração parenteral, destaca-se o uso de lipossomas catiônicos como forma de administração do fármaco para aumentar a sua captação por macrófagos e, por conseguinte, a eficácia do tratamento.

Entretanto, a via parenteral apresenta problemas, como a dificuldade de adesão do paciente ao tratamento e necessidade de internação do mesmo para a administração. Assim, existe um esforço dos pesquisadores da área em desenvolver uma formulação via oral. As formulações utilizando nanotecnologia destacam-se na área, especialmente as nanopartículas lipídicas e poliméricas, chegando a estudos clínicos. Um ponto importante nesse processo é o escalonamento da formulação e o custo final do produto, uma vez que é focado no tratamento de uma doença negligenciada.

REFERÊNCIA

- AMEEN, M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. *Clin. Exp. Dermatol.*,35:699-705, 2010. doi.org/10.1111/j.1365-2230.2010.03851.x.
- AMIDON,G.L.; LENNERNÃS,H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R.A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.*, 12(3):413–20, 1995. doi.org/10.1023/A:1016212804288
- ARAÚJO, I.B.; BRITO, C.R.; URBANO, I.A.; DOMINICI,V.A.; SILVA FILHO, M.A.; SILVEIRA, W.L.; DAMASCENO, B.P.; MEDEIROS, A.C.; EGITO E.S. Similarity between the in vitro activity and toxicity of two different Fungizone/Lipofundin. *Acta Cir. Bras.*, 1:257-260, 2005. doi.org/10.1590/S0102-86502005000700022
- BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H.Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization. *Int. J. Pharm.*, 280:241-251, 2004.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.05.016.
- SÁNCHEZ-BRUNETE,J.A.; DEA, M.A.; RAMA, S.; BOIÁS, S.; ALUNDA, J.M.; RAPOSO, R.; MÉNDEZ, M.T.; TORRADO-SANTIADO, S.; TORRADO, J.J. Treatment of Experimental Visceral Leishmaniasis with Amphotericin B in Stable Albumin Microspheres. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 48:3246-3252, 2004.doi.org/10.1128/AAC.48.9.3246–3252.2004.
- CLINICAL TRIALS. CAMB/MAT2203 in patients with mucocutaneous candidiasis (camb). Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02629419?term=1/4cochleates&rank=1/41>. (Acessado em 6 de dezembro de 2018).
- DAROLE, P.S.; HEGDE, D.D.; NAIR, H.A.Formulation and evaluation of microemulsion based delivery system for amphotericin B. *AAPS Pharm. Sci. Tech.*,9(1): 122-128, 2008. doi.org/10.1208/s12249-007-9022-8.
- DELMAS, G.; PARK, S.; CHEN, Z.W.; TAN, F., KASHIWAZAKI, R.; ZARIF, L.; PERLIN, D.S.Efficacy of orally delivered cochleates containing amphotericin B in a murine model of aspergillosis. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 46(8):2704-2707, 2002.doi.org/10.1128/AAC.46.8.2704-2707.2002.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology. Comp. Immunol. Microbiol Infect. Dis.*,27(5):305-318, 2004.doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004.
- VAN ETTEN,E.W.; TEN KATE, M. T.; STEARNE, L.E.; BAKKER-WOUDENBERG, I. A. Amphotericin B lipossomes with prolonged circulation in blood: in vitro antifungal activity, toxicity and efficacy in systemic candidiasis in leukopenic mice. *Antimicrob. AgentsandChemother.*,39(9):1954-1958, 1995. doi.org/10.1128/AAC.39.9.1954.
- FILIPPIN F. B.; SOUZA L. C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. *Rev. Bras.Cien. Farm.*, 42 (2): 167-194, 2006.
- GALLIS, H. A. Amphotericin B: a commentary on its role as an antifungal agent and as a comparative agent in clinical trials. *Clin. Infect. Dis.*, 22:S145-147, 1996. doi.org/10.1093/clinids/22.Supplement_2.S145.
- GOLENSER, J.; DOMB, A. New formulations and derivatives of amphotericin B for treatment of leishmaniasis. *Mini Rev. Med. Chem.*,6(2):153–162, 2006. doi.org/10.2174/138955706775476037.
- GHOSH, S.; ROY, T.Nanoparticulate drug-delivery systems:

- lymphatic uptake and its gastrointestinal applications, *J. Appl. Pharm. Sci.*,4(6):132-130,2014.doi.org/10.7324/JAPS.2014.40619.
- GOTO, H.; LINDOSO, J.A. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 8(4):419- 433, 2010.doi.org/10.1586/eri.10.19.
- GUPTA, S.; DUBE, A.; VYAS, S. P. Antileishmanial efficacy of amphotericin B bearing emulsomes against experimental visceral leishmaniasis. *J. Drug Target.*, 15(6):437-444, 2007. doi.org/10.1080/10611860701453836.
- HALDE, C.; NEWCOMER, V.D.; WRIGHT, E.T.; STERNBERG, T.H. An evaluation of amphotericin B in vitro and in vivo in mice against *Coccidioides immitis* and *Candida albicans*, and preliminary observations concerning the administration of amphotericin B to man. *J. Invest. Dermatol.*,28(3):217-231, 1957.doi.org/10.1038/jid.1957.26.
- LOURIA, D.B. Some aspects of the absorption, distribution, and excretion of amphotericin B in man, *Antibiotic. Med. Clin. Ther.*, 5(5):295-301, 1958.
- IBRAHIM, F.; GERSHKOVICH, P.; SIVAK, O.; WASAN, E.K.; WASAN K. M. Assessment of novel oral lipid-based formulations of amphotericin B using an in vitro lipolysis model, *Eur. J. Pharm. Sci.*,46(5):323-328, 2012.doi.org/10.1016/j.ejps.2012.02.008.
- ICo THERAPEUTICS. Amphotericin B oral formulation. Available from: [http:// www.icotherapeutics.com/pipeline/](http://www.icotherapeutics.com/pipeline/). (Accessed 06 december 2018).
- IMAN, M.; HUANG, Z.; SZOKA JUNIOR, F.C.; JAAFARI, M. R. Characterization of the colloidal properties, in vitro antifungal activity, antileishmanial activity and toxicity in mice of a distigmasterylhemisuccinoyl-glycerophosphocholine liposome-intercalated amphotericin B. *Int. J. of Pharm.*,408(1-2):163-172, 2011.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.01.044.
- ITALIA, J.L.; YAHYA, M.M.; SINGH, D.; RAVI KUMAR, M.N. Biodegradable nanoparticles improve oral bioavailability of amphotericin B and show reduced nephrotoxicity compared to intravenous Fungizone®. *Pharm. Res.*,26(6):1324-1331, 2009.doi.org/10.1007/s11095-009-9841-2.
- KAYSER, O.; OLBRICH, C.; YARDLEY, V.; KIDERLEN, A.F.; CROFT, S.L. Formulation of amphotericin B as nanosuspension for oral administration. *Int. J. Pharm.*,254(1):73-75, 2003.doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00686-5.
- KRAVETZ, H.M. Oral administration of solubilized amphotericin B, *N. Engl. J. Med.*, 265:183-184, 1961.doi.org/10.1056/NEJM196107272650409
- LAVASANIFAR A.; SAMUEL J.; KWON G.S. Micelles self-assembled from poly(ethylene oxide)-block- poly (N-hexyl stearate l-aspartamide) by a solvent evaporation method: effect on the solubilization and haemolytic activity of amphotericin B. *J. Control Release*, 77(1-2):155-160, 2001. doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00477-1.
- LEMKE, A.KINDERLEN, A.F.; KAYSER, O. Amphotericin B. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*,68(2):151-162, 2005.doi.org/10.1007/s00253-005-1955-9.
- LIU, D.; LIU, F.; LIU, Z.; WANG, L.; ZHANG, N. Tumor specific delivery and therapy by double-targeted nanostructured lipid carriers with anti-VEGFR-2 antibody. *Mol. Pharm.*, 8(6):2291-2301, 2011.doi.org/10.1021/mp200402e.
- MACRAE, C.A.; PETERSON, R.T. Zebrafish as tools for drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 14(10):721-731, 2015. doi.org/10.1038/nrd4627.
- MANNINO, R.J. Cochleate compositions and methods of use. WO 2010091090, 2010.
- MAZERSKI, J.; GRZYBOWSKA, J.; BOROWSKI, E. Influence of net charge on the aggregation and solubility behaviour of amphotericin B and its derivatives in aqueous media. *Eur. Biophys. J.*, 18(3):159-164, 1990. doi.org/10.1007/BF02427375.
- MORENO, M.A.; FRUTOS, P.; BALLESTEROS, M.P. Lyophilized lecithin based oil-water microemulsions as a new and low toxic delivery system for amphotericin B. *Pharm. Res.* 18(3):344-351, 2001.doi.org/10.1023/A:1011011215418.
- MORIBE, K.; MARUYAMA, S.; INOUE, Y.; SUZUKI, T.; FUKAMI, T.; TOMONO, K.; HIGASHI, K.; TOZUKA, Y.; YAMAMOTO, K. Ascorbyldimalmitate/PEG-lipid nanoparticles as a novel carrier for hydrophobic drugs. *Int. J. Pharm.* 387(1-2):236-243, 2010.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.12.007.
- OWENS, D.E.; PEPPAS, N.A. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 307(1):93-102, 2006. doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.010
- PETRIKKOS, G.; SKIABA, A. Recent advances in antifungal chemotherapy. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 30(2):108-117, 2007. doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.03.009
- PISCOPO, T.V.; AZZOPARDI, C.M. Leishmaniasis. *Postgrad. Med. J.* 82(976):649-657, 2006.doi.org/10.1136/pgmj.2006.047340corr1



- ROMERO, E.L.; MORILLA, M.J. Drug delivery systems against leishmaniasis? Still an open question. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 5(7):805-823, 2008.doi.org/10.1517/17425247.5.7.805
- SACHS-BARRABLE,K.; LEE, S.D.; WASAN, E.K.; THORNTON, S.J.; WASAN, K.M. Enhancing drug absorption using lipids: A case study presenting the development and pharmacological evaluation of a novel lipid-based oral amphotericin B formulation for the treatment of systemic fungal infections. *Adv.DrugDeliv. Rev.*, 60(6):692–701, 2008. doi.org/10.1016/j.addr.2007.08.042
- SANTOS, D.O.; COUTINHO, C.E.; MADEIRA, M.F.; BOTTINO, C.G.; VIEIRA, R.T.; NASCIMENTO, S.B.; BERNARDINO, A.; BOURGUIGNON, S.C.;CORTE-REAL, S.;PINHO, R.T.;RODRIGUES, C.R.;CASTRO, H.C.Leishmaniasis treatment – a challenge that remains: a review. *Parasitol. Res.*, 103(1):1-10, 2008.doi.org/10.1007/s00436-008-0943-2.
- SERRANO, D.R.; LALATSA, A.; DEA-AYUELA, M.A.; BILBAO-RAMOS, P.E.; GARRETT, N.L.; MOGER, J.; GUARRO, J.; CAPILLA, J.; BALLESTEROS, M.P.; SCHÄTZLEIN, A.G.; BOLÁS, F.; TORRADO, J.J.; UCHEGBU, I.F. Oral particle uptake and organ targeting drives the activity of amphotericin B nanoparticles. *Mol. Pharm.*, 12(2):420-431 2015. doi.org/10.1021/mp500527x.
- SERRANO, D.R.; LALATSA, A. Oral amphotericin B: The journey from bench to market. *J. DrugDeliv. Scien. Techn.*,42:75-83, 2017 doi.org/10.1016/j.jddst.2017.04.017.
- SESANA, A. M.; MONTI-ROCHA, R.;VINHAS, S.A.;MORAIS, C.G.;DIETZE, R.;LEMOS, E.M.In vitro activity of amphotericin B cochleates against Leishmaniachagasi. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 106(2):251-253, 2011.doi.org/10.1590/S0074-02762011000200022.
- SHADKHAN Y.;SHADKHAN Y.;SEGAL E.;BOR A.;GOV Y.;RUBIN M.;LICHTENBERG D. The use of commercially available lipid emulsions for the preparation of amphotericin B-lipid admixtures. *J.Antimicrob.Chemother.*, 39(5):655-658, 1997. doi.org/10.1093/jac/39.5.655.
- SHAO, P.L.; HUANG, L. M.; HSUEH, P.R. Recent advances and challenges in the treatment of invasive fungal infections. *Int. J. Antimicrob.Agents*, 30(6): 487-495, 2007.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.07.019.
- THORLEY, A.J.; TETLEY, T.D. New perspectives in nanomedicine. *Pharmacol.Ther.*, 140(2):176-185, 2013.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.06.008.
- TORRADO, J.J.; ESPADA, R.; BALLESTEROS, M.P.; TORRADO-SANTIAGO, S.; Amphotericin B formulations and drug targeting. *J. Pharm. Sci.*, 97(7):2405-2425, 2008.doi.org/10.1002/jps.21179.
- TREVASKIS,N.L.;KAMINSKAS, L.M.;PORTER, C.J. From sewer to saviour - targeting the lymphatic system to promote drug exposure and activity. *Nat. Rev. Drug Discov.*14(11):781-803, 2015.doi.org/10.1038/nrd4608.
- VYAS, S.P.; GUPTA, S. Optimizing efficacy of amphotericin B through nanomodification. *Int. J. Nanomed.*, 1(4):417-432, 2006.doi.org/10.2147/nano.2006.1.4.417.
- WASANE,K.;GERSHKOVICH,P.;ZHAO,J.;ZHU,X.;WERBOVETZ, K.;TIDWELL, R.R.;CLEMENT, J.G.;THORNTON, S.J.;WASAN, K.M. A novel tropically stable oral amphotericin B formulation (iCo-010) exhibits efficacy against visceral Leishmaniasis in a murine model, *PLoSNegl. Trop. Dis.*, 4(12):e913,2010.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000913.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leshimaniose: Epidemiology. Available at: <https://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/> (Accessed 06 december 2018).
- ZARIF,L.;GRAYBILL,J.R.;PERLIN,D.;MANNINO,R.J.Cochleates: New Lipid-Based Drug Delivery System,*J. Lip. Res.*, 10(4):523-539, 2002.doi.org/10.3109/08982100009031116
- ZHAO, L.; SETH, A.; WIBOWO, N.; ZHAO, C. X.; MITTER, N.; YU, C.; MIDDELBERG, A.P. Nanoparticles Vaccine. *Vaccine*, 32(2):327-337, 2014. doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.069.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO INSTITUCIONAL

Esse trabalho foi realizado com o apoio do Banco Nacional do Desenvolvimento (BNDES).

Compostos fenólicos em hortaliças cultivadas nos sistemas convencional e orgânico: uma revisão

Phenolic compounds in vegetables cultivated by conventional and organic processes: a review.

DEUS, V.L.^{1,2*}; SANTOS, A.P.C.; WALKER, J.F.; SANTANA NETA, L.G.; SOUZA, L.S.

¹Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

²Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

Autor correspondente: Valterney Lima Deus

E-mail: neideus@hotmail.com

Recebido em 09/01/2019; Aceito em 23/01/2019

RESUMO

A técnica da produção de alimentos orgânicos tem se difundido entre os consumidores fundamentando-se em princípios agroecológicos e de conservação de recursos naturais. Muitos estudos têm demonstrado que os alimentos produzidos organicamente têm tendência a possuírem menor teor de nitrato, maior teor de vitamina C, matéria seca e compostos com ação antioxidante. As propriedades antioxidantes nos alimentos estão diretamente relacionadas com a presença dos compostos fenólicos, em especial os ácidos fenólicos e os flavonóides. Entretanto, com relação à qualidade nutricional para a maioria dos nutrientes, até o momento, não existe um consenso sobre a superioridade dos orgânicos em relação aos convencionais. Esta revisão fornece um panorama das principais pesquisas relacionadas aos teores dos compostos fenólicos nas hortaliças no cultivo convencional e orgânico. Pelas pesquisas científicas, existem diversos fatores que podem contribuir com o teor de compostos fenólicos em hortaliças, como por exemplo, o sistema de cultivo empregado, composição do solo, fatores genéticos, condições ambientais, disponibilidade de nitrogênio, quantidade de irrigação e nutrientes recebidos, assim como a variedade da planta e o seu grau de maturação. Hortaliças orgânicas apresentam um enorme potencial para inovação tecnológica, visto a necessidade da manutenção destes compostos importantes para a saúde, sem prejuízo do sabor agradável, esperado pela população.

Palavras-chave: Bioativos, vegetais, radicais livres, antioxidante, saúde

ABSTRACT

The technique of organic food production has spread among consumers based on agro-ecological principles and conservation of natural resources. Many studies have found that organically produced foods tend to have lower nitrate content, higher vitamin C content, dry matter, and antioxidant compounds. The antioxidant properties in foods are directly related to the presence of phenolic compounds, especially phenolic acids and flavonoids. However, with respect to the nutritional quality for most nutrients, to date, there is no consensus on the superiority of organic foods compared to conventional ones. This review provides an overview of the main research related to the content of phenolic compounds in vegetables in conventional and organic cultivation. According to scientific research, there are several factors that may contribute to the content of phenolic compounds in vegetables, such as the cropping system, soil composition, genetic factors, environmental conditions, nitrogen availability, amount of irrigation and nutrients received, as well as the variety of the plant and its degree of ripeness. Organic vegetables have an enormous potential for technological innovation, since there is a need to maintain these important compounds for health, without detriment to the pleasant taste expected by the population.

Keywords: Bioactive, vegetable, free radicals, antioxidant, health



INTRODUÇÃO

A agricultura orgânica fundamenta-se em princípios agroecológicos e de conservação de recursos naturais. Baseada numa visão holística, promove o desenvolvimento sustentável dos agroecossistemas, obedecendo a biodiversidade, os ciclos biogeoquímicos e a atividade biológica do solo utilizando fertilizantes de origem orgânica e fontes renováveis de energia (GUZMÁN e GONZÁLEZ, 2009). Na agricultura orgânica os processos biológicos substituem os insumos tecnológicos. Além disso, consegue aliar o melhor aproveitamento dos recursos naturais renováveis e dos processos biológicos, à manutenção da biodiversidade, à preservação ambiental, ao desenvolvimento econômico, bem como, à qualidade de vida humana. Por outro lado, o sistema de produção denominado convencional baseia-se na utilização intensiva de insumos químicos (agrotóxicos), mecanização e melhoramento genético voltado para a produtividade física (PIMENTEL et al., 2005; ARBOS et al., 2010).

Atualmente, é possível observar uma busca dos consumidores por alimentos de qualidade, a preço justo, saudáveis do ponto de vista sanitário, isentos de resíduos químicos e produzidos com menor uso de insumos artificiais (SABA e MESSINA, 2003; MACHADO e CORAZZA, 2004; CAVALCANTE et al., 2007). Com isso, a produção de alimentos orgânicos é uma demanda atual da sociedade e tem recebido crescente atenção no cenário mundial, especialmente nos países industrializados.

Algumas evidências epidemiológicas demonstram que existe uma forte correlação inversa entre o consumo regular de frutas e hortaliças e a prevalência de algumas doenças degenerativas (MELO et al., 2006, 2009; HSU et al., 2007). O efeito protetor exercido por estes alimentos tem sido atribuído à presença de compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos, além dos mais

conhecidos β -caroteno, vitamina C e vitamina E. Estas substâncias por possuírem propriedade antioxidante, atuam retardando a velocidade da reação de oxidação, por ação sinérgica ou não, protegendo o organismo, contra as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (MELO et al., 2009). As hortaliças e frutas são consideradas como fontes importantes desses diversos compostos antioxidantes, sendo esta uma das razões para o incentivo do consumo continuado desses tipos de alimentos.

Os compostos fenólicos também são considerados de grande importância fisiológica e morfológicas para as plantas, podendo atuar como fitoalexinas (POPA et al., 2008), antioxidantes, atrativos para os polinizadores, agentes de proteção contra raios UV e ainda contribuem para a pigmentação da planta (NACZK e SHAHIDI, 2006). Essas propriedades bioativas desempenham um papel importante no crescimento e reprodução das plantas, proporcionando uma proteção eficaz contra patógenos e predadores.

Inúmeros ensaios têm sido desenvolvidos para avaliar a capacidade antioxidante em diferentes alimentos. Alguns deles determinam a habilidade dos antioxidantes para sequestrar radicais livres gerados no meio da reação, outros avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica por meio da quantificação dos produtos da reação, como dienos conjugados e hidroperóxidos, bem como dos produtos de decomposição da peroxidação lipídica ou medindo a inibição da oxidação do lipídio do sistema pelo antioxidante a ser testado (MELO et al., 2006). Em decorrência dessa diversidade de métodos para avaliar a atividade antioxidante, não existe um procedimento metodológico universal e por isso existe a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por diferentes ensaios, por diferentes mecanismos de ação.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi realizar



uma revisão da literatura, no sentido de identificar informações objetivas e acuradas a respeito dos compostos fenólicos presentes em hortaliças, comparando o teor desses compostos obtidos de cultivos orgânicos e convencionais. Para isso, a metodologia para realização do presente estudo foi embasada em trabalhos publicados nos últimos dez anos, utilizando-se as palavras-chave *antioxidant activity*, *phenolic compounds*, *vegetables*, *organic and conventional*, encontradas em várias bases científicas no Portal de Periódicos CAPES.

Compostos fenólicos em alimentos

A busca por antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou uso farmacêutico tem aumentado consideravelmente desde o início dos anos 1980. O intuito é a substituição dos antioxidantes sintéticos, que tem sido restringido seu uso devido potencial de carcinogênese, bem como pela comprovação de diversos outros problemas como: aumento de peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004). O interesse nesses antioxidantes naturais tem aumentado devido aos seus efeitos benéficos da prevenção e redução do risco de várias doenças. Os compostos fenólicos são substâncias biologicamente ativas, que são considerados os principais antioxidantes naturais, sendo um grupo diversificado de compostos químicos, tendo uma característica em comum: a presença do anel de arilo, no qual pelo menos um grupo hidroxilo está ligado. São reconhecidos como componentes secundários importantes de muitas plantas comestíveis (O'CONNELL e FOX, 2001; SIGER et al., 2012; ALU'DATT et al., 2013).

Extratos de frutas, ervas, legumes, cereais, nozes e outros materiais vegetais ricos em fenóis são cada vez mais de interesse na indústria de alimentos. A importância dos componentes antioxidantes de materiais vegetais para a manutenção da saúde

e proteção contra doenças cardíacas e câncer também está aumentando o interesse dos cientistas, fabricantes de alimentos e consumidores (ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2010).

Esses compostos exibem propriedades organolépticas, como a adstringência, que está associada a precipitações de glicoproteínas salivares e mucopolissacarídeos na língua, o que resulta no desenvolvimento de uma sensação de constrição, aspereza e *secura* do palato, sendo que essa sensação pode levar até 4 horas para se desenvolver. Relatos indicam que as propriedades olfativas de alimentos defumados são devido a compostos fenólicos, ou seja, guaiacol, eugenol, siringol, cresol e fenol, presentes na fumaça de madeira. Além de que, estendem a vida de prateleira de alimentos processados, inibindo o ranço oxidativo e desempenham papel importante no desenvolvimento da cor do vinho e muitos outros produtos alimentares (O'CONNELL e FOX, 2001).

Os compostos fenólicos possuem também várias atividades biológicas, como antioxidantes, antimutagênico, antibacteriano, aterosclerose, doença cardíaca coronária, ou efeitos anticâncer. Sua utilização *in vitro* ou *in vivo*, e em modelos animais, tem sido estudada para minimizar ou eliminar a iniciação ou progressão de várias doenças humanas, incluindo cancro, artrite e enfisema, que ocorrem por danos oxidativos. Muitos estudos foram concentrados em eliminar ou diminuir esses danos, usando vários compostos fenólicos. Como consequência, a ingestão de alimentos ricos em polifenóis é recomendada para ser incluída nos hábitos de dieta e novos suplementos alimentares e alimentos funcionais que contêm polifenóis têm sido lançados (CHUNG et al., 2011; MORENO et al., 2011).

Compostos fenólicos são amplamente distribuídos nas plantas e componentes importantes da dieta humana. Compreendem uma grande diversidade de compostos, tais como os flavonoides (antocianinas,

flavonóis, flavonas, etc) e várias classes de não flavonoides (ácidos fenólicos, ligninas, estilbenos, hidroxibenzóicos). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende de muitos fatores. O mais importante é a sua estrutura, na qual o número e posição dos grupos hidroxilo são significativos e os diferenciam(Figura 1). Além disso, os compostos fenólicos podem ocorrer em combinação com outros compostos presentes no alimento, o que pode afetar significativamente a sua bioatividade (MAQSOOD e BENJAKUL, 2010; SIGER et al., 2012; MIRNAGHI et al., 2013).

Dentre as várias funções dos compostos fenólicos, se destacam: atuação na manutenção da qualidade dos alimentos, prevenção ou retardo da deterioração e manutenção do valor nutritivo dos alimentos e produtos alimentares, proteção dos tecidos do corpo do dano oxidativo e capacidade para impedir a agregação de plaquetas e da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (SIKORA et al., 2008; ALU'DATT et al., 2013; MIRNAGHI et al., 2013).

O processo respiratório e diversas reações oxidativas, que ocorrem nas células aeróbicas, levam à formação de radicais livres, que causam danos ao organismo e contribuem para o aparecimento de muitas doenças, tais como: inflamações, tumores malignos, mal de Alzheimer e doenças cardiovasculares, bem como aceleram o processo de envelhecimento (SIKORA et al., 2008). Por isso, as células humanas dependem de certa capacidade antioxidante para fornecer proteção contra os efeitos prejudiciais de radicais livres e espécies reativas do oxigênio, que são consequências inevitáveis da vida aeróbica. Para alcançar uma proteção eficiente, os tecidos dispõem de um sistema antioxidante integrado, que consiste de um arranjo de diversos componentes lipossolúveis (vitamina E; carotenóides), hidrossolúveis (ácido ascórbico; glutatinoxina) e enzimáticos (glutatinoxina peroxidase; superóxido dismutase; catalase) (McLEAN et al., 2005). Em geral, desempenham o papel de antioxidante através de diferentes mecanismos de ação, tais como eliminação de radicais livres, extinção de espécies reativas de oxigênio, a inibição das enzimas

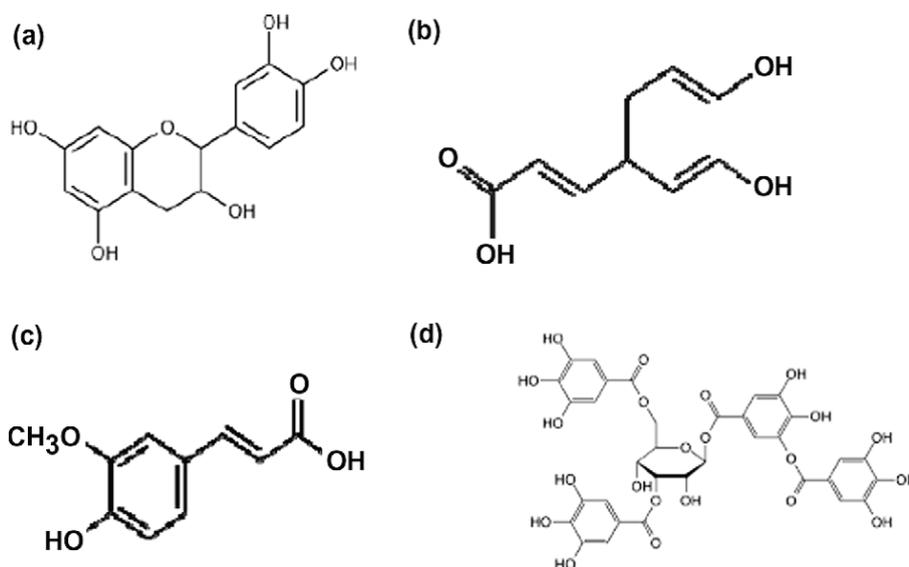


Figura 1. Estruturas de quatro compostos fenólicos: (a) catequina, (b) ácido cafeico, (c) ácido ferúlico e (d) ácido tânico.

Fonte: (MAQSOOD e BENJAKUL, 2010).



oxidativas, a quelação de metais de transição, através da interação com biomembranas ou decompondo peróxidos. Assim, eles são conhecidos por ser responsável pela atividade antioxidante de plantas. O organismo humano, naturalmente, defende-se dos radicais livres pela produção de antioxidantes endógenos. Porém, isso não é suficiente para satisfazer as necessidades do corpo, com isso, a ingestão de antioxidantes a partir de fontes externas, é fortemente recomendada (MAQSOOD e BENJAKUL, 2010; ERKAN, 2012; CONTESSA et al., 2013).

Compostos fenólicos em hortaliças cultivadas em diferentes sistemas

Cultivos convencionais

O efeito antioxidante de hortaliças foi evidenciado em estudos realizados com espinafre e repolho (ISMAIL et al., 2004), maçã (LEJA et al., 2003), coentro (MELO et al., 2005), entre outros. De acordo com Bacchi et al (2004) e Lombardo et al (2012), estudos feitos com cultivares de batatas, o produto quando manejado de forma convencional requer que os produtores adotem insumos agrícolas e defensivos químicos, o que pode resultar em resíduos indesejáveis para o solo, acumulando-se conseqüentemente nos tubérculos, por isto, como resultado, os sistemas orgânicos de produção inicial no cultivo da batata estão em ascensão. Tal fato evidencia que em diversos cultivares estudados, embora os níveis de rendimento sejam tipicamente mais baixos em sistemas orgânicos, este tipo de manejo tem ganhado a predileção de muitos produtores.

Uma revisão recente por Lairon (2009) conclui que o teor de nitrato de alimentos cultivados organicamente (incluindo batata) é em geral menor do que em produtos cultivados convencionalmente. Isso pode ajudar a reduzir a ingestão total de nitrato, principalmente nos países onde os legumes são altamente consumidos. Juntamente com a água potável, os vegetais são a principal fonte alimentar de

nitrato, que é potencialmente perigoso para a saúde humana quando ingeridos em concentrações acima da ingestão diária aceitável (IDA) preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), devido ao seu papel precursor para a formação de nitrosaminas, importante composto cancerígeno formado pela complexação de aminoácidos e nitratos. No entanto, estudos que investigam micronutrientes, diferentes bioativos e a capacidade antioxidante, tiveram resultados conflitantes. A literatura sugere que os teores mais elevados de compostos fenólicos em alimentos orgânicos ou convencionais podem variar não só entre cultivares, mas também com base na substância específica que está sendo analisada. Isto porque, o teor de polifenóis em uma planta é influenciado pelas condições de cultivo, tais como condições de crescimento, o grau de maturação e variedade (BARRETT et al., 2007; TOOR et al., 2006). A estes fatores soma-se a genética de plantas cultivadas, composição do solo e as condições de cultivo, estado de maturidade, e condições de colheita e pós-colheita. Desta forma, uma vez que a presença de polifenóis constituem parte dos mecanismos de defesa inatos das plantas, a síntese de polifenóis tem sido mostrado para ser estimulada sob condições de stress, como alterações de temperatura, exposição UV e ataques patogênicos, para as quais também podem ser submetidas também as plantações sob cultivo convencional (FALLER e FIALHO, 2009).

Não é consensual a evidência de que muitos antioxidantes desempenham um papel fundamental na adaptação das plantas a estresses abióticos, como estresse hídrico. Um número significativo de antioxidantes produzidos por plantas em resposta ao estresse são metabólitos secundários, incluindo uma vasta gama de compostos fenólicos simples e complexos derivados primariamente através da via fenilpropanóide (LUNA et al, 2012).

Alguns desses importantes compostos fenólicos são largamente disponíveis em diferentes frutas,



legumes e ervas íntegras, mas, também podem ser aproveitados a partir de resíduos agrícolas e industriais, tornando-se fontes atraentes de antioxidantes naturais. Segundo Ignat et al (2011), uma especial atenção está focada na extração de fontes de baixo custo ou residual das indústrias agrícolas. Subprodutos, remanescente após processamento de frutas e vegetais na indústria de processamento de alimentos, ainda contêm uma grande quantidade de compostos fenólicos. Importante exemplo pode ser evidenciado na citricultura que produz grandes quantidades de resíduos de casca e semente, os quais podem ser responsáveis por até 50% do peso total do fruto. Entretanto, segundo Koh et al (2009), até o momento, não há nenhum estudo sistemático que possa representar a sazonal variação ao longo do ano para o complemento de flavonóides, aminoácidos e vitamina C em alimentos, sendo necessária análise para um intervalo de diferentes cultivares, agrícolas e manejo pós-colheita e condição de armazenamento histórias. Mas, há um crescente interesse e necessidade de dados quantitativos sobre os níveis e variabilidade de bioativos importantes na produção comercial. Estes valores são crítico para estimar a disponibilidade e para o desenvolvimento de precisão bancos de dados, pois, requerem múltiplas amostragens durante longos períodos, a fim de compensar os efeitos das variações anuais, varietais e sazonais.

Cultivos orgânicos

A agricultura orgânica é um sistema de gerenciamento de produção holístico, que promove e melhora a saúde do ecossistema agrícola, incluindo a biodiversidade, os ciclos biológicos e a atividade biológica do solo. Sistemas orgânicos de produção são baseados em normas específicas e precisas de produção que visam alcançar agro-ecossistemas ideais que são socialmente, ecologicamente e economicamente sustentáveis (HAAS, 2008). Evita o uso de pesticidas sintéticos, herbicidas, adubos

químicos, hormônios de crescimento, antibióticos ou manipulação genética. Em vez disso, os agricultores orgânicos usam uma variedade de técnicas que ajudam a manter os ecossistemas e reduzir a poluição. Ele reduz drasticamente insumos externos, abstendo-se do uso de quimio-sintéticos fertilizantes, pesticidas e produtos farmacêuticos. Em vez disso, ele permite que as leis poderosas da natureza para aumentar os rendimentos agrícolas e resistência à doença (OLIVEIRA, 2009).

Orgânico é um termo de rotulagem que indica que os produtos são produzidos de acordo com as normas da produção orgânica, e que estão certificados por autoridade ou entidade de certificação devidamente constituída. A agricultura orgânica se baseia no emprego mínimo de insumos externos. Devido à contaminação ambiental generalizada, as práticas de agricultura orgânica não podem garantir ausência total de resíduos. No entanto, é possível aplicar métodos destinados a reduzir ao mínimo a contaminação do ar, do solo e da água (FAO/OMS, 2008).

Há uma crescente demanda por hortaliças orgânicas, entre outros produtos, e os agricultores de todo o mundo estão mudando suas práticas de produção para enfrentar esse desafio (DIPEOLU e AKINBODE, 2005, 2006). Sabe-se que os alimentos orgânicos têm atributos sensoriais superiores, contêm níveis mais baixos de pesticidas e fertilizantes sintéticos, têm níveis mais elevados de nutrientes e fitoquímicos protetores e menores níveis de nitrato de que alimentos produzidos convencionalmente. Este fenômeno é, possivelmente, devido a um maior teor de água em culturas convencionais, o que faz com que a diluição de nutrientes (VALLVERDÚ-QUERALT et al., 2012).

É bem conhecido que a biossíntese de compostos fenólicos em plantas é fortemente influenciada pela cultivar, o modo de fertilização, a temperatura, a luz e



as variações sazonais (SLIMESTAD e VERHEUL, 2009). A tendência de maior concentração de polifenol em frutas e vegetais produzidos organicamente poderia ser explicada por uma maior absorção de fósforo e de limitada disponibilidade nitrogênio (VALLVERDÚ-QUERALT et al., 2012). Um aumento da absorção de fósforo pode fornecer a energia necessária para a síntese de fitoquímicos. Além disso, demonstrou-se que as plantas sintetizam mais flavonóides quando o nitrogênio é limitado (MITCHELL et al., 2007).

Em relação aos atributos de qualidade dos alimentos orgânicos, os resultados ainda são pouco conclusivos. Darolt (2003) afirma existir um grande número de fatores que pode afetar a qualidade de um alimento, como fatores genéticos (variedades), clima, condições de solo, armazenamento pós-colheita e modo de produção (orgânico ou convencional). Pelo lado negativo, foi sugerido que a utilização de estrume e reduzida utilização de fungicidas e antibióticos em agricultura orgânica, pode resultar em uma maior contaminação de alimentos orgânicos por microrganismos ou produtos microbianos (HOEFKENS et al., 2009).

Numerosos estudos já foram conduzidos abordando as propriedades antioxidantes de frutas, hortaliças e plantas medicinais (RAMOS et al., 2003; CAI et al., 2004; MIGUEL et al., 2004; SCHAFFER et al., 2005; HSU et al., 2007; YU et al., 2007). Todavia, poucos trabalhos são conduzidos visando verificar a influência do tipo de cultivo na ação antioxidante desses alimentos. Alimentos produzidos organicamente têm tendência a possuírem menor teor de nitrato, maior teor de vitamina C e matéria seca, bem como maior teor de compostos com ação antioxidante, tais como flavonoides e carotenoides (DAROLT, 2003; STERTZ et al., 2005; MAGKOS et al., 2006).

Em relação à qualidade nutricional, de forma geral, para a maioria dos nutrientes ainda não existe um consenso sobre a superioridade dos orgânicos.

Todavia, para alguns elementos é possível observar algumas tendências. Ficou evidente que a maior parte dos estudos comparativos apontam para um menor teor de nitratos, um teor superior de matéria seca e um maior teor de vitamina C para produtos orgânicos, notadamente em legumes e folhosas. É provável que isto esteja ligado à menor quantidade e fontes menos disponíveis de nitrogênio em sistemas orgânicos. Em relação a substâncias como os compostos fenólicos, responsável por uma maior proteção ao organismo, a maioria dos estudos mostra um teor mais elevado em produtos provenientes da agricultura orgânica (DAROLT, 2003).

Compostos fenólicos em hortaliças orgânicas e convencionais

Os fitoquímicos são compostos provenientes do metabolismo secundário de plantas e, dentre eles, os compostos fenólicos merecem destaque, em razão da sua atividade antioxidante. A capacidade de inativação dos radicais livres pelos compostos fenólicos vem sendo atribuída à presença de grupamentos hidroxilas (OH^-) que possuem capacidade de se ligar a radicais livres presentes no organismo, impedindo sua ação, a qual pode causar danos e/ou oxidação de componentes de células (SEVERO et al., 2009).

O teor de componentes bioativos presentes nos vegetais é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, tipo de cultivo, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros (MELO et al., 2006). Dessa maneira, a probabilidade de se conseguir um resultado de pesquisas mais confiável, na comparação entre produtos oriundos de cultivos orgânicos e convencionais, aumenta quando um maior número de variáveis é monitorado (ARBOS, 2009).

Sistemas convencionais e orgânicos diferem também na quantidade de irrigação recebida (sequeiro ou irrigado), nas quantidades de nutrientes aplicadas como fertilizantes e em matéria orgânica aplicada



ao solo como resíduos de colheitas de inverno, cultura de cobertura por leguminosas ou esterco compostado. A disponibilidade de nitrogênio inorgânico, em particular, tem o potencial influenciar a síntese de metabólitos secundários de plantas, proteínas e sólidos solúveis. (LOMBARDO et al., 2012). Segundo dados de Degl'Innocenti et al. (2007), as fundamentais diferenças entre os sistemas de produção orgânico e convencional, especialmente na gestão para fertilidade do solo, podem afetar a composição nutricional das plantas, incluindo metabólitos secundários de plantas. Além disso, as plantas de produção biológica têm um longo período de maturação em comparação com as plantas convencionais, porque ocorre uma liberação mais lenta dos nutrientes fornecidos, e como flavonóides são formados durante o período de maturação, pode-se esperar um maior teor destes compostos em plantas cultivadas organicamente.

A agricultura biológica, forma como é chamada a agricultura com manejo orgânico, de acordo com Faller e Fialho (2009), em geral, é caracterizada pela sua restrição ao uso de pesticidas sintéticos e fertilizantes. Esta característica básica levou os pesquisadores a duas hipóteses principais justificando o motivo pelo qual as frutas e vegetais cultivados organicamente podem resultar em alimentos com maior teor de polifenóis. A primeira reflete o impacto das diferentes práticas de fertilização sobre o metabolismo da planta, já que os fertilizantes sintéticos oferecem fontes mais botanicamente biodisponíveis de nitrogênio, o que acelera o desenvolvimento das plantas, alocando recursos vegetais para efeitos de crescimento e não para a produção do derivado metabólitos tais como polifenóis. A segunda hipótese é baseada na exposição da planta a situações de tensão resultantes a ausência de pesticidas, tais como, os ataques de insetos, ervas daninhas e patógenos, levando a um aumento das substâncias naturais de defesa

(bioativos) tais como os compostos fenólicos.

Em diversas regiões do Brasil e em outros países, têm sido realizados estudos com a finalidade de comparar a composição química, qualidade nutricional e a segurança do consumo de produtos hortícolas obtidos a partir de diferentes tipos de sistemas de produção (FAVARO-TRINDADE, 2007; ARBOS, 2009; NASSUR, 2009; BAVEC et al., 2010; FERREIRA et al., 2010; LUTHRIA et al., 2010; SOLTOFT et al., 2010; LEME, 2012; SOUZA, 2012). Parte desses estudos confere uma melhor qualidade nutricional aos produtos cultivados em sistema de produção orgânico. Em alguns casos não existem diferenças significativas entre os produtos oriundos de diferentes sistemas de produção.

No que concerne às concentrações de substâncias bioativas, como é o caso dos compostos fenólicos, a maioria dos estudos realizados apresentam teor mais elevado em hortaliças provenientes de sistemas orgânicos de produção (NASSUR, 2009; ARBOS, 2010; LEME, 2012). Conforme Arbos et al. (2010) o sistema empregado no cultivo de hortaliças contribui, concomitante com o maior teor de compostos fenólicos, para uma mais efetiva atividade antioxidante das hortaliças orgânicas. Associados aos benefícios dos antioxidantes naturais presentes nesses vegetais, pesquisas mostram que alimentos orgânicos têm conquistado espaço no mercado consumidor (LEME, 2012). Em pesquisas realizadas com alfaces produzidas no Agreste Sergipano, Souza (2012) analisou alfaces dos grupos Lisa, Crespa e Americana oriundas de sistemas de produção orgânico e convencional. Verificou-se que o grupo Americana cultivada em sistema de produção orgânico apresentou teores de compostos fenólicos totais superiores quando comparada ao grupo Americana cultivada em sistema convencional, com teores de 12,18 mg D-catequina.g⁻¹ e de 5,20 mg D-catequina.g⁻¹, respectivamente, sendo a única variedade que apresentou diferença



significativa entre as médias dos tratamentos. As médias dos teores de compostos fenólicos totais em sistemas orgânicos, nos três grupos de alface analisados foram superiores quando comparados com as médias obtidas pelas amostras de alface cultivadas em sistema convencional.

Leme (2012) ao avaliar qualidade pós-colheita de pimentão cultivar Maximus produzidos em Brasília-DF em sistemas de cultivos orgânico e convencional, armazenados por 18 dias em ambiente refrigerado, verificou que os teores de compostos fenólicos totais foram influenciados pelos fatores sistemas de produção e tempo de armazenamento, separadamente. Frutos cultivados em sistema orgânico apresentaram maiores teores de compostos fenólicos ($90,35 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$) em relação aos cultivados convencionalmente ($77,36 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$). Quanto ao tempo de armazenamento, observou-se grande variação no teor de fenólicos totais, com picos máximos no 3° e 16° dias e mínimos ao 0, 9 e 18 dias de armazenamento. Nas condições edafoclimáticas do Distrito Federal, Nassur (2009) avaliou a manutenção da qualidade de frutos de tomate tipo italiano produzidos em sistemas orgânico e convencional. Dentre as características avaliadas, determinou compostos fenólicos totais utilizando o método de Folin-Denis. O autor verificou que o teor de fenólicos em tomates orgânicos, recém-colhidos, foi superior ao de tomates convencionais. Ao longo do armazenamento refrigerado, tomates orgânicos prevaleceram sobre os convencionais, quanto aos fenólicos, à exceção do 15° dia, quando nenhuma diferença foi verificada. Durante o armazenamento ambiente, diferenças estatísticas não foram notadas entre tomates orgânicos e convencionais, exceto a maior concentração de fenólicos em tomates orgânicos, aos 5 dias de armazenamento. O autor verificou ainda que a temperatura de armazenamento não influenciou, consistentemente, os níveis de fenólicos durante o armazenamento de tomates

orgânicos e convencionais.

Arbos (2009) quantificou o teor de fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu em alface (*Lactuca sativa*), rúcula (*Eruca sativa*) e almeirão (*Cichorium intybus* L.) cultivados em hortas experimentais orgânica e convencional do Campus Agrárias da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal. Os extratos obtidos das hortaliças provenientes de cultivo orgânico apresentaram teores de compostos fenólicos significativamente superiores aos extratos obtidos das hortaliças convencionais. Os resultados em ordem decrescente foram os seguintes: rúcula orgânica ($126,84 \pm 4,46 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$), alface orgânica ($108,72 \pm 2,34 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$), almeirão orgânico ($92,15 \pm 1,09 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$), alface convencional ($91,22 \pm 0,91 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$), rúcula convencional ($90,78 \pm 2,23 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$), e almeirão convencional ($81,04 \pm 3,64 \text{ mg EAG.100g}^{-1}$) (ARBOS, 2009). Os autores justificam que o maior teor desses bioativos em produtos orgânicos pode aumentar em função do tipo de adubação empregada na agricultura orgânica, esperando-se, portanto, que o teor de compostos fenólicos em alimentos produzidos organicamente seja superior aos convencionais (ARBOS, 2009; NASSUR, 2009).

As diferenças entre as amostras do sistema convencional e orgânico podem ser decorrentes de diversos fatores, como cultivares, estádios de maturação dos frutos, composição do solo, fertilização, condições climáticas e manejo (FERREIRA et al., 2010). Toor et al. (2006) pesquisaram a influência de diferentes tipos de fertilizantes convencionais sobre os principais componentes antioxidantes de tomates. Os autores verificaram que as fontes de adubos podem ter um expressivo efeito sobre a concentração destes compostos. Devido à maior disponibilidade de nitrogênio e ao maior crescimento das plantas adubadas com soluções minerais, a produção de metabólitos secundários, que estão envolvidos na defesa da planta, foi reduzida e esta



redução pode estar associada ao menor teor de compostos fenólicos observados para os frutos no sistema de cultivo convencional. Porém, os autores alegam que há a necessidade de estudos em escala comercial, para que seja possível a confirmação de tais resultados.

Soltoft et al. (2010) analisaram amostras de batata, cenoura e cebola de três diferentes localizações geográficas (Flakkebjerg, Foulum e Jyndevad), cultivadas em três diferentes sistemas agrícolas em todos os locais: um sistema convencional e dois sistemas orgânicos OA e OB, o primeiro contou com a utilização de esterco animal e no segundo o fornecimento de nutrientes foi baseado na utilização de culturas de cobertura. Os autores observaram que o teor do ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA), um fenólico predominante em batatas e cenouras, foi superior em batatas cultivadas no sistema OB. Os autores justificam que o maior teor de 5-CQA em batatas desse sistema de cultivo pode estar relacionado a um menor nível de potássio na fertilização em comparação com o sistema convencional. Os autores alegaram que não houve diferenças significativas no teor de ácidos fenólicos entre os sistemas convencional e orgânicos e que a capacidade das culturas selecionadas para sintetizar metabólitos secundários não foi sistematicamente afetada pelo sistema de cultivo e localizações geográficas.

Luthria et al. (2010) avaliaram a influência que práticas de agricultura orgânica e convencional exercem sobre o teor de fenólicos totais em amostras de berinjela de duas cultivares, Blackbell (berinjela Americana) e Millionaire (berinjela Japonesa), cultivadas em condições climáticas semelhantes, na cidade de Hanford - Califórnia. A determinação do conteúdo fenólico foi realizada por dois processos independentes, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e pelo método de Folin-Ciocalteu.

Os resultados das análises realizadas por HPLC mostraram uma significativa variação no teor do ácido 5-cafeoilquínico em berinjelas provenientes de plantas diferentes. Quando cultivadas em condições convencionais, o teor desse ácido em berinjelas da cultivar Blackbell variou de 2,24-8,30 mg/100 g, com média de 4,11 mg/100g de amostra. Cultivadas em sistema orgânico, o teor do ácido 5-cafeoilquínico variou de 1,36-4,04 mg/100 g, com média de 2,63 mg/100 g. Semelhante à cultivar Blackbell, grandes variações no teor do ácido 5-cafeoilquínico foram observadas em berinjelas da cultivar Millionaire coletadas em plantas diferentes. A análise de variância não mostrou diferença estatística no teor de ácido 5-cafeoilquínico entre amostras de berinjela cultivadas em ambientes orgânicos e convencionais. Os autores relatam que essa variação no teor de compostos fenólicos, pode ser atribuída a variações biológicas entre planta-a-planta e sua resposta aos fatores do meio ambiente, como a intensidade da luz, estresse e disponibilidade de nutrientes.

A determinação dos compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu mostrou também tendência semelhante, em comparação à quantificação de ácido 5-cafeoilquínico por análise de HPLC. Para a cultivar Blackbell, a média do conteúdo fenólico foi de 9,88 mg GAE/g e 8,90 mg GAE/g, para berinjelas convencionais e orgânicas, respectivamente. A tendência foi revertida com a cultivar Millionaire, onde amostras de berinjela cultivadas organicamente teve um maior teor de compostos fenólicos (13,64 mg GAE/g) quando comparado com amostras de berinjela cultivadas convencionalmente (11,61 mg GAE/g). A análise de variância mostrou diferença significativa no teor de compostos fenólicos de amostras de berinjelas provenientes de cultivos convencionais e orgânicos.

Em pesquisa realizada por Bavec et al. (2010) analisou-se o conteúdo de compostos fenólicos e outras características em beterrabas cultivadas no Centro



Universitário Agrícola da Universidade de Maribor, em sistemas agrícolas convencional, orgânico, integrado, biodinâmico e um sistema de produção controle. O teor de fenólicos totais foi determinado através de ensaio com o reagente Folin-Ciocalteu. Os autores observam que amostras do cultivo biodinâmico e controle apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos. O menor resultado foi encontrado nas amostras de beterrabas provenientes do cultivo convencional.

Algumas pesquisas indicam que existem diferenças relativas à qualidade, quando são considerados atributos como sabor, valor nutricional mediante comparação entre os alimentos produzidos em cultivos orgânicos e convencionais (FERREIRA, 2004; STERTZ, 2004; BORGUINI e SILVA, 2005; FAVARO-TRINDADE, 2007). No entanto, as evidências até o momento, não são suficientes para garantir que as frutas e hortaliças cultivadas sob o sistema orgânico sempre irão suplantar os valores nutricionais avaliados (ARBOS, 2009). Apesar de existir uma série de dados disponíveis sobre diferentes atributos dos alimentos produzidos no sistema orgânico e convencional, não é possível fazer uma comparação válida, devido a grande variabilidade de parâmetros que deveriam ser avaliados (ARBOS, 2009). Segundo Soltoft et al. (2010) para fazer comparações válidas entre vegetais produzidos em sistemas orgânicos e convencionais, importantes variações causadas por vários fatores, tais como localização geográfica e estação de crescimento devem ser incluídas para assegurar que as possíveis diferenças encontradas são sistemáticas e confiáveis, o que não é o caso da maioria dos estudos realizados.

Devido ao substancial aumento do interesse do consumidor pelos alimentos orgânicos, existe a necessidade de conhecer o alcance das bases científicas para as alegações de superioridade atribuídas aos produtos orgânicos (BORGUINI e TORRES, 2006). Desse modo, são fundamentais

que novas pesquisas que avaliem a qualidade dos alimentos orgânicos sejam desenvolvidas (ARBOS, 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As propriedades antioxidantes nos alimentos estão diretamente relacionadas com a presença dos compostos fenólicos, em especial os ácidos fenólicos e os flavonóides. Numerosos estudos revelam que os alimentos produzidos organicamente têm tendência a possuírem menor teor de nitrato, maior teor de vitamina C, matéria seca e compostos com ação antioxidante. Entretanto, com relação à qualidade nutricional para a maioria dos nutrientes, até o momento, não existe um consenso sobre a superioridade dos orgânicos em relação aos convencionais. Os estudos abordados demonstram que existem diversos fatores que podem contribuir com o teor de compostos fenólicos em hortaliças, como por exemplo, o sistema de cultivo empregado, composição do solo, fatores genéticos, condições ambientais, disponibilidade de nitrogênio, quantidade de irrigação e nutrientes recebidos, assim como a variedade da planta e o seu grau de maturação. Dessa forma, em pesquisas em que se comparam a quantidade de compostos fenólicos presentes em hortaliças oriundas de sistemas de cultivos convencionais e orgânicos, é fundamental o monitoramento do maior número de variáveis possíveis a fim de garantir resultados confiáveis e fidedignos. Diante do exposto, nota-se a necessidade de mais estudos que visam verificar a influência do tipo de cultivo e outros parâmetros importantes, possibilitando realizar comparações válidas entre os diferentes sistemas empregados e avaliar a real ação antioxidante desses alimentos.

REFERÊNCIAS

ALU'DATT, M. H.; RABABAH T.; EREIFEJ K, ALLI I. Distribution, antioxidant and characterization of



- phenolic compounds in soybeans, flaxseed and olives. *Food Chem.*, 139:93–99, 2013.
- ARBOS, K.A.; FREITAS, R.J.S.; STERTZ, S.C.; DORNAS, M.F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 30(2):501-506, 2010.
- ARBOS, K. A. Qualidade sanitária e nutricional de hortícolas orgânicas. 162f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2009.
- BACCHI, M. A.; FERNANDES, E. A. N.; TSAI, S. M.; SANTO, L. G. C. Conventional and organic potatoes: Assessment of elemental composition using k0-INAA. *J. Radioanal. Nucl. Ch.*, 259(3): 421-424, 2004.
- BARRETT, D. M.; WEAKLEY, C.; DIAZ J.V.; WATNIK M. Qualitative and nutritional differences in processing tomatoes grown under commercial organic and conventional production systems. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 72:441–451, 2007.
- BAVEC, M.; TURINEK, M.; GROBELNIK-MLAKAR, S.; LATNAR, A.; BAVEC, F. Influence of Industrial and Alternative Farming Systems on Contents of Sugars, Organic Acids, Total Phenolic Content, and the Antioxidant Activity of Red Beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* Rote Kugel). *J. Agr. Food Chem.*, 58(22): 11825–11831, 2010.
- BORGUINI, R. G.; SILVA, M. V. Características físico-químicas e sensoriais do Tomate (*Lycopersicon esculentum*) produzido por Cultivo orgânico em comparação ao convencional. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr.*, Araraquara, 16(4): 355-361, 2005.
- BORGUINI, R.G.; TORRES, E.A.F.S. Alimentos orgânicos: qualidade nutritiva e segurança do alimento. *Segur. Aliment. Nutr. Campinas*, 13(2):64-75, 2006.
- CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 74(17):2157-2184, 2004.
- CAVALCANTE, A.C.R.; HOLANDA JÚNIOR, E.V.; SOARES, J.P.G. Produção orgânica de caprinos e ovinos. Sobral: Embrapa Caprinos, 40, 2007.
- CHUNG, I. et al. Effect of processing, fermentation, and aging treatment to content and profile of phenolic compounds in soybean seed, soy curd and soy paste. *Food Chem.*, 127:960–967, 2011.
- CONTESSA, C. et al. Total antioxidant capacity and total phenolic and anthocyanin contents in fruit species grown in Northwest Italy. *Sci. Hort.* 160:351–357, 2013.
- DAROLT, M. R. Comparação da Qualidade do Alimento Orgânico com o Convencional In: STRIGHETA, P.C & MUNIZ, J.N. Alimentos Orgânicos: Produção, Tecnologia e Certificação. 1 ed. Viçosa : Universidade Federal de Viçosa - UFV, p. 289-312, 2003.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*, Curitiba, 5 (1):33-40, 2004.
- DEGL'INNOCENTI, E.; TOGNONI, F.; PARDOSSI, A.; GUIDI, L. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut products. *Food Chem.*, 104(3):209–215, 2007.
- DIPEOLU, A. O.; AKINBODE, S. O. Consumer Perceptions of Organic Produce in Abeokuta in OLASANTAN, F.O.; AIYELAAGBE, I.O.O.; OLOWE, V.I.O. Organic Agriculture for sustainable food security. In: National conference on organic agriculture in Nigeria, 1., Nigeria. Anais. p. 191-196, 2005.
- DIPEOLU, A. O.; AKINBODE, S. O. Comparative Economic Analysis of Organic and Inorganic Vegetable Production in Ogun State in OKOGUN, J.A.; ADEOLUWA, O. O.; ADEDIRAN, J.A. In: National Conference on Organic Agriculture in Nigeria, 2., Nigeria. Anais. p. 24-29, 2006,
- ERKAN, N. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L.



Food Chem., 133:775–781, 2012.

FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. Food Res. int.42: 210-215, 2009.

FAO - Food and Agriculture Organization of The United Nations, 2008. Disponível em: <faostat.fao.org> Acesso em: 15 de Agosto de 2013.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; MARTELLO, L.S.; MARCATTI, B.; MORETTI, T.S.; PETRUS R.R.; ALMEIDA, E.; FERRAZ, J.B.S. Efeito dos Sistemas de Cultivo Orgânico, Hidropônico e Convencional na Qualidade de Alface Lisa. Braz. J. Food Technol.,10:(2):111-115, 2007.

FERREIRA, S.M.R.; et al. Qualidade do tomate de mesa cultivado nos sistemas convencional e orgânico. Ciênc. Tecnol. Aliment. 30(1), 224-230, 2010.

GUZMÁN, G.C.; GONZÁLEZ, M.M. Preindustrial agriculture versus organic agriculture. The land cost of sustainability. Land Use Policy, 26(2):502-510, 2009.

HAAS, G. The Organic Agriculture Approach in Organic Agro Expertise. Agosto, 2008. Disponível em: <www.agroexpertise.de>. Acesso em: 15 de Agosto 2013.

HOEFKENS, C.; Vandekinderen, I.; De Meulenaer, B.; Devlieghere, F.; Baert, K.; Sioen, I.; De Henauw, S.; Verbeke, W.; Van Camp, J. A literature-based comparison of nutrient and contaminant contents between organic and conventional vegetables and potatoes. Br. J. Nutr. 111: 1078–1097, 2009.

HSU, C.Y.; CHAN, Y.P.; CHANG, J. Antioxidant activity of extract from Polygonum cuspidatum. Braz. J. Med. Biol. 40:13-21, 2007.

IGNAT, I.;VOLF I.; POPA V.I.A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chem.,126:1821-1835, 2011.

ISMAIL, A.; MARJAN; Z. M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. Food Chem., 87(4):581-586, 2004.

KOH, E. et al. Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. J. Food Compost. Anal., 22:637-643, 2009.

LAIRON, D. Nutritional quality and safety of organic food. A review. Agron. Sustain. Dev., 30(1): 33-41, 2010.

LEJA, M.; MARECZEK, A.; BEN, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. Food Chem., 80:303-307, 2003.

LEME, S.C. Qualidade pós-colheita de pimentões produzidos em sistema orgânico. 116f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2012.

LOMBARDO, S; PANDINO, G.; MAUROMICALE, G. Nutritional and sensory characteristics of “early” potato cultivars under organic and conventional cultivation systems. Food Chem., 133:1249-1254, 2012.

LUNA, M.C. et al. Long-term deficit and excess of irrigation influences quality and browning related enzymes and phenolic metabolism of fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). Postharvest. Biol. Technol., 73:37-45, 2012.

LUTHRIA, D.;SINGHB, A.P.; WILSON, T.; VORSA, N.; BANUELOS, G.S.; VINYARDE, D. T. Influence of conventional and organic agricultural practices on the phenolic content in eggplant pulp: Plant-to-plant variation. Food Chem., 121:406-411, 2010.

MACHADO, F.; CORAZZA, R. Desafios tecnológicos, organizacionais e financeiros da agricultura orgânica no Brasil. Rev. Fac. Cienc. Econ., 26(4):21-40, 2004.

MAGKOS, F.; ARVANITI, F.; ZAMPELAS, A. Organic food: nutritious food or food for thought? A review of the evidence. Int. J. Food Sci. Nutr., 54(5): 357-71, 2006.

MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S. Comparative studies



- of four different phenolic compounds on *in vitro* antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chem.*, 119: 123–132, 2010.
- McLEAN, J.A.; KARADAS, F.; SURAI, P.F.; MCDEVITT, R.M.; SPEAKE, B.K. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 141:366–372, 2005.
- MELO, E. A.; MANCINI FILHO, J.; GUERRA, N. B. Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (*Coriandrum sativum* L.). *Lebensmittel-Wissenschaft e Technologie*, 38(1):15–19, 2005.
- MELO, E. A. MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 26(3):639–644, 2006.
- MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; SANTANA, A.P.M. Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. *Nutrire: J. Braz. Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, 34(1): 85–95, 2009.
- MIGUEL, G. SIMÕES, M.; FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; PEDRO, L.G.; CARVALHO, L. Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespitosus*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. *Food Chem.*, 86(2): 183–188, 2004.
- MIRNAGHI, F.S.; MOUSAVI, F.; ROCHA, S.M.; PAWLISZYN, J. Automated determination of phenolic compounds in wine, berry, and grape samples using 96-blade solid phase microextraction system coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1276:12–19, 2013.
- MITCHELL, A.E.; HONG, Y.J.; KOH, E.; BARRETT, D.M.; BRYANT, D.E.; DENISON, R.F.; KAFFKA, S. Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 55:6154–6159, 2007.
- MORENO, M.; ARRIBAS, A.S.; BERMEJO, E.; ZAPARDIEL, A.; CHICHARRO, M. Analysis of polyphenols in white wine by CZE with amperometric detection using carbon nanotube-modified electrodes. *Electrophoresis*, 32: 877–883, 2011.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 41:1523–1542, 2006.
- NASSUR, R. Qualidade pós-colheita de tomates tipo italiano produzidos em sistema orgânico. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2009.
- O’CONNELL, J.E.; FOX, P.F. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *Int. Dairy J.*, 11:103–120, 2001.
- OLIVEIRA, C.S. Propriedades Químicas e Sensoriais de Cacau de Cultivo Orgânico e Convencional da Região Sul da Bahia. 145 f. Dissertação – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Salvador. 2009.
- PIMENTEL, D.; HEPPELY, P.; HANSON, J.; DOUDS, D.; SEIDEL, R. Environmental, energetic, and economic comparisons of organic and conventional farming systems. *BioScience*, 55:573–582, 2005.
- POPA, V.I.; Dumitrua, M.; Volf, I.; Anghel, N. Lignin and polyphenols as allelochemicals. *Ind. Crops Prod.*, 27:144–149, 2008.
- RAMOS, A. et al. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 87(2–3): 241–246, 2003.
- SABA, A.; MESSINA, F. Attitudes towards organic foods and risk/benefit perception associated with pesticides. *Food Qual. Prefer.*, 14:637–645, 2003.
- SCHAFFER, S.; SCHMITT-SCHILLIG, S.; ECKERT, G.



- P. Antioxidant properties of mediterranean food plant extracts: geographical differences. *J. Physiol. Pharmacol.*, 56(1):115-124, 2005.
- SEVERO, J.GALARÇA, S.P.; CANTILLANO, R.F.F.; ROMBALDI, C.V.; SILVA, J.A.; AIRES, R.F. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. *Braz. J. Food Technol.*, 2(1):65-70, 2009.
- SIGER, A.; CZUBINSKI, J.; KACHLICKI, P.; DWIECKI, K.; LAMPART-SZCZAPA, E.; NOGALA-KALUCKA, M. Antioxidant activity and phenolic content in three lupin species. *J. Food Compost. Anal.*, 25:190-197, 2012.
- SIKORA, E.; CIEŚLIK, E.; LESZCZYŃSKA, T.; FILIPIAK-FLORKIEWICZ, A.; PISULEWSKI, P.M. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chem.*, 107: 50-55, 2008.
- SLIMESTAD, R.; VERHEUL, M. Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars. *J. Sci. Food Agric.*, 89:1255-1270, 2009.
- SOLTOFT, M.; Nielsen, J.; Holst Laursen, K.; Husted, S.; Halekoh, U.; Knuthsen, P. Effects of Organic and Conventional Growth Systems on the Content of Flavonoids in Onions and Phenolic Acids in Carrots and Potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 58(19):10323-10329, 2010.
- SOUZA, A.L.G. Efeitos dos sistemas de produção orgânico e convencional na qualidade nutricional de alface dos grupos Lisa, Crespa e Americana. 80f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, 2012.
- STERTZ, S.C. Qualidade de hortícolas convencionais, orgânicas e hidropônicas na região metropolitana de Curitiba, Paraná. 260f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2004.
- STERTZ, S. C.; ROSA, M.I.S.; FREITAS, R.J.S. Qualidade nutricional e contaminantes da batata (*Solanum tuberosum* L., *Solanaceae*) convencional e orgânica na região metropolitana de Curitiba – Paraná. *Boletim do CEPPA*, 23(2):383-396, 2005.
- TOOR, R.K.; SAVAGE, G. P.; HEEB, A. Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes. *J. Food. Compost. Anal.*, 19(1):20-27, 2006.
- VALLVERDÚ-QUERALT, A. et al. Is there any difference between the phenolic content of organic and conventional tomato juices? *Food Chem.*, 130:222-227, 2012.
- YU, F. et al. Antioxidant activities of crude tea polyphenols, polysaccharides and proteins of selenium-enriched tea and regular green tea. *Eur. Food Res. Technol.*, 225(5-6):843-848, 2007.



CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO

Antes de iniciar o processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade de todos os itens listados a seguir. Submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy* segue as regras dos “**Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos**” (Norma de Vancouver - <http://www.icmje.org>).

1. O manuscrito deve ser original e inédito e não estar sob revisão ou submetido para publicação em outra revista.
2. O texto não deve exceder 12 páginas incluindo as referências. Deve estar em espaço duplo, fonte Times New Roman 12, papel A4, margens direita, esquerda, superior e inferior de 3cm e páginas numeradas sem quebra.
3. As figuras, imagens, tabelas e cópias de documentos devem estar anexados individualmente em arquivos separados.
4. O preenchimento dos seguintes itens no formulário eletrônico é obrigatório: título, nome dos autores e suas respectivas afiliações e endereço de e-mail, resumo, *abstract*, palavras-chave e *key words*.
5. Indicação no formulário eletrônico do autor correspondente.
6. Indicação no formulário eletrônico da existência de conflito de interesse com algum revisor potencial.
7. Anexar a carta de encaminhamento do manuscrito ao Comitê Editorial contendo a justificativa da originalidade e importância do trabalho.

Serão aceitos trabalhos escritos em inglês ou português. Trabalhos submetidos em inglês terão preferência e deverão ter título e resumo também em português.

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

Toda e qualquer identificação de autoria do manuscrito deverá ser inserida somente no formulário eletrônico.

A redação do manuscrito deverá ser feita em uma única coluna.

Cada item - título, resumo, introdução, metodologia, resultados, discussão, conclusões e referências bibliográficas - deverá ser inserido ou iniciado em páginas separadas.

A organização do manuscrito deverá ser de acordo com as instruções a seguir:

1. Título deverá ser escrito em português e em inglês.

2. Resumo e Abstract, palavras-chave e keywords: O resumo deverá ter no máximo 260 palavras, contendo breve introdução que justifica a hipótese do trabalho, objetivo(s), principais métodos com detalhamento mínimo ao entendimento do trabalho realizado, resultados mais relevantes e conclusão.

3. Introdução: deverá apresentar breve revisão da literatura justificando a hipótese, relevância e inovação do trabalho. Informar os objetivos do trabalho no final da introdução.

4. Metodologia: Descrição de todos os métodos e protocolos utilizados, de modo a permitir sua reprodução. Deve conter informação do número de aprovação em comitês de ética de pesquisa em humanos e animais, quando for o caso. Para materiais biológicos e de origem natural devem ser informados a autorização de órgão competente. Ex: IBAMA para plantas coletadas em ambiente selvagem; registro no SISGEN para todos materiais biológicos. Citar as referências que deram origem a cada método e/ou informar que é método corrente e validado para o objetivo proposto. Os materiais deverão ser informados à medida que apareçam nos métodos. Para fármacos deverá ser usada a denominação genérica ou denominação IUPHAR e para reagentes químicos deverá ser usada a denominação IUPAC. O tratamento estatístico deverá ser detalhado informando o software usado.

5. Resultados: Deverão ser apresentados seguindo sempre que possível a ordem apresentada na metodologia, em sequência lógica que permita o entendimento da construção dos resultados para atender à hipótese do trabalho. Os dados apresentados no texto não devem repetir ou duplicar os resultados apresentados em figuras e tabelas. Sugere-se a descrição dos dados ressaltando aqueles mais relevantes. As figuras, tabelas e/ou imagens deverão ser enviadas em arquivos separados com numeração em algarismos arábicos de acordo com a sua citação no texto, apresentadas na ordem dos resultados. O formato utilizado poderá ser JPEG ou TIFF. Título das figuras e imagens deve ser colocado abaixo juntamente com suas legendas, quando for o caso. O título das tabelas deve estar acima da tabela e a sua legenda incluindo dados de abreviaturas e informações do teste estatístico, quando for o caso, abaixo da tabela.

6. Discussão: Pode vir junto ou separado do item resultados. Deve-se apresentar a relevância e inovação dos dados obtidos à luz da literatura.

7. Conclusões: Deve ser redigida ressaltando o cumprimento ou não dos objetivos.

8. Referências Bibliográficas: O estilo e formato das referências são baseados no Instituto Nacional

Americano de Normas e Estilo adaptado pela *National Library of Medicine NLM*, para seus bancos de dados. Os autores devem consultar: *Patrias K. Citing medicine: the NLM style guide for authors, editors, and publishers* [Internet]. 2nd. ed. Wendling DL, technical editor. ethesda (MD): *National Library of Medicine (US)*; 2007 [updated 2009 Jan 14]: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>. Recomenda-se dar preferência a citações de artigos já publicados em revistas e jornais indexados em bases de dados científicas, dando preferência a estudos originais e menos a artigos de revisões. Para dissertação e tese recomenda-se citar aquelas que já estejam disponíveis em repositórios. Recomenda-se não citar trabalhos apresentados em congressos, livros ou capítulos de livro. Serão aceitas no máximo 50 citações em todo o trabalho. No texto, as referências deverão ser citadas informando o sobrenome do primeiro autor seguido de et al. para três ou mais autores, e ano de publicação; ou a instituição, seguido do ano de publicação. Na lista de referências ao final informar o *link* com data de acesso para documentos institucionais digitais *on line*.

Agradecimentos e financiamento institucional: indicar nomes de pessoas que contribuíram em algum aspecto com o trabalho, mas que não participaram como autores. Informar as instituições financiadoras contendo número do projeto ou bolsa, quando for o caso.

Conflito de interesse: Informar a existência de conflito de interesse conforme orientação no item Políticas



Rua Urucuia, 48 - Floresta
Belo Horizonte/MG | CEP: 30150-060

www.crfmg.org.br
