



ACTA

Biologica Brasiliensis

ISSN online 2596-0016

Vol. II / Nº II
dez.2019



ACTA BIOLOGICA BRASILIENSIA

ISSN online 2596-0016



Publicação semestral do Conselho Regional de Biologia 4ª Região -
MG|GO|TO|DF

Av. Amazonas, 298 - 15º Andar - Centro - Belo Horizonte/MG CEP: 30.180-001

Acta Biologica Brasiliensia, Vol. 02, N° 02 dezembro de 2019

ACTA BIOLOGICA BRASILIENSIA

Editores Chefes

Afonso Pelli
Anderson Assunção Andrade
Evanguedes Kalapothakis
Fagner de Souza
Letícia da Conceição Braga
Raphael Ferreira Almeida
Thiago Metzker

Editores Associados

Christiane Contigli
João de Magalhães Lopes

Ano de início de publicação: 2018

Periodicidade: semestral

ISSN online 2596-0016

Acta Biologica Brasiliensia, Vol. 02, N° 02 dezembro de 2019

<http://www.crbio04.gov.br/>
actabiologica@crbio04.gov.br
Belo Horizonte/MG



MEIO AMBIENTE & BIODIVERSIDADE

- 4** AVALIAÇÃO DOS RISCOS NO TRABALHO DE COLETORES DE RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES NO MUNICÍPIO DE NANUQUE-MG
Andreia Alves Cândido Bonfim, Keilla Priscilla Amaral Santos, Giovanni Guimarães Landa, Rayssa Amorim Neris
- 16** IMPACTO DA POLUIÇÃO LUMINOSA NA ECLOSÃO DE *Phibalosoma phyllinum* Gray, 1835 (BICHO-PAU) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO
Thamires Manfrim, Afonso Pelli
- 25** EFICÁCIA DE UM PRÁTICO MODELO DE COVO NA CAPTURA DE QUELÔNIOS DULCÍCOLAS, COM SUGESTÃO DE PROTOCOLOS AMOSTRAIS
Adriano Lima Silveira, Sônia Helena Santesso Teixeira de Mendonça, Rodrigo de Oliveira Lula Salles, Marina Coelho Cruz Secco

SAÚDE

- 52** AVALIAÇÃO DE TIPAGEM SANGUÍNEA, TESTE GLICÊMICO E PRESSÃO ARTERIAL
Anna Clara Balbina Silva, Breno Pizzo Mathias, Joyce Pereira Takatsuka, Gabriel Antônio Nogueira Nascentes, Polyanna Miranda Alves
- 66** ENGENHARIA GENÉTICA, CRISPR E DOENÇAS CARDIOVASCULARES: A EDIÇÃO DE GENOMAS ROMPENDO FRONTEIRAS
Nayane Soares de Lima, Rômulo Moraes Azevedo, Aline Helena da Silva Cruz, Angela Adamski da Silva Reis, Rodrigo da Silva Santos
- 88** AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE ESPECIARIAS COMERCIALIZADAS NO ESTADO DE MINAS GERAIS
Lucimara Ferreira da Silva, Ludmila de Moraes e Silva, Nayara Mussi Monteze, Fernanda Meneghello Delvivo, Adriene Ribeiro Lima

AVALIAÇÃO DOS RISCOS NO TRABALHO DE COLETORES DE RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES NO MUNICÍPIO DE NANUQUE-MG

EVALUATION OF RISK IN THE WORK OF SOLID WASTE COLLECTORS IN THE MUNICIPALITY OF NANUQUE-MG

*Andreia Alves Cândido Bonfim, Keilla Priscilla Amaral Santos, Giovanni Guimarães Landa, Rayssa Amorim Neris

Centro Universitário de Caratinga – Campus de Nanuque. R. Nelício Cordeiro,S/N, Nanuque/MG, CEP: 39860-000 * andreia.a.c.bonfim@hotmail.com

RESUMO

O presente trabalho apresenta um estudo realizado com coletores de resíduos sólidos domiciliares da cidade de Nanuque-MG, sendo o objetivo principal analisar quais são os acidentes mais sofridos pelos coletores e calcular o volume de resíduos gerados por cada habitante. A metodologia utilizada para a elaboração do presente estudo foi através de entrevista com funcionários/técnicos da empresa responsável pela coleta de resíduos sólidos do município de Nanuque. Nesta entrevista foi solicitado dados como: número de funcionários responsáveis pela limpeza das ruas e coleta de resíduos; frequência da coleta; rota percorrida pelos coletores; quantidade de resíduos coletados; os acidentes mais ocorridos com os coletores de resíduos domiciliares. Os dados obtidos serviram para determinar o volume de resíduos gerado por habitante com base na NBR 10.004/2004 e verificar os acidentes que mais ocorrem com esses profissionais. Através desta pesquisa foi observado que os acidentes mais comuns são as dores de coluna, alergias e os respectivos acidentes com objetos perfurocortantes, quedas e escorregões.

PALAVRAS-CHAVE: Acidentes de Trabalho, Coleta de Resíduos, Limpeza Urbana

ABSTRACT

The present work presents a study carried out with collectors of home solid residues of the city of Nanuque-MG, being the main objective being to analyze which are the most suffered accidents by the collectors and calculate the volume of waste generated by each inhabitant. The methodology used for the elaboration of the present study was through an interview with employees / technicians of the company responsible for the solid waste collection of the municipality of Nanuque. In this interview was requested data such as: number of employees responsible for street cleaning and waste collection; frequency of collection; route traveled by collectors; amount of waste collected; the most frequent accidents with the collectors of household residues. The data obtained served to determine the volume of waste generated per inhabitant based on NBR 10.004 / 2004 and to verify the accidents that occur most with these professionals. Through this research it was



observed that the most common accidents are spine pains, allergies and the respective accidents with sharp objects, falls and slides.

KEYWORDS: Accidents at Work, Waste Collection, Urban Cleaning

INTRODUÇÃO

O consumo e a busca por produtos industrializados estão se tornando cada vez mais frequentes, acarretando grandes quantidades de resíduos, sendo que a grande maioria é considerada descartável, e com isso vem ocasionando um dos maiores problemas hoje enfrentados pela sociedade que é a coleta e a disposição final destes resíduos. A produção e a destinação dos resíduos sólidos podem ser avaliadas como um dos maiores problemas urbanos na atualidade. O acréscimo da produção para atender as demandas provocadas pelo aumento da população e do consumo causa um aumento considerável de resíduos sólidos, sendo que o volume expressivo desses resíduos e a forma de manuseio, armazenamento, transporte e descarte inadequados causam graves impactos ambientais, sociais e econômicos.

Habitualmente, estes profissionais são solicitados para atender a diferentes objetivos, tais como os interesses da empresa, o bem-estar da comunidade, e até mesmo o próprio objetivo pessoal. Para garantir o cumprimento dessas “exigências”, os trabalhadores lidam com situações adversas como o tempo (clima), a qualidade e segurança do trabalho, as estratégias e regulações das atividades, e ainda se faz necessário manter uma carga de trabalho aceitável no fim da jornada diária⁽¹⁾.

Os profissionais desta área estão diariamente trabalhando a céu aberto e em contato direto com resíduos que são habitualmente mal acondicionados, contendo assim objetos cortantes, perfurantes, corrosivos e com excesso de peso que pode provocar lesões em diversos locais do corpo, onde por sua vez também fazem um ritmo acelerado junto ao veículo coletor, carregando vários sacos de resíduos ao mesmo tempo, segurando-os pelas mãos, elevando desta maneira a possibilidade de lesões, alterações musculares ou problemas relacionados à coluna vertebral.

De acordo com Oliveira *et al.*⁽²⁾, dentre os riscos a que estão expostos os “garis”, podemos citar por exemplo, os riscos químicos (poeira, névoa, gases,

substâncias químicas tóxicas), riscos físicos (umidade, calor, frio, ruídos), riscos biológicos (animais transmissores de doenças), ergonômicos (levantamento de peso em excesso, correr atrás do caminhão) e os acidentes (atropelamento, quedas, cortes com materiais perfurocortantes). Sendo que o contato frequente com agentes nocivos à saúde, torna a coleta do resíduo uma das atividades profissionais mais arriscadas e insalubres⁽³⁾.

Os efeitos adversos dos resíduos sólidos no meio ambiente, na saúde coletiva e na saúde do indivíduo são reconhecidos por diversos autores^(4,5,6), que apontam as deficiências nos sistemas de coleta e disposição final e a ausência de uma política de proteção à saúde do trabalhador, como os principais fatores geradores desses efeitos.

Apesar desse reconhecimento, são escassos os estudos e pesquisas realizados no Brasil e na América Latina sobre o assunto, como bem salienta Ferreira e Anjos⁽⁷⁾ que também atribuem isso como sendo consequência do fato de existirem poucos centros de pesquisas que tratam das questões dos resíduos sólidos municipais e, na maioria das vezes, os trabalhos não incorporam, o fato da saúde.

Dentro das atividades de limpeza urbana, a coleta domiciliar é a que mais acarreta acidentes e doenças ocupacionais, pois esta é uma atividade realizada normalmente em condições precárias de segurança e as mais variadas situações de risco. Apesar de provocar um alto índice de acidentes e doenças ocupacionais, este assunto deveria ser mais explorado pelas autoridades, pois é necessário que seja criada uma solução que minimize os fatores que levam a ocorrência de eventos (acidentes) para garantir a segurança e saúde do gari e a redução dos impactos socioambientais.

Partindo dessas premissas o presente estudo objetivou-se analisar quais são os acidentes mais sofridos pelos coletores de resíduos domiciliares na cidade de Nanuque – MG e calcular o volume de resíduos gerado por cada habitante.

METODOLOGIA

Área de Estudo

O município de Nanuque - MG (Fig. 1) localiza - se na bacia do Rio Mucuri, fazendo divisa com o estado da Bahia e do Espírito Santo. Segundo dados do IBGE ⁽⁸⁾ a população estimada para o ano de 2016 é de 41.808, sendo que em 2010 foram registrados 40.834 habitantes e a região de Nanuque possui uma área de 1.517,941 km².

Coleta dos dados

A coleta de dados foi realizada através de entrevista com funcionários/técnicos da empresa responsável pela coleta de resíduos sólidos do município de Nanuque. Nesta entrevista foi solicitado dados como: número de funcionários responsáveis pela limpeza das ruas e coleta de resíduos; frequência da coleta; rota percorrida pelos coletores; quantidade de resíduos coletados; os acidentes mais ocorridos com os coletores de resíduos domiciliares.



Figura 1. Localização da cidade de Nanuque – MG.

RESULTADOS

De acordo com a empresa prestadora de serviços de limpeza e coleta dos resíduos sólidos do município de Nanuque, são 14 funcionários responsáveis pela varrição das ruas, 03 motoristas dos caminhões compactadores e 12 responsáveis pela coleta.

A coleta dos resíduos sólidos na cidade de Nanuque é realizada por bairros, de acordo com a rota/área estabelecida (Figura 2): a área delimitada pela cor amarela são os bairros onde a coleta é realizada terça, quinta e sábado, a parte em azul são coletados na segunda, quarta e sexta e a parte em vermelho se refere ao centro da cidade e são coletados todos os dias da semana.

No município de Nanuque são coletados diariamente cerca de 39 toneladas de resíduos domiciliares, resultando em aproximadamente 600 toneladas ao mês, valor este que sofre variação. A empresa que presta serviços à cidade é responsável por coletar todo o resíduo proveniente das atividades realizadas pelos moradores. O produto da coleta diária é descartado em um aterro controlado que se localiza aproximadamente a 5 km de distância do centro da cidade.

De acordo com os dados levantados pode-se calcular o volume de resíduos sólidos gerado por cada habitante. Para Calderoni (2003)⁽⁹⁾, o cálculo para obter o índice de resíduo sólido por habitante (Kg) é obtido por meio da divisão da quantidade de resíduo sólido coletado por dia pela população urbana local e com a realização deste cálculo obteve-se que cada habitante gera em torno de 0,95 Kg/hab/dia, na cidade de Nanuque.

$$\text{Geração per capita} = \frac{\text{Pesos Kg por dia}}{\text{N}^{\circ} \text{ de hab.}}$$



Figura 2. Área percorrida pelos caminhões coletores.

A análise dos acidentes desses trabalhadores (coletores) é uma tarefa complexa e exige um envolvimento e comprometimento do pesquisador, pois a investigação no local de trabalho por sua vez se torna difícil. Os riscos observados são diversos, porém procuramos relatar de modo geral os que ocorrem com maior frequência. De acordo com os dados levantados através de pesquisa de campo, pôde-se obter como resultados os seguintes dados da Figura 3.

Conforme mostrado na Figura 3, os acidentes que mais ocorreram com os coletores de resíduos domiciliares na cidade de Nanuque - MG são os relacionados à problemas de coluna (50%), devido ao excesso de peso que estes trabalhadores carregam no decorrer do dia, assim como descer e subir do caminhão, 36% dos funcionários sofrem com doenças relacionadas às alergias, devido à exposição de agentes agressivos que provoca estes sintomas e 14% está relacionado aos acidentes ocorridos como quedas, cortes e escorregões, pois estes profissionais fazem um ritmo acelerado junto ao veículo coletor.

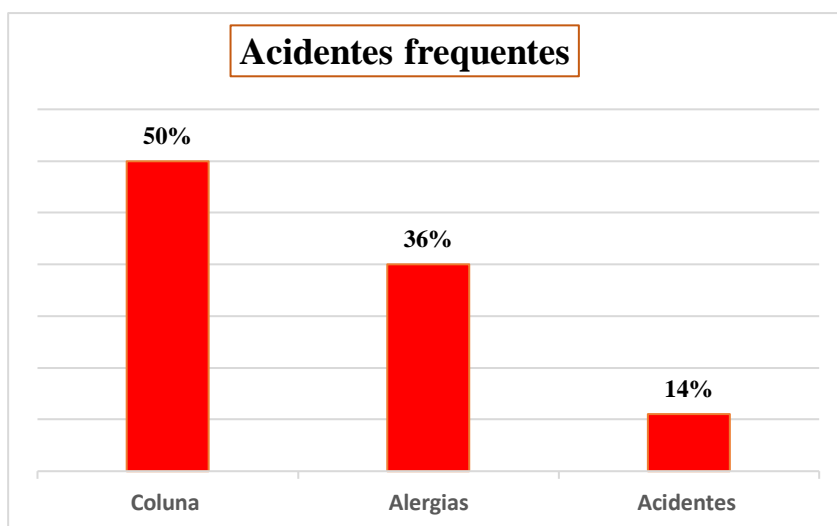


Figura 3. Acidentes frequentes com coletores de resíduos domiciliares na cidade de Nanuque-MG

Percebeu-se neste estudo que todas as atividades desenvolvidas pelos garis os expõem de certa forma aos riscos ocupacionais mencionados acima; porém, cabe ressaltar que, os com maior incidência são os problemas ergonômicos (excesso de peso), riscos devido a presença de micro-organismo causadores de micose, doenças de pele e as alergias e os acidentes devido objetos perfuro-cortantes, quedas entre outros.

De acordo os dados obtidos junto à empresa prestadora de serviços, através da rota dos caminhões coletores, a área que mais produz resíduos é o centro da cidade, pois além de comercio há muitas residências. Devido o relevo da cidade de Nanuque ser bastante acidentado e com muitos morros e vias não pavimentadas, esse fato pode contribuir também para acidentes como quedas e escorregões, visto o acelerado ritmo.

DISCUSSÃO

Segundo a Associação Brasileira de Empresas de Limpeza - ABRELPE (2013)⁽¹⁰⁾, a variável “população urbana” é utilizada para a predição das variáveis de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) no Brasil e em cada uma de suas regiões e

estados. Assim sendo, considera-se a coleta *per capita* (Kg/habitante/dia) tendo-se como base sua relação com o tamanho do município. Tal procedimento não se trata de uma regra, mas sim de uma tendência, uma vez que existem municípios com população pequena e alta coleta per capita e vice-versa. Os resíduos podem também ser considerados como importante indicador socioeconômico, tanto por sua quantidade como também pela sua caracterização.

A NBR 10.004/2004⁽¹¹⁾ dispõe sobre resíduos sólidos e suas classificações, nesta referida legislação aborda claramente que a quantidade de lixo produzido por um único habitante deve estar entre 0,5 e 1 kg por hab/dia, sendo assim podemos dizer que a cidade de Nanuque-MG está dentre dos padrões, produzindo em média 0,95 Kg/hab/dia. Esta também classifica e normatiza os resíduos oriundos de hospitais, residências, indústrias, entre outros. Segundo esta norma, os resíduos sólidos podem ser definidos como: "Resíduos nos estados sólido e semi-sólido", que resultam de atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição.

Ainda de acordo com a norma NBR 10.004/2004⁽¹¹⁾, os resíduos são classificados como:

- Resíduos Classe I – Perigosos: “aqueles que apresentam periculosidade ou características como inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade, patogenicidade”. Pode-se citar como tintas, solventes, lâmpadas fluorescentes, pilhas como alguns exemplos para este tipo de resíduo.
- Resíduos classe II – Não perigosos: estes resíduos podem ser divididos em duas outras classes:
 - Resíduos classe II A – Não inertes: “são aqueles resíduos que não são enquadrados nem como resíduos perigosos (Classe I) e nem como resíduos inertes (Classe II B), podendo apresentar propriedades como biodegradabilidade, combustibilidade ou solubilidade em água”. Pode-se citar como exemplos: matérias orgânicas, papéis, lodos, entre outros.

- Resíduos classe II B – Inertes: “são resíduos que se amostrados de forma representativa através da NBR 10.007 e submetidos a um contato dinâmico e estático com água destilada ou deionizada, à temperatura ambiente, de acordo com a NBR 10.006, não tiverem nenhum de seus constituintes solubilizados as concentrações superiores aos padrões de potabilidade de água, excetuando-se o aspecto cor, turbidez, dureza e sabor”. Como exemplos citam-se: entulhos, materiais de construção e tijolos.

Sendo assim percebe-se então que os coletores estão sujeitos ao contato íntimo com resíduos oriundos das mais diversas atividades humanas. Como realizam seu trabalho a “céu aberto” encontram-se submetidos às radiações solares, à umidade ou climas secos, ao trânsito existente no horário de trabalho, à mordedura de animais soltos nas ruas, às variações de temperatura, entre outros tipos de agentes agressores como argumenta Silveira *et al.*⁽¹²⁾.

Segundo estudos bibliográficos, os trabalhadores de coleta de resíduos sólidos domiciliares ficam expostos a ruídos (próprio caminhão e trânsito), onde a utilização de protetor auricular seria uma zona de conformo para esta classe trabalhadora.

As Normas Regulamentadoras são documentos descritos pelo Ministério do Trabalho visando à regulamentação e padronização dos preceitos de Segurança e Medicina do Trabalho, mencionadas no Capítulo V, Seção I, Art. 155, Título II da CLT, e aprovadas pela Portaria 3.214 de 1978⁽¹³⁾.

Em virtude do nível de informações oficiais disponíveis durante a pesquisa, assim como a própria temática abordada, optou-se em considerar a Norma Regulamentadora NR6.

A norma regulamentadora NR6 trata-se quanto ao uso do EPI (Equipamento de Proteção Individual), onde fica definido que a empresa é obrigada a fornecer aos empregados os EPI's adequados ao risco do trabalho, eles devem estar em perfeito estado de conservação e funcionamento, a fim de resguardar a saúde, a segurança e a integridade física dos trabalhadores. Todo EPI entregue ao empregado deve estar de acordo com avaliação do SINMETRO – Certificado de Aprovação, além de

prover treinamentos para os trabalhadores sobre utilização e principalmente orientações gerais acerca da necessidade de comunicação entre empregador e empregado sobre o equipamento de segurança quanto a sua procedência, dúvidas, trocas, entre outros⁽¹⁴⁾.

Segundo Anjos e Ferreira⁽⁷⁾, Veloso *et al.*⁽¹⁵⁾ e Costa⁽¹⁶⁾ apontam que o excesso de peso é frequente na rotina de trabalho dos garis, e o ritmo das atividades é acelerado e ininterrupto. Somam-se a esses fatores o esforço de descer e subir ladeiras e vibração dos caminhões de coleta, que também contribuem para o desenvolvimento desses agravos. Durante o desenvolvimento do presente artigo, percebeu-se que as características supracitadas acima, são comuns nas vidas dos agentes de coleta que trabalham na cidade de Nanuque – MG.

CONCLUSÃO

De acordo com o estudo realizado em campo, através de entrevista e também com pesquisas bibliográficas, pode-se concluir que o volume de resíduos produzidos pela população se encontra dentro do estabelecido pela legislação, não ultrapassando assim o seu limite. Quanto aos acidentes ocorridos com estes profissionais, os que possuem maior frequência são as dores de coluna devido ao excesso de peso que eles carregam no decorrer do dia. Os demais riscos não ocorrem com frequência com os coletores de resíduos domiciliares da cidade de Nanuque-MG.

Sendo assim pode-se afirmar que o trabalho dos garis afeta drasticamente a sua saúde devido às condições inadequadas de trabalho, pelas atividades que são realizadas a céu aberto e pela falta de educação da população com relação ao acondicionamento do resíduo. Através desta pesquisa pôde-se analisar a real situação da cidade de Nanuque, e com isso perceber que o primeiro passo para se reduzir os acidentes é diminuir a geração de resíduos domiciliares e trabalhar a conscientização da população e implantação do sistema de coleta seletiva.

REFERÊNCIAS

- (1) Souza Junior, A. M.; Irber, F. M. V. F.; Neto, F. F. S.; Gurgel, J. L. M.; Gama, R. A. P. 2010. Análise ergonômica do trabalho e aplicação do método rula: um estudo de caso no serviço de limpeza de logradouros públicos. Disponível em <http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/63/Artigos/ENE GEP%202010/ene_ gep_2010_TN_WIC_116_763_15535.pdf> Acessado em: 05 de Setembro. 2016.
- (2) Oliveira, A. P. S. de; Zandonadi, F.B.; Castro, J.M. de. 2012. Avaliação dos riscos ocupacionais entre trabalhadores da coleta de resíduos sólidos domiciliares na cidade de Sinop/MT – um estudo de caso. Sinop. s/d. Disponível em: <segurançanotrabalho.eng.br/artigos/ressol.pdf>. Acessado em 29 de Agosto. 2016.
- (3) Yang, C.; Chang, W.; Chuang, H.; Shang-Shyue, T.; Wu, T.; Sung, F. Adverse health effects among household waste collectors in Taiwan. Environmental. 2001.
- (4) Accurio, G.; Rossin, A.; Teixeira, P. F.; Zepeda, F. Diagnóstico de La Situación del Manejo de Residuos Sólidos Municipales en América Latina y El Caribe. Serie Ambiental. 1998, vol. 18.
- (5) Leite, V. D.; Lopes, W. S. Avaliação dos Aspectos Sociais, Econômicos e Ambientais Causados pelo Lixão da Cidade de Campina Grande. In: IX SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. Anais... Porto Seguro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.
- (6) Maglio, I. C. Gestão Ambiental dos Resíduos Sólidos - O Papel dos Municípios. In: 9º SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Anais... Porto Seguro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.
- (7) Ferreira, J.F.; Anjos; L. A. 2001. Aspectos da saúde coletiva e ocupacional associados à gestão dos resíduos sólidos municipais. Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro, (17): 3, 689-696.
- (8) IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Disponível em<<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=314430&search=minas-gerais|nanuque|infograficos:-informacoes-completas>> acessado em 15 de setembro as 16:47.
- (9) Calderoni, S. Os bilhões perdidos no lixo. 4a. edição. São Paulo: Humanitas/FFCH/USP. 2003.

- (10) ABRELPE (2013). Panorama de Resíduos Sólidos no Brasil. Disponível em:
http://www.wtert.com.br/home2010/arquivo/noticias_eventos/Panorama2010.pdf. Acesso em 22 de dezembro as 11:28.
- (11) ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR – 10.004: Resíduos sólidos - classificação. ABNT, 2004. Acessado em 21 de dezembro às 21:00.
- (12) Silveira, E. A.; Robazzi, M. L. C.; Luiz, M. A.V. 1998. Varredores de rua: acidentes ocorridos na cidade de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Latinoam. Enfermagem, Ribeirão Preto, (6):1, 71-79.
- (13) BRASIL (1978). Portaria n° 3.214, de 8 de junho de 1978. Disponível em: <<http://www3.dataprev.gov.br/sislex/paginas/63/mte/1978/3214.htm>> Acesso em: 02 Setembro. 2016.
- (14) BRASIL (1978). Norma Regulamentadora N° 06 – Equipamento de Proteção Individual, de 08 de junho de 1978. Disponível em: <[http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C812D36A2800001388130953C1EFB/NR-06%20\(atualizada\)%202011.pdf](http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C812D36A2800001388130953C1EFB/NR-06%20(atualizada)%202011.pdf)> Acessado em: 01 Setembro. 2016.
- (15) Velloso, M. P.; Santos, E. M.; Anjos, L. A. 1997. Processo de trabalho e acidentes de trabalho em coletores de lixo domiciliar na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Cad. Saúde Públ., Rio de Janeiro, (13):4, 693-700.
- (16) Costa, M. A. Condições de Trabalho dos Coletores de Lixo Domiciliar, no município do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da Universidade Estadual Rio de Janeiro. 2007.

IMPACTO DA POLUIÇÃO LUMINOSA NA ECLOSÃO DE *Phibalosoma phyllinum* Gray, 1835 (BICHO-PAU) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

IMPACT OF LIGHT POLLUTION ON THE HATCHING OF Phibalosoma phyllinum Gray, 1835 (WALKING STICKS) UNDER LABORATORY CONDITIONS

Thamires Manfrim, *Afonso Pelli

Instituto de Ciências Biológicas e Naturais. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Av. Frei Paulino, 30. Uberaba/MG. CEP 38025-180 *
apelli@terra.com.br

RESUMO

A poluição luminosa é definida por um uso inadequado da iluminação artificial. Afeta a qualidade de vida e o bem-estar das populações. *Phibalosoma phyllinum* é um bicho-pau que possui hábito noturno e como nos outros animais a luz natural é responsável pelo ritmo circadiano. O objetivo desse trabalho foi criar insetos em condições controladas e verificar se a poluição luminosa poderia alterar parâmetros populacionais. Ovos de *P. phyllinum* foram separados em três grupos: controle (GC), Grupo 1 e Grupo 2. Cada Grupo Experimental (GE) foi exposto à condições ambientais diferentes e era constituído por 3 caixas. Foram utilizadas nove caixas de papelão, com tamanho e formato aproximado de 30 x 15 x 8 cm, com tampa de sombrite. Em cada caixa foram colocados 30 ovos. As observações aconteceram três vezes na semana, no período de janeiro a abril, nos mesmos horários, entre 17h30min e 18h00min. A diferença entre Grupo Controle e Grupos Experimentais 1 e 2 foi relativamente elevada. Mas apesar da diferença, a análise estatística não indicou diferença significativa entre os tratamentos e controle. A iluminação artificial é pouco conhecida no estudo da ecologia, porém é um desafio para a conservação, causando diversos efeitos no comportamento de animais.

PALAVRAS-CHAVE: insetos, biodiversidade, integridade biótica, estresse ambiental

ABSTRACT

Light pollution is defined by inadequate use of artificial lighting. It affects the quality of life and the well-being of the population. *Phibalosoma phyllinum* is a nocturnal habit and as in other animals the natural light is responsible for the circadian rhythm. The objective of this work was to create insects under controlled conditions and to verify if light pollution could alter population parameters. *P. phyllinum* eggs were separated into three groups: control (GC), Group 1 and Group 2. Each Experimental Group (GE) was exposed to different environmental conditions and consisted of 3 boxes. Nine cardboard boxes were used, approximately 30 x 15 x 8 cm in size and shape, with shading screen cover. In each



box were placed 30 eggs. Observations occurred three times a week, from January to April, at the same time, between 5:30 and 6:00 p.m. The difference between Control Group and Experimental Groups 1 and 2 was relatively high. But despite the difference, statistical analysis did not indicate a significant difference between treatments and control. Artificial lighting is little known in the study of ecology, but it is a challenge for conservation, causing various effects on animal behavior. **KEY-WORDS:** insects, biodiversity, biotic integrity, environmental stress

INTRODUÇÃO

A poluição é considerada como uma degradação do meio ambiente, podendo ser uma alteração na água, no ar ou no solo, causando um desequilíbrio ambiental; ou até mesmo visual, luminoso ou sonoro, prejudicando o bem-estar dos organismos^(1,2).

Nas últimas décadas a luminosidade artificial têm aumentado, gerada por fontes antrópicas^(3,4). A poluição luminosa é definida por um uso inadequado da iluminação artificial, ou seja, toda luz que não é aproveitada, afetando as condições do meio ambiente^(3,4).

A iluminação pública afeta a qualidade de vida e bem-estar das populações, pois pode alterar o sistema endócrino dos animais^(5,6). Por ter um efeito invisível, dificulta o reconhecimento como um mal-estar ou algo prejudicial⁽⁷⁾.

Os ritmos biológicos são classificados como ultradiano, que se repetem em intervalos de 20 horas; circadianos, que são ciclos de 20 a 28 horas e infradianos, que são ciclos maiores que 28 horas. O circadiano está presente tanto nos vertebrados como nos invertebrados⁽⁸⁾. Todos os organismos são afetados por estímulos externos, que conseqüentemente afetam o ritmo biológico⁽⁹⁾. O fotoperíodo (ciclo de luz/escuridão) é o principal fator que influencia esses ritmos⁽¹⁰⁾, pois junto com a luz; o calor, a escuridão e a temperatura auxiliam a manter um ritmo dentro do padrão circadiano⁽¹¹⁾.

Os insetos correspondem ao maior grupo de animais e estão relacionados com o homem, de forma positiva (dispersão de sementes) ou negativa (pragas), sendo encontrados em todos os ecossistemas com adaptações em diferentes habitats^(12,13).



O número de espécies registradas é aproximadamente alguns milhões e os primeiros registros datam de 400 milhões de anos, no período Devoniano⁽¹⁴⁾. Segundo Borror & De'Long⁽¹³⁾ possuem uma variedade de peculiaridades estruturais, fisiológicas e comportamentais. Uma característica importante é que muitos se assemelham ou imitam outras coisas, ajudando-os a fugir da predação ou conquistar novos recursos. Os insetos possuem muitos meios de defesa interessantes, e um deles é fingir-se de morto ou a camuflagem⁽¹³⁾, muito usada por insetos palatáveis^(14,15).

A maioria dos insetos possui um tamanho pequeno, possibilitando-os viver em habitats curiosos, mas há alguns de tamanho grande, por exemplo, as mariposas e os bichos-pau. O corpo é mais ou menos alongado e cilíndrico, a cabeça contém peças bucais, antenas e os olhos. Os olhos nos insetos apresentam formas variadas, podendo ser olhos compostos na maioria dos adultos ou junto com os olhos compostos, mais 3 ocelos, que são os olhos simples, frequente em larvas, ninfas e alguns adultos^(13,15).

O comportamento dos insetos é baseado em respostas a estímulos, estes sendo a luz, temperatura, água, tato, pressão, gravidade, dentre outros. Em relação à luz, alguns são atraídos e outros afastados por ela. Os de hábito noturno são mais atraídos pela luz^(13,15).

A Poluição luminosa⁽⁴⁾ é uma alteração das condições naturais de luz, no qual se difere da poluição luminosa astronômica, que é o resultado de um excesso de luz artificial, impedindo a visão do céu durante a noite⁽¹⁶⁾.

A luz é um fator importante para a regulação da síntese de melatonina e é também responsável pelo ritmo circadiano. Melatonina (MEL) é o hormônio produzido pela glândula pineal durante o período noturno, por isso é essencial ter boa noite de sono⁽¹⁷⁾. A MEL possui interação com o sistema imunológico; estimulando a atividade das células de defesa, promovendo a formação dos anticorpos; possui efeito oncostático; ou seja, interrompe a evolução de tumores, é antienvelhecimento; anti-inflamatória e, além disso, também tem sido indicada na modulação de funções autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais⁽¹⁸⁾.

Os insetos não possuem glândula pineal, porém, estudos afirmam que o relógio que controla o fotoperíodo está localizado no cérebro, dentro de neurônios laterais. Nos insetos, os olhos simples, denominados ocelos, e os dois olhos compostos são os fotorreceptores visuais que controlam os ritmos circadianos^(7,19).

Anteriormente os Phasmatodea Jacobson & Bianchi, 1902 eram agrupados juntamente com os Orthoptera Latreille, 1793. Este grupo maior abrange insetos grandes, sendo a maioria fitófaga. Podem ter ou não asas, o corpo alongado e as peças bucais mastigadoras^(13,15).

Com a nova divisão os bicho-pau foram agrupados na Ordem Phasmatodea. Estes são encontrados em árvores e arbustos, apresentam semelhança morfológica com os galhos e as folhas^(13,15). A biologia destes insetos é pouco conhecida e um dos motivos refere-se à dificuldade na identificação⁽²⁰⁾, e por apresentarem naturalmente baixas densidades populacionais⁽²¹⁾.

Phibalosoma phyllinum é um bicho-pau que possuem hábito noturno e para se protegerem do predador, tentam imitar os movimentos dos galhos ou folhas, possuindo movimentos lentos^(13,22).

As asas, quando presentes, são desenvolvidas e ficam sobre o abdômen quando estão em repouso, nos machos, já nas fêmeas são ausentes ou reduzidas⁽²¹⁾. Os ovos são pequenos e variam na cor, forma e no tamanho, sendo importantes para identificação das espécies⁽²³⁾, possuem um opérculo e são postos no chão. As antenas são filiformes de 8 a 100 segmentos⁽²²⁾. A cabeça é prognata, com peças bucais mastigadores, e os olhos são pequenos⁽¹⁴⁾. Muitos emitem um odor, que serve como meio defesa. Este odor é produzido por glândulas torácicas^(13,15).

A escassez de informações foi o que motivou esse trabalho sobre a biologia de *Phibalosoma phyllinum*. O objetivo foi criar insetos em condições controladas e verificar se a poluição luminosa pode alterar a taxa de eclosão.

METODOLOGIA

Phibalosoma phyllinum foram obtidos do biotério da Disciplina de Ecologia & Evolução da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Os primeiros exemplares foram gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Ângelo Barbosa Monteiro Machado do ICB/UFMG. Eram mantidos em gaiolas com tela de sombrite e tratados com folhas de goiaba - *Psidium guajava* Linnaeus, 1753.

Ovos de bicho-pau da espécie *Phibalosoma phyllinum* foram separados em três grupos: controle (GC), Grupo 1 e Grupo 2. Cada Grupo Experimental (GE) foi exposto a condições ambientais diferentes e era constituído por 3 caixas.

Considerando que o dia mais longo do ano em Uberaba, possui aproximadamente 13 horas e 15 minutos de duração, esse padrão foi utilizado como referencial para o Grupo 1 e o Grupo 2 apresentava 20 horas de luz.

Foram utilizadas nove caixas de papelão, com tamanho e formato aproximado de 30 x 15 x 8 cm, com tampa de sombrite. Em cada caixa foram colocados 30 ovos.

As observações aconteceram três vezes na semana, no período de janeiro a abril de 2018, nos mesmos horários, entre 17h30min e 18h00min. As caixas continham tecido de algodão que era umedecido três vezes na semana, propiciando condições ambientais favoráveis.

A análise dos dados foi realizada através do Programa Minitab®, sendo utilizada a análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas caixas sem luz nasceram e sobreviveram 6 indivíduos, no GE 1 nasceram 2 indivíduos e no GE 2, dois indivíduos nasceram vivos, dois morreram após nascimento e 1 indivíduo morreu durante o nascimento.

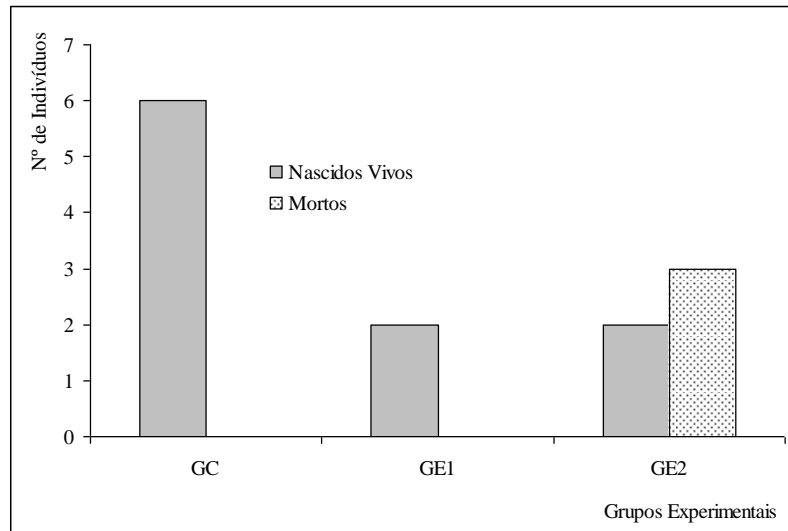


Figura 1. Número de indivíduos nascidos vivos e mortos em diferentes condições luminosas, grupo controle (GC), grupo experimental 1 (GE1) e grupo experimental 2 (GE2).

A diferença entre Grupo Controle e Grupos Experimentais 1 e 2 foi relativamente elevada. A eclosão de bicho-pau no Grupo Controle foi 3 vezes superior aos Grupos Experimentais 1 e 2. Mas apesar da diferença, a análise estatística não indicou diferença significativa entre os tratamentos e controle.

Algumas culturas não valorizam esta poluição, pois desconhecem o impacto negativo e efeito nos organismos, que incluem mudanças na habilidade de orientação, reprodução, migração e comunicação⁽¹⁶⁾.

O sistema nervoso central (SNC) é diretamente afetado pela luz, e esta influencia fatores neuro-humorais. Esta é a base necessária para orientar o SCN com o ciclo do dia/noite⁽⁹⁾. Humanos, quando expostos à luz artificial no período noturno, têm o relógio biológico alterado e conseqüente redução da produção de melatonina⁽¹⁷⁾. Fêmeas de tartaruga não desovam com muita iluminação; os filhotes também podem ser prejudicados indo em outra direção⁽²⁴⁾. Há estudos que afirmam que as luzes artificiais também prejudicam nas rotas de aves migratórias e há casos de colidirem com prédios e edifícios iluminados, assim como alguns exemplos de insetos⁽²⁵⁾.

Vaga-lumes são sensíveis a alterações nos níveis de luminosidade, pois são prejudicados na visibilidade do cortejo e da comunicação⁽²⁶⁾. O desaparecimento dos vaga-lumes já foi relatado em muitas regiões, estando o fato, segundo os autores, relacionados à poluição luminosa⁽²⁶⁾.

A iluminação artificial é pouco conhecida no estudo da ecologia, porém é um desafio para a conservação, causando diversos efeitos no comportamento de animais, como por exemplo, em mariposas, vaga-lumes e besouros^(16,27,28). O comprimento de onda da luz que mais atrai os insetos é a região ultravioleta^(16,27). Porém, alguns autores também citam a luz visível, como atrativa para insetos⁽¹³⁾.

Concluindo, os autores ponderam que dever-se-ia repetir o experimento com maior número amostral. Aparentemente o “n” amostral não foi suficiente para evidenciar as alterações entre os Grupos Controle e Experimental.

REFERÊNCIAS

- (1) Da Silva, PF; Martins, DR. 2016. Poluição versus sustentabilidade. **REBEMAS**. 1(2): 56-62.
- (2) Silva, L. G. M. A poluição no espaço escolar: Uma proposta de conscientização ambiental para alunos do Ensino Fundamental. 2015.
- (3) Cinzano, P; Falchi, F; Elvidge, CD; Baugh, KE. 2000. The artificial night sky brightness mapped from DMSP satellite Operational Linescan System Measurements. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 318: 641-657.
- (4) Bailey, ME. 2006. Dark skies for all. *Astronomy & Geophysics* 47(6):35-36. DOI: 10.1111/j.1468-4004.2006.47635.x.
- (5) Alves, DF; Santos, AS. 2016. A iluminação pública e sua função nos centros urbanos. *Blucher Proceedings*. 2(4): 317-333.
- (6) Secretaria de Energia do Estado de São Paulo. Cartilha de Iluminação Pública: Guia do Gestor. 2013. Disponível em <<http://www.energia.sp.gov.br/portal>>.
- (7) Marques, JR. 2015. A poluição luminosa e a legislação brasileira. *Lusíada. Direito e Ambiente*. 2-3: 159-168.

- (8) Veras, GC; Murgas, LDS; Zangeronimo, MG; Oliveira, MM; Rosa, PV; Felizardo, VO. 2013. Ritmos biológicos e fotoperíodo em peixes. Arch Zootec. 62(237): 25-43.
- (9) Mota, DPN. Importância dos ritmos circadianos na Nutrição e Metabolismo. 2010.
- (10) Andrade, A, Pinto, SC, de Oliveira, RS. Animais de laboratório: criação e experimentação. SciELO-Editora FIOCRUZ. 2006.
- (11) Fernandes, RMF. 2006. O sono normal. Medicina. 39(2): 157-168.
- (12) Lopes, LA; Blochtein, B; Ott, AP. 2007. Diversidade de insetos antófilos em áreas com reflorestamento de eucalipto, Município de Triunfo, Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia, Sér. Zool. 2(97): 181-193.
- (13) Borror, DJ; De'Long, DM. Introdução ao estudo dos insetos. Blucher/USP/EDUSP, 1969.
- (14) Monteiro, ECO. Sistema digestivo do bicho-pau *Phibalosoma phyllinum* (Phasmida, Phasmatidae): uma análise morfológica, fisiológica e bioquímica. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2012.
- (15) Rafael, JA; Melo, GAR; Carvalho, CJB; Casari, AS; Constantino, R. (Eds.). 2012. Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia. Ribeirão Preto. Holos Editora, 810 p.
- (16) Longcore, T; Rich, C. 2004. Ecological light pollution. Front Ecol Environ. 2(4): 191-198.
- (17) Cheres, JEC, Sousa, CAD; Carvalho, JD; Chaves, ARCM. 2011. Trabalho noturno: a inversão do relógio biológico. RECIJ. 1(3): 9-44.
- (18) Claustrat, TB; Brun, J; Chazot, G. 2005. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. Sleep Med. Rev. 9: 11-24.
- (19) Proni, EA; Macieira, OJD. 2004. Ritmo circadiano da taxa respiratória de *Tetragonisca angustula fiebrigi* (Schwarz), *T. a. angustula* (Latreille) e *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Revista Brasileira de Zoologia, 21(4): 987-993. <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752004000400036>.
- (20) De Araujo, FF; Garraffoni, ARS. 2012. Sinopse dos Phasmatodea (Insecta) Descritos para o Brasil. EntomoBrasilis, 5(3): 232-237.

- (21) Key, KHL. Phasmatodea (stick-insects) pp. 348–359 in: CSIRO ed. The Insects of Australia. A textbook for students and research workers. Melbourne: Melbourne University Press., 1970.
- (22) Vargas, NC; Silva, ATC; Matta, APLF; Francisco, RP. 2008. Biologia de *Phibalosoma phyllinum* (Phasmatodea) em cativeiro. Revista Científica da Faminas, 4(3): 35-43.
- (23) Clark, JT. 1976. The eggs of the stick insects: review with descriptions of the eggs of eleven species. Syst Entomol, 1: 95-105.
- (24) Fernandes, MLB; Silva, LCC; Moura, GJB. 2016. Influência dos impactos ambientais na escolha da praia de desova da espécie *Eretmochelys imbricata*. Biota Amazônia, 6(4): 44-48.
- (25) Nisa, MAS. Estudo da Eficiência Energética de Sistemas de Iluminação Pública. Estudo aplicado ao Iparque. Instituto Politécnico de Coimbra. Coimbra. 2011.
- (26) Viviani, VR; Rocha, MY; Hagen, O. 2010. Fauna de besouros bioluminescentes (Coleoptera: Elateroidea: Lampyridae; Phengodidae, Elateridae) nos municípios de Campinas, Sorocaba-Votorantim e Rio Claro-Limeira (SP, Brasil): biodiversidade e influência da urbanização. Biota Neotrop, 10(2): 103-116.
- (27) Barghini, A; de Medeiros, BAS. 2012. UV Radiation as an attractor for insects. Leukos. 9(1): 47-56.
- (28) Harder, B. 2002. Deprived of Darkness: the unnatural ecology of artificial light at night. Sci News, 161(16): 248-249.

EFICÁCIA DE UM PRÁTICO MODELO DE COVO NA CAPTURA DE QUELÔNIOS DULCÍCOLAS, COM SUGESTÃO DE PROTOCOLOS AMOSTRAIS

EFFICACY OF A PRATICAL HOOP-NET TRAPS MODEL IN THE CAPTURE OF FRESHWATER TURTLES, WITH SUGGESTION OF SAMPLING PROTOCOLS

¹*Adriano Lima Silveira, ²Sônia Helena Santesso Teixeira de Mendonça, ³Rodrigo de Oliveira Lula Salles, ⁴Marina Coelho Cruz Secco

¹Biótica Estudos Ambientais. Caixa Postal 2020, CEP 30270-970, Belo Horizonte, MG * biosilveira@yahoo.com.br

²Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Lagoa Santa, MG

³Museu Nacional. Rio de Janeiro, RJ

⁴Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. Tefé, AM

RESUMO

Quelônios dulcícolas permanecem pouco conhecidos em muitas regiões do Brasil e têm sido negligenciados em levantamentos faunísticos, o que em parte decorre das dificuldades de uso das armadilhas tradicionais em amostragens. Foi testada a eficácia de um modelo de covos (armadilha de aro) prático e de fácil obtenção no mercado. Foram testados três tamanhos dos covos iscados com sardinha enlatada, em amostragens padronizadas (910 armadilhas, 380 pontos, esforço de 1.685 armadilhas-dias) e não padronizadas, conduzidas em ambientes lênticos e lóticos no Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia, Brasil. Foram capturadas 11 espécies pertencentes a quatro famílias de quelônios, incluindo 148 exemplares nas amostras padronizadas. O modelo de covos foi considerado eficaz na captura de diversas espécies dulcícolas, especialmente com grande esforço amostral, e a sardinha enlatada foi atrativa. O modelo também foi eficaz nos diversos ambientes lênticos e lóticos amostrados. Nas amostras padronizadas obteve-se taxa de capturas de 9,23% e o período de permanência de um dia foi mais eficiente (taxa de capturas: 60,20%) em relação a 02 dias (39,80%). Nas amostras não padronizadas, houve sucesso satisfatório com período de permanência de 04 horas. A taxa de capturas em armadilhas variou de 4,86% a 14,32% entre os distintos tamanhos. Com base nos resultados são propostos protocolos de amostragem com o modelo de covos testado, em estudos rápidos e de longa duração.

PALAVRAS-CHAVE: amostragem, cágados, inventário, Testudines, tartarugas.

ABSTRACT

Freshwater turtles remain little known in many regions of Brazil and have been neglected in faunal surveys, which in part runs from the difficulties of using traditional traps in sampling. We have analyzed the effectiveness of a practical and easy to obtain hoop-net trap model. Three sizes of traps baited with canned sardines



were analyzed in standardized samplings (910 traps, 380 points, 1685 traps-days effort) and non-standard samples, conducted in lentic and lotic environments in the Cerrado, Atlantic Forest and Amazon, Brazil. Eleven species belonging to four families of chelonians were captured, including 148 specimens in the standardized samples. The hoop-net trap model was effective in the capture of several freshwater species, especially with great sampling effort, and canned sardines were attractive. The model was also effective in the various lentic and lotic environments sampled. In the standardized samples the capture rate was 9.23% and the stay period of 01 day was more efficient (capture rate: 60.20%) than 02 days (39.80%). In nonstandard samples, there was satisfactory success with a residence period of 04 hours. The capture rate varied from 4.86% to 14.32% between the different hoop trap sizes. Based on the results we propose sampling protocols with the hoop-net trap model tested in rapid and long studies.

KEYWORD: inventory, sampling, side-neck turtles, Testudines, turtle.

INTRODUÇÃO

A fauna de quelônios dulcícolas do Brasil permanece pouco conhecida, inclusive em relação a aspectos básicos da biologia da maioria dos táxons. O conhecimento da história natural das espécies de Chelidae, a família com maior riqueza no país, ainda é incipiente, apesar da significativa contribuição dos estudos das últimas décadas⁽¹⁾. Destacam-se os trabalhos com Podocnemididae em grandes rios amazônicos^(2,3) e aqueles com *Hydromedusa maximiliani* na Mata Atlântica de São Paulo⁽⁴⁻⁹⁾, ao passo que, para a grande parte dos quelônios dulcícolas, os estudos de campo são raros, especialmente em ambientes aquáticos de menor porte, e incluem diferentes métodos amostrais⁽¹⁰⁻¹⁷⁾.

A amostragem de quelônios dulcícolas em levantamento faunísticos mais amplos ainda é incipiente em muitas regiões brasileiras, tanto estudos científicos quanto estudos de impacto ambiental, nos quais esses animais são muitas vezes negligenciados. Utilizando a realidade do Cerrado Central como exemplo, a partir de uma revisão da literatura, dentre os levantamentos mais abrangentes de répteis encontrados apenas em cinco publicações há registros de alguma espécie de tartaruga ou cágado, quatro das publicações reportam apenas uma espécie e nenhuma delas descreve a aplicação de métodos amostrais específicos para quelônios dulcícolas⁽¹⁸⁻²²⁾.



O uso de armadilhas tipo funil (*funnel trap*), ou armadilhas de aro e rede iscadas (*baited hoop-net traps*), corresponde a uma das metodologias mais frequentes em amostragens de quelônios dulcícolas. Essas armadilhas são popularmente conhecidas no Brasil como covos e são semelhantes aos jequis, os quais são apetrechos populares usados para pesca. Um modelo original de armadilha de aro (*hoop-net trap*) foi proposto por LAGLER (1943)⁽²³⁾, e modificado por diversos autores⁽²⁴⁾, para que necessidades fossem atendidas. Vários modelos semelhantes vêm sendo utilizados⁽²⁴⁻²⁹⁾, os quais geralmente são grandes, pesados e de difícil transporte e instalação, cujo manuseio requer maior tempo, fatores que podem configurar dificuldades nas amostragens e contribuir para a menor atenção prestada a tartarugas e cágados. Frequentemente esses modelos são confeccionados de forma artesanal. É possível que o modelo original de LAGLER (1943)⁽²³⁾ seja o mais prático e, armadilhas de aro iscadas, em suas diversas variações, têm sido utilizadas com sucesso em estudos recentes⁽³⁰⁻³⁴⁾, embora ainda não sejam amplamente difundidas no Brasil.

Também há variedade nos tipos das iscas utilizadas nos covos, o que inclui carne bovina, de aves e de peixes, camarão, alimentos enlatados à base de carne, vegetais e outros^(24,35,36), as quais atraem os quelônios pelo odor. O uso de carnes requer refrigeração, o que muitas vezes não é possível nas expedições de campo. Neste contexto, uma solução prática é o uso de sardinha enlatada⁽³⁵⁾. Contudo, também não há uma padronização quanto ao uso da isca.

Atualmente, tem sido fabricado e comercializado um modelo de covo (armadilha de aros) projetado para captura de lagostas, semelhante à armadilha de LAGLER (1943)⁽²³⁾ e àquelas artesanais, mas de uso mais prático, que pode ser encontrada em lojas de material para pesca. Esse modelo foi recentemente mencionado e ilustrado⁽³⁷⁾. O presente estudo objetivou avaliar a eficácia desse modelo de covo em amostragens de quelônios dulcícolas, em relação à diversidade de espécies capturadas, tempo de permanência da armadilha instalada (esforço), número de armadilhas (esforço) e ambientes onde o método seria funcional, além da eficácia da sardinha enlatada como isca. O presente estudo não objetivou

comparar diferentes tipos de armadilhas ou métodos e correspondeu a uma avaliação primariamente qualitativa. Com base nos resultados obtidos, propõem-se padronizações amostrais.

METODOLOGIA

O covo testado corresponde a um cilindro composto por uma mola em espiral ligando dois aros, recoberta por uma rede de náilon, com dois funis voltados para dentro, um em cada aro do cilindro. A mola e os aros são constituídos de metal recoberto por plástico. A abertura interna do funil é formada por um aro de náilon e as aberturas dos dois funis são interligadas por duas cordas de náilon de menor espessura, uma de cada lado. Cada abertura interna é coberta por uma rede maleável que objetiva impedir a entrada de peixes e outros animais, mas que permite a entrada dos quelônios, ao empreenderem força contra a abertura. Ao mesmo tempo, a rede impede a saída dos quelônios capturados (Fig. 1).

Quando expandida, a mola do covo dá a forma cilíndrica à estrutura e as cordas que ligam as aberturas internas, então tensionadas, mantêm os funis esticados, cujos aros assumem formato oval. O covo pode ser “fechado”, pela compressão dos aros maiores e retração da mola, seguida do encaixe de duas travas afixadas em um dos aros, o que o torna pouco volumoso e facilita seu transporte (Fig. 1). No momento da instalação do covo basta que as travas sejam desencaixadas, para que a mola se expanda e “abra” a armadilha. Foram encontrados no mercado quatro tamanhos do mesmo modelo de covo, dos quais três foram testados (Tab. 1).

Para a instalação, o covo é afixado em uma corda de polipropileno de menor diâmetro, amarrada no centro da espiral, ou a duas cordas, cada uma amarrada em um dos aros maiores. O covo é então submerso no ambiente aquático, deixando-se sua porção superior fora da água para que os quelônios capturados possam respirar, e as cordas são amarradas em pontos fixos na margem, geralmente em troncos de árvores e arbustos, em estacas fincadas no solo ou em pedras. Em ambientes mais

profundos o covo normalmente é armado junto à margem, enquanto em lagoas mais rasas o covo é instalado em porção mais interior (Fig. 2). Em períodos de chuva e em ambientes que sofrem repentino aumento do nível da água, introduz-se no covo uma garrafa plástica fechada, cheia de ar, para funcionar como boia e manter uma porção do covo acima do nível da água, evitando-se assim afogamento dos animais capturados (Fig. 2).



Figura 1. Modelo de covo (armadilha de aros) utilizado no presente estudo: A – covo aberto, B – covo fechado, C – detalhe do funil, D – três tamanhos utilizados (grande, médio e pequeno).

Tabela 1. Medidas dos três tamanhos do modelo de covo (armadilha de aros) avaliado no presente estudo.

| Tamanho | Massa (g) | Comprimento (cm) | Diâmetro (cm) | Diâmetro da abertura interna (cm) | Espessura dos aros (mm) | Distância entre nós da malha da rede (mm) |
|---------|-----------|------------------|---------------|-----------------------------------|-------------------------|---|
| Pequeno | 800 | 60 | 33 | 13 | 05 | 12 |
| Médio | 1.000 | 66 | 37 | 15 | 06 | 18 |
| Grande | 1.500 | 80 | 45 | 17 | 06 | 22 |

Antes da submersão, uma lata de sardinha (conservada em óleo) com perfurações é inserida no covo como isca, sendo posicionada no centro e fundo da armadilha, preferencialmente amarrada por uma liga de elástico ou corda fina. Quando o covo é submerso, o óleo e pequenos fragmentos da sardinha extravasam pelos furos e rapidamente se espalham pela água, difundindo seu odor atrativo. Com esse procedimento cada isca foi utilizada ao longo de 24 horas e, quando retirada, ainda estava exalando odor, indicando que provavelmente se manteve atrativa ao longo de todo o tempo. O uso de uma lata de sardinha por covo em 24 h foi adotado nas amostragens padronizadas, descritas adiante.

No caso das amostragens adicionais não padronizadas (descritas adiante), nas quais o covo geralmente permaneceu instalado por poucas horas, também foi testado um volume menor da isca, o conteúdo de uma lata sendo dividido em três porções inseridas em tubos Falcon de 50 ml com furos laterais (Fig. 2). O tubo também é posicionado no covo da mesma forma que a lata.

DESENHO AMOSTRAL

Foram conduzidas amostragens no âmbito de projetos de diversidade e conservação de quelônios dulcícolas em execução pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (RAN), do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), e colaboradores. As amostragens ocorreram de forma padronizada em quatro Unidades de Conservação no estado de Minas Gerais, Brasil – Parque Nacional da Serra do Cipó e Área de Proteção Ambiental Morro da Pedreira, nos municípios de Santana do Riacho, Jaboticatubas, Morro do Pilar, Itambé do Mato Dentro e Itabira, bacias dos rios São Francisco e

Doce (Autorização SISBIO nº 27087); Parque Nacional da Serra da Canastra, nos municípios de São Roque de Minas, Sacramento, Delfinópolis, São João Batista do Glória e Vargem Bonita, bacias do São Francisco e Paraná (Autorização SISBIO nº 33200); e Estação Ecológica de Pirapitinga, Município de Morada Nova de Minas, bacia do São Francisco (Autorização SISBIO nº 13102); situadas no Cerrado ou em área de transição deste bioma com a Mata Atlântica. As atividades de campo ocorreram no período de outubro de 2011 a outubro de 2013.



Figura 2. Covo instalado em córrego (A), rio (B) e lagoa (C), e detalhe do covo instalado (D) exibindo a boia (parte superior) e o tubo Falcon com a isca de sardinha (porção inferior).

Nas amostragens padronizadas foram instalados 910 covos (377 grandes, 70 médios, 432 pequenos e 31 sem tamanho anotado) em 380 pontos em diferentes ambientes aquáticos, dentre rios, riachos, córregos e lagoas naturais, além da represa de Três Marias. Os pontos foram selecionados em ambientes propícios à

ocorrência de quelônios nativos (corpos lênticos e poços e remansos de corpos lóticos) e que estivessem em bom estado de preservação, de modo a evitar-se que esforços amostrais fossem empreendidos em locais sem a presença dos animais, resultando em viés de capturas. Nos casos pertinentes, consideraram-se informações dadas por moradores das áreas de estudo sobre locais de encontro com quelônios. Os pontos amostrais corresponderam a ambientes aquáticos lóticos e lênticos, inseridos em remanescentes naturais de Unidades de Conservação e seus entornos, com exceção da represa, sendo selecionados de forma a contemplar ao máximo a heterogeneidade dos corpos d'água disponíveis nas áreas. Foi definido como ponto cada pequena lagoa, porções de grandes lagoas ou represa, cada poço de pequenos córregos (intermitentes ou perenes) e trechos de riachos e rios. Na Estação Ecológica de Pirapitinga as armadilhas foram distribuídas em distâncias aproximadas de 300 m uma da outra, ao longo do perímetro da estação. O trabalho de campo foi executado por uma equipe de dois ou três pesquisadores.

A maior parte das armadilhas ($n = 755$; 82,97%) permaneceu instalada por 02 dias em cada ponto e um número menor ao longo de 01 dia ($n = 148$; 16,26%), 03 dias ($n = 1$; 0,11%) ou 04 dias ($n = 6$; 0,66%). Os covos foram instalados e vistoriados pela manhã. O esforço total de captura foi de 1.685 armadilhas-dias. Os resultados obtidos no estudo padronizado foram analisados com estatística descritiva.

Adicionalmente, o modelo de covo também foi avaliado em amostragens de quelônios conduzidas no âmbito de outros estudos, mas de forma não padronizada, em áreas de Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia no Brasil, abrangendo as bacias dos rios São Francisco, Doce, Tocantins e de rios menores nos conjuntos de bacias do Atlântico Norte/Nordeste, Atlântico Leste e Atlântico Sudeste. Esses estudos foram realizados no período de outubro de 2011 a janeiro de 2015. Nessas amostragens avaliou-se a eficácia do covo e da isca em relação às espécies de quelônios dulcícolas capturados e aos tipos de ambientes aquáticos. Foram utilizados períodos de permanência das armadilhas de uma noite e de 04 horas, no contexto de logísticas de expedições com limitação de tempo. Os covos foram

instalados sempre no fim da tarde, antes do anoitecer, sendo vistoriados na manhã seguinte ou após as 04 horas.

A despeito da não padronização, em um desses estudos foi possível a contabilização do esforço de 271 armadilhas-noite/04 horas (armadilhas com permanência de uma noite ou de 04 horas), sendo a maioria dos covos de tamanho pequeno e alguns grandes.

Nas diversas amostragens realizadas os quelônios capturados puderam ser facilmente retirados dos covos, manualmente, e foram marcados com o método e entalhes nos escudos laterais da carapaça segundo Cagle (1939)⁽³⁸⁾, com adaptação para um corte estreito em substituição a um entalhe largo. Na ocasião das vistorias, outros animais coletados fortuitamente foram retirados e liberados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostragens padronizadas foi capturado um total de 148 exemplares de seis espécies de quelônios aquáticos: família Chelidae: *Acanthochelys spixii* (Duméril e Bibron, 1835), *Hydromedusa maximiliani* (Mikan, 1825), *H. tectifera* Cope, 1870, *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973), *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812); família Emydidae: *Trachemys scripta elegans* (Wied-Neuwied, 1839).

Nas amostragens adicionais não padronizadas foram capturadas 10 espécies: Chelidae: *Acanthochelys radiolata* (Mikan, 1820), *Hydromedusa maximiliani*, *H. tectifera*, *Mesoclemmys gibba* (Schweigger, 1812), *M. tuberculata* (Lüderwaldt, 1926), *M. vanderhaegei*, *Phrynops geoffroanus*; Geoemydidae: *Rhinoclemmys punctularia punctularia* (Daudin, 1801); Kinosternidae: *Kinosternon scorpioides scorpioides* (Linnaeus, 1766); Emydidae: *Trachemys scripta elegans*. O tigre-d'água *T. s. elegans* é exótico no Brasil e os exemplares capturados desta espécie certamente foram soltos nas áreas, enquanto as demais espécies capturadas são nativas das áreas amostradas.

No total, em ambos os sistemas de amostragem foram capturadas 11 espécies de quelônios dulcícolas, pertencentes a quatro famílias (Figs. 3 a 5). Este resultado indicou que o modelo de covo utilizado foi eficaz na captura de diversas espécies de quelônios dulcícolas, especialmente em amostragens com grande esforço de captura, sendo adequado para uso em levantamentos faunísticos do grupo. O resultado também indicou que a sardinha enlatada foi atrativa e adequada para o modelo de covo.

Em todas as amostragens foram obtidas capturas de quelônios nos seguintes ambientes aquáticos – ambientes lênticos: lagoas naturais grandes e pequenas, incluindo lagoas marginais, represas grandes e pequenas, poças permanentes e semipermanentes; ambientes lóticos: rios de pequeno porte, riachos, córrego perenes e córregos intermitentes (Fig. 6). Consequentemente, o covo foi considerado eficaz para amostragem de quelônios em diversos habitats aquáticos.



Figura 3. Covos com quelônios capturados (*Hydromedusa maximiliani*, A e B).

Nas amostragens padronizadas ocorreram capturas de quelônios em 9,2% das armadilhas (n = 84), independentemente do tamanho e período de permanência. Nos casos de covos armados ao longo de 2 dias, em 1,9% houve capturas nos 2 dias consecutivos, enquanto em 9,3% houve captura em apenas 1 dia. Comparando-se o esforço amostral em dias de permanência da armadilha instalada e considerando os covos com captura (e recapturas), ao longo de 02 dias 60,2% das capturas ocorreram no primeiro dia e 39,8% no segundo. Esses números indicam que a permanência de

24 h dos covos instalados corresponde a um esforço adequado para amostragem de quelônios dulcícolas, período no qual ocorre a maioria das capturas.

Em um dos estudos não padronizados foi possível contabilizar que, dentre um total de 271 covos-noite/04 horas, houve capturas em 13 covos (4,8%). Este resultado foi inferior ao obtido nas amostragens padronizadas (9,2%), provavelmente porque a maior parte dos covos permaneceu instalada apenas por 04 horas e porque a maioria dos covos era de tamanho pequeno. Entretanto, o resultado foi satisfatório, uma vez que permitiu um substancial aumento do conhecimento sobre os quelônios das respectivas áreas estudadas.

Considerando os três tamanhos de covos testados nas amostragens padronizadas, maiores taxas de capturas ocorreram nos tamanhos grande e médio, com capturas obtidas respectivamente em 14,3% e 11,4% das armadilhas em um mesmo ponto. Já no tamanho pequeno ocorreram capturas em 4,9% dos covos em um mesmo ponto.

Como a menor taxa de captura foi de 4,9% e a maior de 14,3%, calcula-se que sejam necessários no mínimo 21 covos pequenos ou 07 covos grandes para a captura de um exemplar de quelônio. No entanto, a definição da quantidade de covos deverá levar em conta as limitações de logística. Por exemplo, na maioria das amostragens não padronizadas adotou-se o número de 10 covos por dia, em 10 pontos amostrais, uma vez que este foi o maior número possível de instalações e verificações ao longo do limitado tempo disponível em campo. Mas, com esse número de 10 covos sendo replicado em diversas áreas e com grande esforço amostral, os resultados também foram satisfatórios.



Figura 4. Espécies de quelônios dulcícolas capturados com o modelo de covo avaliado: A – *Acanthochelys radiolata*, B – *A. spixii*, C – *A. spixii* (neonato), D – *Hydromedusa maximiliani*, E – *H. tectifera*, F – *Mesoclemmys gibba*.



Figura 5. Espécies de quelônios dulcícolas capturados com o modelo de covo avaliado: A – *Mesoclemmys tuberculata*, B – *M. vanderhaegei*, C – *Phrynops geoffroanus*, D – *Kinosternon scorpioides scorpioides*, E – *Rhinoclemmys punctularia punctularia*, F – *Trachemys scripta elegans*.



Figura 6. Principais ambientes aquáticos amostrados: A – lagoa natural, B – lagoa natural marginal meândrica, C – represa grande, D – represa pequena, E – poça permanente, F – poço em córrego intermitente, G – córrego perene, H – riacho, I – rio.

Nas amostragens não padronizadas, houve captura de diversos indivíduos tanto com tempo de permanência das armadilhas ao longo de uma noite, quanto ao longo de 04 horas, a maioria, entretanto, ocorrendo com uma noite de permanência. Notou-se que o tempo necessário para atração e captura dos quelônios variou entre as espécies, mas essa diferença não pôde ser quantificada. Mas, para a maioria das espécies houve eventos de captura em um intervalo de 04 horas. Em alguns casos, registrou-se a captura de *Mesoclemmys vanderhaegei* com apenas 02 horas de permanência, em pequenos ambientes lênticos. Nos ambientes maiores, como grandes represas e grandes rios, o tempo de permanência de 04 horas não foi eficaz, havendo capturas apenas com tempo mínimo de uma noite. Outra observação realizada foi que a isca provavelmente é mais atrativa nas primeiras horas, sendo então preferível a instalação dos covos no fim da tarde, para que a isca esteja mais

atrativa no início da noite, período de maior atividade dos quelônios. Assim, notou-se que quanto maior o ambiente aquático, maior será o tempo de permanência necessário para que os quelônios sejam atraídos pela isca, provavelmente devido à maior área de forrageamento dos animais.

Considerando as amostragens padronizadas, a espécie mais frequente nas capturas foi *Mesoclemmys vanderhaegei* (n = 53; 35,8%), seguida de *Acanthochelys spixi* (n = 39; 26,4%), *Phrynops geoffroanus* (n = 30; 20,3%), *Hydromedusa maximiliani* (n = 15; 10,1%), *H. tectifera* (n = 10; 6,8%) e *Trachemys scripta elegans* (n = 1; 0,7%). Essas frequências, no entanto, provavelmente refletem as abundâncias de cada espécie nos locais amostrados, e não a propensão à captura de cada uma delas. Em apenas um covó houve captura de mais que uma espécie, sendo 3 exemplares de *P. geoffroanus* e 1 de *T. s. elegans*. Os maiores números de captura em um mesmo covó em um dia foram 5 exemplares de *A. spixi*, 3 *M. vanderhaegei*, 3 *P. geoffroanus*, 2 *H. maximiliani* e 2 *H. tectifera*. Já nas amostragens não padronizadas esses números foram de 5 *M. vanderhaegei* e 5 *H. maximiliani* (Fig. 3).

Os covos foram eficazes na captura de exemplares com diversas idades, desde neonatos a machos e fêmeas adultas, apesar de que animais muito jovens foram menos frequentes nas amostras. Entretanto, o tamanho máximo do animal que pode ser capturado é limitado pelo diâmetro da abertura interna dos funis. O maior animal capturado foi uma fêmea de *Phrynops geoffroanus*, com 27,6 cm de comprimento retilíneo máximo da carapaça e 20,3 cm de largura retilínea máxima da carapaça. Nas amostragens realizadas observou-se que pode ter havido limitações de captura apenas de *P. geoffroanus*, não entrando maiores espécimes nos covos, uma vez que tal espécie alcança maior porte (39,1 cm de comprimento retilíneo da carapaça)⁽³⁹⁾. Em relação às demais espécies amostradas, aparentemente não houve limitações quanto ao tamanho, sendo capturados exemplares considerados grandes para o táxon.

Em função das prováveis limitações de tamanho para *Phrynops geoffroanus*, impostas pelo diâmetro do funil, o modelo de covó testado deve ser usado com

cautela em estudos populacionais envolvendo espécies de *Phrynops* e outros quelônios de maior porte. Quanto às demais espécies capturadas, o covó mostrou-se eficaz também para estudos populacionais, permitindo a captura de grandes adultos. Em áreas onde ocorram espécies de *Phrynops* e outros quelônios de maior porte recomenda-se o uso de covos maiores.

Ainda que os covos de tamanho grande e médio tenham mostrado-se mais eficazes, é necessário considerar que o transporte a campo dos covos pequenos é mais fácil, em função do menor volume e massa. Assim, em determinadas situações com limitação de transporte de carga, é preferível o uso dos covos pequenos. Nas situações em que a logística de campo não impõe limitações, o uso de covos maiores é preferível.

Nas diversas amostragens realizadas observou-se que os quelônios aparentavam bom estado de saúde, sem sintomas evidentes de estresse excessivo ou marcas de lesões. Aparentemente, a permanência nas armadilhas por um período máximo de 24 horas não foi prejudicial aos animais, sendo importante que esse tempo não seja extrapolado. Quando manuseados e liberados, rapidamente submergiam e os exemplares recapturados também aparentavam boa saúde. Entretanto, salienta-se para o risco de afogamento dos animais em caso dos covos permanecerem submersos, sendo que a manutenção de um espaço do covó fora da água foi suficiente para permitir a respiração dos animais e evitar afogamentos. Em períodos de chuva e em ambientes que sofriam rápido aumento do nível da água, a introdução de uma boia foi fundamental para evitar a completa submersão do covó e conseqüente afogamento de animais.

Durante as amostragens realizadas, além dos quelônios foram ocasionalmente capturados outros répteis aquáticos. A maioria correspondeu a jacarés de pequeno porte, das espécies *Caiman latirostris* (Daudin, 1801) e *Caiman crocodilus crocodilus* (Linnaeus, 1758) (família Alligatoridae, Fig. 7), todos capturados em covos do tamanho grande e que permaneceram armados por uma noite ou 24 horas. Nas amostragens padronizadas foram capturados 49 exemplares de *C. latirostris* no Parque Nacional da Serra do Cipó, sendo 34 de Classe I e 15 de

Classe II. O maior espécime capturado apresentou 51,3 cm de comprimento rostro-cloacal, 101 cm de comprimento total e 3,2 kg de massa. Adicionalmente, alguns exemplares de *C. c. crocodilus* foram capturados nas amostragens não padronizadas.

Adultos de grande porte de três espécies de serpentes com hábitos aquáticos também foram capturadas nas amostragens não padronizadas: *Erythrolamprus miliaris merremii* (Wied, 1821), *Helicops angulatus* (Linnaeus, 1758) e *H. trivittatus* (Gray, 1849) (família Dipsadidae).

Esses registros adicionais indicam que o modelo de covo com isca de sardinha também é eficaz na captura de outros répteis aquáticos, podendo ser utilizado como metodologia complementar em amostragens de jacarés e serpentes, o que é especialmente útil em estudos de levantamento.

Também houve capturas, nas amostragens não padronizadas, da rã aquática *Pipa pipa* (Linnaeus, 1758) (Pipidae); de grandes girinos de anfíbios anuros, como da perereca *Hypsiboas faber* (Wied-Neuwied, 1821) (Hylidae); de diversas espécies de peixes, incluindo bagres, cascudos, cambevas, tamboatás, sarapós, muçuns, carás, piabas, pias, piranhas, iuiús e, com maior frequência, traíras; além de adultos de caranguejos dulcícolas (Trichodactylidae), os quais foram capturados com grande frequência na região amazônica (Figura 8), baratas-d'água (Hymenoptera, Belastomatidae) e besouros-d'água (Gyrinidae). Consequentemente, o modelo de covo também se mostrou útil para captura desses grupos de animais.

Observou-se que esses animais capturados fortuitamente foram atraídos pela isca. Algumas espécies de anfíbios anuros de grande porte (Leptodactylidae: *Leptodactylus chaquensis* Cei, 1950, *L. latrans* (Steffen, 1815), *L. macrosternum* Miranda-Ribeiro, 1926; Bufonidae: *Rhinella diptycha* (Cope, 1862) e *R. rubescens* (Lutz, 1925) foram capturados ocasionalmente, mas se considerou que as mesmas não foram atraídas pela sardinha, e sim entraram em função de seu deslocamento ao longo das margens dos ambientes aquáticos, onde os covos estavam e funcionaram como barreiras físicas, direcionando os animais para o funil. Uma evidência que suporta essa explicação é houve captura de anuros apenas nos covos

instalados em margens, o que não ocorreu naqueles covos posicionados em porções mais centrais das coleções d'água.



Figura 7. Espécies de outros répteis capturadas com o modelo de covo avaliado: A, B – *Caiman latirostris*, C – *C. crocodilus crocodilus*, D – *Erythrolamprus miliaris merremii*, E – *Helicops angulatus*, F – *Helicops trivittatus*.

O tempo de permanência máxima de 24 horas dos covos instalados também não causou a morte de outros animais capturados fortuitamente, sendo importante que ele não seja extrapolado.

Com base nos resultados obtidos, sugerem-se protocolos de amostragens de quelônios dulcícolas com uso do modelo de covo testado.

PROTOCOLO EM ESTUDOS COM MAIOR PERMANÊNCIA EM CAMPO

Equipe composta por dois pesquisadores. Usar 20 covos, sendo 10 de tamanho pequeno e 10 grandes, instalados simultaneamente no mesmo dia e em 10 pontos distintos. Definir como ponto amostral cada pequeno ambiente aquático, como lagoa ou represa pequenas, poça permanente, poço de um córrego, ou trecho de ambientes maiores, como porção da margem de uma lagoa, remanso de um rio, trecho de um riacho ou rio. Em cada ponto, instalar 1 covo grande e 1 pequeno, geralmente distantes pelo menos 5 metros entre si.

Caso os ambientes aquáticos locais sejam menores, de modo que as profundidades impeçam a instalação dos covos grandes, usar 20 covos pequenos. Nos ambientes mais amplos, como maiores poços de um córrego, instalar 2 covos e naqueles menores, apenas 1, sendo então aumentado o número de pontos.

Deverão ser selecionados os locais mais propícios a ocorrência dos quelônios, no contexto do estudo proposto, priorizando-se os ambientes em melhor estado de conservação. A instalação dos covos deve ser iniciada pela manhã, prosseguindo-se ao longo do dia, uma vez que muito tempo é gasto para encontro dos pontos mais propícios. Mas, a instalação não deve durar um período muito longo, uma vez que um tempo maior ainda será gasto com a vistoria, prevendo-se o manejo dos animais capturados. Os covos deverão permanecer armados por um período de 24 horas.

Na manhã do dia seguinte, inicia-se a vistoria dos covos, sempre seguindo a sequência na qual foram instalados, começando pelo primeiro covo armado. Assim, o tempo de permanência será similar para todos os covos.



Figura 8. Outros grupos de animais capturados com o modelo de covos avaliado: A – rã aquática *Pipa pipa*, B – girino da perereca *Hypsiboas faber*, C – cascudo (Loricariidae), D – tamboatá (Callichthyidae), E – cambeva (Trichomycteridae), F – sarapó (Gymnotidae), G – piranha (Characidae), H – piaba (Characidae), I – cará (Cichlidae), J, K – caranguejo dulcícola (Trichodactylidae), L – barata-d’água (Belastomatidae).

Para cada conjunto de 20 covos serão gastos 2 dias com instalação e vistoria. No terceiro e quarto dia, instalar o conjunto de covos em outra área, selecionando-se novos pontos. Com esse protocolo, ao longo de um extenso período de campo é possível amostrar grande número de pontos em uma extensa área e contemplando diversos ambientes aquáticos.

Caso a área de estudo possua grande diversidade de ambientes aquáticos de rápido acesso, será possível o aumento do número de covos por dia. Mas, não se recomenda replicar a quantidade de equipes de modo a maximizar o número de pontos por dia, uma vez que isto exigiria que o método de marcação fosse replicado, isto nos casos em que o estudo incluía a marcação. Com uma equipe apenas usa-se um mesmo sistema de marcação, com numeração única.

Na ocasião da vistoria dos covos, fazer o manejo dos animais capturados (identificação, fotografia, biometria e marcação) no campo e logo em seguida fazer a soltura dos espécimes que não serão coletados, permanecendo com os mesmos o menor tempo possível. Entretanto, caso a logística do trabalho impeça o manejo em campo, os quelônios capturados devem ser transportados a laboratório de campo (a ser instalado nas proximidades dos locais de estudo), onde ocorrerá o manejo, e em seguida deverão ser transportados para o local de captura, visando à soltura. Recomenda-se que todo esse procedimento ocorra no mesmo dia das capturas.

PROTOCOLO EM ESTUDOS COM MENOR PERMANÊNCIA EM CAMPO

Equipe composta por 2 pesquisadores. Usar 10 covos, sendo 5 grandes e 5 pequenos. Definir os pontos amostrais tal como no protocolo para estudos mais longos.

Em cada ponto, instalar 1 ou 2 covos, distribuindo os tamanhos das armadilhas de acordo com os tamanhos dos ambientes aquáticos. Caso tais ambientes sejam pouco profundos, usar 10 covos pequenos. O número de pontos será de 5 a 10, de acordo com a quantidade de covos em cada ponto.

A instalação dos covos deverá ocorrer no fim da tarde, de modo que os covos estejam armados no início da noite. Sugerem-se duas opções de tempo de permanência das armadilhas instaladas: 1) ao longo de uma noite, a vistoria ocorrendo na manhã do dia seguinte, e ao longo de 4 h, a vistoria ocorrendo após esse período, em período noturno (com auxílio de lanternas). Mas, este tempo de permanência poderá ser adaptado em função da logística disponível. A vistoria sempre seguirá a ordem de instalação dos covos, começando por aquele que foi

primeiramente armado. Na ocasião da vistoria, o manejo dos animais capturados deverá ser o mais rápido possível.

Com o sistema de permanência das armadilhas por uma noite, será gasto 1 dia para instalação e vistoria para cada conjunto de 10 covos, com atividades apenas diurnas, sendo que no segundo dia repete-se o procedimento em novos pontos de captura. Esse sistema é indicado para estudos de levantamentos rápidos nos quais a equipe deseje amostrar apenas quelônios.

Já no sistema de permanência por 04 horas, serão gastos apenas o fim da tarde e parte da noite, de modo que demais períodos do dia poderão ser utilizados para outras atividades. Indica-se esse sistema para levantamentos rápidos nos quais a equipe deseja amostrar répteis em geral ou herpetofauna, necessitando da manhã e do início da noite para execução de outras metodologias. Nas amostragens adicionais realizadas no presente estudo, o sistema de 04 horas de permanência foi adotado como metodologia complementar em amostragens da herpetofauna, com bom êxito.

Mesmo que o protocolo de permanência por uma noite ou 04 horas contemple menor esforço de captura, no caso do mesmo ser replicado ao longo de um extenso período de campo o esforço amostral será elevado, fornecendo bom sucesso de captura.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o modelo de covo avaliado é eficaz para captura de diversas espécies de quelônios dulcícolas, em diversos ambientes lênticos e lóticos, especialmente em pequenos corpos d'água. A sardinha enlatada é uma isca eficaz para atração desses quelônios. Entretanto, para que seja obtido bom sucesso de captura com métodos, é necessário um grande esforço amostral.

Períodos de permanência do covo instalado de uma noite e de 24 horas são eficazes para captura em um mesmo ponto amostral. Dentre os covos disponíveis no mercado, os tamanhos pequeno, médio e grande são eficazes.



O modelo de covo avaliado é eficaz para captura de quelônios em diversas idades, desde neonatos a adultos velhos, mas para algumas espécies de maior porte pode haver limitações de tamanho.

Aparentemente, o covo não gera grande estresse ou lesões aos quelônios capturados, desde que sejam retirados até no máximo 24 horas, e a manutenção de um espaço da armadilha fora da água é suficiente para que sejam evitados afogamentos.

O modelo de covo avaliado, iscado com sardinha, também é eficaz para atração e captura de pequenos jacarés, serpentes aquáticas, determinados grupos de peixes e caranguejos dulcícolas.

Um protocolo sugerido para estudos mais longos corresponde ao uso de 20 ou mais covos de tamanhos distintos, instalados de modo a contemplar no mínimo 10 pontos amostrais, permanecendo armados por 24 horas e sendo vistoriado no dia seguinte. Outro protocolo corresponde ao uso de 10 covos, instalados de acordo com a disponibilidade dos ambientes, permanecendo armados por uma noite ou por 04 horas no início da noite e sendo vistoriado em seguida.

O modelo de covo avaliado, por ser mais prático e de fácil utilização, corresponde a uma alternativa às dificuldades metodológicas impostas pelos modelos mais convencionais. Os protocolos sugeridos podem ser facilmente utilizados em levantamento de répteis, assim como, em monitoramentos populacionais de quelônios de menor porte.

AGRADECIMENTOS

Aos gestores e funcionários do Parque Nacional da Serra do Cipó, da Área de Proteção Ambiental Morro da Pedreira, do Parque Nacional da Serra da Canastra e da Estação Ecológica de Pirapitinga, por permitirem e apoiarem a realização dos estudos nas respectivas Unidades de Conservação. A Gesinaldo Moura da Silva, Sandro Aparecido Pacheco, Mauro Gomes (ICMBio/CECAV/MG) e José Geraldo da Silva (ICMBio/RAN/Goiânia) pela colaboração nas amostragens de campo.

REFERÊNCIAS

- (1) Souza, FL. 2004. Uma revisão sobre padrões de atividade, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (Testudines, Chelidae). *Phyllomedusa*. 3 (1): 15-27.
- (2) Cantarelli, VH; Malvasio, A; Verdade, LM. 2014. Brazil's *Podocnemis expansa* Conservation Program: Retrospective and future directions. *Chelonian Conservation and Biology*. 13 (1): 124-128.
- (3) Vogt, RC. *Tartarugas da Amazônia*. Lima: Walter H. Wust, 2008.
- (4) Guix, JC; Miranda, JR; Nunes, VS. 1992. Observaciones sobre la ecología de *Hydromedusa maximiliani*. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*. 3: 23-25.
- (5) Martins, FI; Souza, FL. 2008. Estimates of growth of the Atlantic Rain Forest freshwater turtle *Hydromedusa maximiliani* (Chelidae). *Journal of Herpetology*. 42 (1): 54-60.
- (6) Souza, FL; Abe, AS. 1995. Observations on feeding habits of *Hydromedusa maximiliani* (Testudines: Chelidae) in southeastern Brazil. *Chelonian Conservation and Biology*. 1: 320-322.
- (7) Souza, FL; Abe, AS. 1997a. Seasonal variation in the feeding habits of *Hydromedusa maximiliani* (Testudines, Chelidae). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*. 8: 17-20.
- (8) Souza, FL; Abe, AS. 1997b. Population structure, activity, and conservation of the Neotropical freshwater turtle, *Hydromedusa maximiliani*, in Brazil. *Chelonian Conservation and Biology*. 2: 521-525.
- (9) Souza, FL; Abe, AS. 1998. Resource partitioning by the Neotropical freshwater turtle, *Hydromedusa maximiliani*. *Journal of Herpetology*. 32 (1): 106-112.
- (10) Brito, ES; Strussmann, C; Baicere-Silva, C. 2009. Courtship behavior of *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973) (Testudines: Chelidae) under natural conditions in the Brazilian Cerrado. *Herpetology Notes*. 2: 67-72.
- (11) Brito, ES; Strussmann, C; Penha, JMF. 2009. Population structure of *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973) (Testudines: Chelidae) in the Cerrado of Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brazil. *Biota Neotropica*. 9 (4): 1-4.

- (12) Bujes, CS. 1998. Atividade de nidificação de *Phrynops hilarii* Duméril & Bibron (Testudines, Chelidae) na Reserva Biológica do Lami, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 15 (4): 921-928.
- (13) Bujes, CS; Verrastro, L. 2009. Nest temperature, incubation time, hatching, and emergence in the Hilaire's side-necked turtle (*Phrynops hilarii*). *Herpetological Conservation and Biology*. 4 (3): 306-312.
- (14) Fagundes, CK; Bager, A. 2007. Ecologia reprodutiva de *Hydromedusa tectifera* (Testudines: Chelidae) no sul do Brasil. *Biota Neotropica*. 7 (2): 179-184.
- (15) Magnusson, WE; Lima, AC; Costa, VL; Vogt, RC. 1997. Home range of the turtle *Phrynops rufipes* in an isolated reserve in Central Amazônia, Brazil. *Chelonian Conservation and Biology*. 2 (4): 494-499.
- (16) Souza, FL; Abe, AS. 2000. Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. *Journal of Zoology*. 252 (4): 437-446.
- (17) Souza, FL; Abe, AS. 2001. Population structure and reproductive aspects of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting an urban river in Southeastern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. 36 (1): 57-62.
- (18) Pavan, D; Dizo, M. 2004. A herpetofauna da área de influência do reservatório da Usina Hidrelétrica Luís Eduardo Magalhães, Palmas, TO. *Humanitas*. 4/6: 13-30.
- (19) Recoder, RS; Teixeira Jr, M; Camacho, A; Nunes, PMS; Mott, T; Valdujo, PH; Ghellere, JM; Nogueira, C; Rodrigues, MT. 2011. Répteis da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, Brasil Central. *Biota Neotropica*. 11 (1): 263-282.
- (20) Santos, DL; Andrade, SP; Victor Jr, EP; Vaz-Silva, W. 2014. Amphibians and reptiles from southeastern Goiás, Central Brazil. *Check List*. 10 (1): 131-148.
- (21) Silva Jr, NJ; Cintra, CED; Silva, HLR; Costa, MC; Souza, CA; Pachêco Jr, AA; Gonçalves, FA. 2009. Herpetofauna, Ponte de Pedra Hydroelectric Power Plant, states of Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, Brazil. *Check List*. 5 (3): 518-525.
- (22) Vaz-Silva, W; Guedes, AG; Azevedo-Silva, PL; Gontijo, FF; Barbosa, RS; Aloísio, GR; Oliveira, FCG. 2007. Herpetofauna, Espora Hydroelectric Power Plant, state of Goiás, Brazil. *Check List*. 3 (4): 338-345.
- (23) Lagler, KF. 1943. Methods of collecting freshwater turtles. *Copeia*. 1943 (1): 21-25.

- (24) Lovich, RF. Techniques for reptiles in difficult-to-sample habitats, pp. 167-196. In: Mcdiarmind, RW; Foster, MS; Guyer, C; Gibbons, JW; Chernoff, N eds. Reptile Biodiversity: standard methods for inventory and monitoring. Berkeley / Los Angeles / Londres: University of California Press. 2012, xii+412 p.
- (25) Bury, RB. 2011. Modifications of traps to reduce by catch of freshwater turtles. *Journal of Wildlife Management*. 75 (1): 3-5.
- (26) Iverson, JB. 1979. Another inexpensive turtle trap. *Herpetological Review*. 10 (2): 55.
- (27) Kennett, R. 1992. A new trap design for catching freshwater turtles. *Wildlife Research*. 19: 443-445.
- (28) Kuchling, G. 2003. A new underwater trap for catching turtles. *Herpetological Review*. 34 (2): 126-128.
- (29) Vogt, RC. 1980. New methods for trapping aquatic turtles. *Copeia*. 1980 (2): 368-371.
- (30) Brown, DJ; Mali, I; Forstner, MRJ. 2011. No difference in short-term temporal distribution of trapping effort on hoop-net capture efficiency for freshwater turtles. *Southeastern Naturalist*. 10: 245-250.
- (31) Gamble, T. 2006. The relative efficiency of basking and hoop traps for Painted Turtles (*Chrysemys picta*). *Herpetological Review*. 37 (3): 308-312.
- (32) Mali, I; Brown, DJ; Jones, MC; Forstner, MRJ. 2012. Switching bait as a method to improve freshwater turtle capture and recapture success with hoop net traps. *Southeastern Naturalist*. 11 (2): 311-318.
- (33) Nall, IM; Thomas, RB. 2009. Does method of bait presentation within funnel traps influence capture rates of semi-aquatic turtles? *Herpetological Conservation and Biology*. 4 (2): 161-163.
- (34) Sterrett, SC; Smith, LL; Schweitzer, SH; Maerz, JC. 2010. An assessment of two methods for sampling river turtle assemblages. *Herpetological Conservation and Biology*. 5 (3): 490-497.
- (35) Ernst, CH. 1965. Bait preferences of some freshwater turtles. *Ohio Herpetological Society Newsletter*. 5: 53.
- (36) Mali, I; Haynes, D; Forstner, MRJ. 2014. Effects of bait type, bait age, and trap hours on capture success of freshwater turtles. *Southeastern Naturalist*. 13 (3): 619-625.

(37) Balestra, RAM; Valadão, RM; Vogt, RC; Bernhard, R; Ferrara, CR; Brito, ES; Arias, RB; Malvásio, A; Lustosa, APG; Souza, FL; Drummond, GM; Bassetti, LAB; Coutinho, ME; Ferreira Jr, PD; Campos, ZMS; Mendonça, SHST; Rocha, JMN; Luz, VLF. 2016. Roteiro para inventários e monitoramentos de quelônios continentais. *Biodiversidade Brasileira*. 6 (1): 114-152.

(38) Cagle, FR. 1939. A system of marking turtles for future identification. *Copeia*. 1939 (3): 170-172.

(39) Pritchard, PCH; Trebbau, P. *The Turtles of Venezuela*. Oxford: Society for the Study of Amphibians and Reptiles, 1984.

AVALIAÇÃO DE TIPAGEM SANGUÍNEA, TESTE GLICÊMICO E PRESSÃO ARTERIAL

EVALUATION OF BLOOD TYPES, GLYCEMIC TEST AND BLOOD PRESSURE

^{1*}Anna Clara Balbina Silva, ²Breno Pizzo Mathias, ²Joyce Pereira Takatsuka, ²Gabriel Antônio Nogueira Nascentes, ²Polyanna Miranda Alves

^{1*} Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Praça Manuel terra, 330 – Uberaba/MG 38025-200 annaclara1996@live.com

² Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba - MG, 38064-790

RESUMO

O diabetes e a hipertensão arterial sistêmica são as duas doenças mais comuns nos países industrializados. Tem sido sugerido que o locus do sistema ABO pode influenciar marcadores endoteliais e inflamatórios. A maioria dos estudantes de graduação do Instituto Federal do Triângulo Mineiro desconhecem o seu tipo sanguíneo, tornando-se válido a identificação dos grupos sanguíneos, além da avaliação dos níveis de glicemia e pressão arterial. Os objetivos do trabalho foram identificar o tipo sanguíneo de alunos do ensino superior do IFTM, *Campus Uberaba*, e analisar a amostra de sangue relacionando o tipo sanguíneo aos valores da glicemia e pressão arterial. O experimento foi realizado no município de Uberaba-MG e conduzido em laboratório do IFTM *Campus Uberaba*. As coletas foram realizadas nos meses de março e abril de 2017 no período matutino. Em relação ao tipo sanguíneo, predominou o tipo O positivo, seguido do A positivo, B positivo e O negativo. Os tipos sanguíneos menos frequentes foram A negativo, AB positivo, B negativo e nenhum aluno apresentou tipo sanguíneo AB negativo. Não foi encontrada diferença significativa ao correlacionar o tipo sanguíneo com a glicemia ou a pressão arterial.

Palavras-chave: Antígeno, Diabetes, Fator Rhesus, Hipertensão, Sistema ABO.

ABSTRACT

Diabetes and systemic arterial hypertension are the two most common diseases in industrialized countries. The frequency of these changes in populations increases with age. Since blood typing is not requested from students at the Federal Institute of Triângulo Mineiro, the identification of blood groups becomes valid. In addition to the assessment of blood glucose levels and blood pressure. The objectives of this study were to identify the blood type of IFTM higher education students, *Campus Uberaba*, and to analyze the blood sample relating blood type to blood glucose and blood pressure values. The experiment was carried out in the city of Uberaba-MG and conducted in a laboratory of IFTM *Campus Uberaba*. The collections were performed in March and April 2017 in the morning. Regarding blood type, type O positive predominated, followed by A positive, B positive and O negative. The least



frequent blood types were A negative, AB positive, B negative and no student had AB negative blood type. No significant difference was found when correlating blood type with blood glucose or blood pressure.

Keywords: Antigen, Diabetes, Rhesus Factor, Hypertension, ABO system.

INTRODUÇÃO

Grupos sanguíneos estão sendo utilizados como fatores de associação a algumas doenças. Fagherazzi et al.⁽¹⁾, avaliaram a relação do grupo sanguíneo ABO (A, B, AB e O), o fator Rhesus (positivo ou negativo) e a combinação do grupo sanguíneo e fator Rhesus (Rh) com o risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2. O estudo apurou que, comparativamente com as mulheres com grupo sanguíneo O, os indivíduos com o tipo A e B apresentavam um risco 10 e 21% maior de desenvolver diabetes tipo 2. Relativamente às mulheres do grupo sanguíneo AB, estas apresentavam um risco 17% maior de desenvolver a doença, contudo, esta diferença não foi estatisticamente significativa.

As razões que estão na base desta associação ainda são desconhecidas, mas podem estar relacionadas com vários fatores. Tem sido sugerido que o locus ABO pode influenciar marcadores endoteliais e inflamatórios⁽²⁾. Este grupo está também associado a várias moléculas, conhecidas por estarem associadas à diabetes tipo 2⁽³⁾. O diabetes e a hipertensão arterial sistêmica são as duas doenças mais comuns nos países industrializados e a frequência dessas duas patologias nessas populações aumentam com a idade⁽⁴⁾. A prevalência de hipertensão em indivíduos diabéticos é duas vezes maior que numa população de não diabéticos. Essa proporção é válida para o diabetes mellitus do tipo 2 e, provavelmente, também para o tipo 1⁽⁵⁾.

O termo “diabetes mellitus” (DM), ou do tipo 2, refere-se a um transtorno metabólico de etiologias heterogêneas, caracterizado por hiperglicemia e distúrbios no metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras, resultantes de defeitos da secreção e/ou da ação da insulina⁽⁶⁾ de acordo com Alsuhaibani et al.⁽⁷⁾ o DM vem aumentando sua importância pela sua crescente prevalência e habitualmente está associado à dislipidemia, à hipertensão arterial e à disfunção endotelial. É um

problema de saúde considerado Condição Sensível à Atenção Primária, ou seja, evidências demonstram que o bom manejo deste problema ainda na Atenção Básica evita hospitalizações e mortes por complicações cardiovasculares e cerebrovasculares⁽⁸⁾.

Uma vez que não é solicitado aos alunos de curso superior do Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM) a tipagem sanguínea no momento da matrícula, torna-se de grande valia a identificação dos grupos sanguíneos para esses alunos, além da medida dos níveis de glicose e pressão arterial.

O objetivo da presente pesquisa foi identificar a tipagem sanguínea de alunos do ensino superior do IFTM e analisar a amostra de sangue correlacionando o tipo sanguíneo com a ocorrência do diabetes e a pressão arterial.

METODOLOGIA

O trabalho de coleta foi realizado entre fevereiro de 2017 e abril de 2017 no laboratório do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, envolvendo somente alunos de maioria dos cursos superiores do IFTM – *Campus* Uberaba (Licenciatura em Ciências Biológicas, Licenciatura em Química, Tecnólogo em Tecnologia de Alimentos, Zootecnia e Engenharia Agrônômica). O Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro (IFTM), em consonância com a Lei nº 11.892, de 29 de dezembro de 2008, foi criado mediante integração dos antigos Centros Federais de Educação Tecnológica, Escolas Técnicas e Agro técnicas.

Os alunos foram convidados a participar de um experimento sobre a tipagem sanguínea, envolvendo o diabetes e a hipertensão. Os alunos que concordaram em participar da pesquisa, totalizando 164 indivíduos e assinaram o termo de consentimento. Após a assinatura do termo, ocorreu uma rápida entrevista com alguns parâmetros que foram analisados posteriormente, em seguida foi realizada a tipagem sanguínea e o teste glicêmico. Posteriormente ocorreu o procedimento de aferir a pressão arterial.

Para realizar o teste glicêmico e a tipagem sanguínea foi feito um orifício no dedo dos indivíduos participantes com a utilização de lancetas e do aparelho medidor de glicose (On call Plus II®) para o teste de glicemia, por meio deste mesmo orifício foi coletado mais três amostras sanguíneas para a tipagem sanguínea. As lancetas utilizadas para fazer o orifício no dedo e as tiras para medida de glicose foram individuais e descartáveis. Também foi solicitado aos participantes um jejum de pelo menos 8 horas. Após a avaliação do nível da glicose no sangue, foi oferecido aos participantes um lanche.

Foram realizadas análises descritivas da população amostrada e dos parâmetros analisados (Tab. 1). Os resultados do teste glicêmico e da aferição da pressão arterial foram submetidos a testes estatísticos no software Statistica 10.0 (Statsoft, Tulsa, OK, 2011) que permitia correlacionar o tipo sanguíneo, a faixa etária e o gênero.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste (parecer nº 1.862.642). Os dados foram coletados mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos participantes da pesquisa.

Tabela 1. Análises descritivas da população estudada e dos parâmetros analisados.

| Informações do questionário | N | % |
|------------------------------|-----|-------|
| Faixa etária | | |
| < 20 anos | 75 | 48,7 |
| 21-30 anos | 70 | 45,5 |
| 31-40 anos | 3 | 1,9 |
| 41-50 anos | 1 | 0,6 |
| 51-60 anos | 2 | 1,3 |
| Não informado | 3 | 1,9 |
| Gênero | | |
| Masculino | 81 | 52,6 |
| Feminino | 73 | 47,4 |
| Sabe o tipo sanguíneo | | |
| Não | 89 | 57,8 |
| Sim | 65 | 42,2 |
| Doador de sangue | | |
| Não | 135 | 87,7 |
| Sim | 19 | 12,3 |
| Diabetes | | |
| Não | 154 | 100,0 |
| Sim | 0 | 0,0 |
| Hipertensão arterial | | |
| Não | 150 | 97,4 |
| Sim | 4 | 2,6 |

RESULTADOS

A população de alunos do curso superior do IFTM estudada possui cerca de 62 indivíduos do tipo O positivo, 60 indivíduos A positivo, 5 indivíduos AB positivo, 10 indivíduos O negativo, 6 indivíduos A negativo, 2 indivíduos B negativo e nenhum indivíduo AB negativo. Em relação ao fator Rh houve um maior número de indivíduos apresentando o fator Rh positivo que o Rh negativo. Dos alunos participantes, 66 estavam certos sobre seu tipo sanguíneo, 3 não estavam

certos sobre o tipo sanguíneo e o restante dos alunos, 95 indivíduos, não sabiam de qual grupo sanguíneo pertenciam. Em relação à glicemia, 6 indivíduos apresentaram a glicemia ≥ 100 mg/dL e os outros 158 apresentaram a glicemia ≤ 100 mg/dL.

De acordo com a Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial as classificações de pressão arterial em mm Hg (PAS, pressão arterial sistólica e PAD, pressão arterial diastólica) são: normal PAS ≤ 120 e PAD ≤ 80 . Pré-hipertensão PAS 121-139 e PAD 81-89. Hipertensão Estágio 1 PAS 140-159 e PAD 90-99. Hipertensão Estágio 2 PAS 160-179 e PAD 100-109. Hipertensão Estágio 3 PAS ≥ 180 e PAD ≥ 110 . Em relação à Hipertensão arterial, 65 indivíduos apresentaram a pressão arterial normal, 38 indivíduos apresentaram pré-hipertensão, 50 indivíduos hipertensão estágio 1, 9 indivíduos hipertensão estágio 2 e apenas 2 indivíduos apresentaram hipertensão estágio 3.

Os resultados de glicemia mostraram que não houve diferença significativa em relação ao gênero e à faixa etária. Não houve diferença significativa quando correlacionamos a glicemia com o tipo sanguíneo, fator Rh e os valores da pressão arterial (Tab. 3).

Os resultados de pressão arterial mostraram uma diferença significativa ($p < 0,001$) em relação ao gênero masculino quando comparado com o gênero feminino.

A pressão arterial apresentou maior alteração em indivíduos do grupo sanguíneo A positivo do que nos outros grupos (Tab. 4).

Tabela 2. Características da população avaliada que apresentou glicemia alterada.

| Parâmetros avaliados | Parâmetros avaliados | Glicemia alterada | Valor-p |
|----------------------|----------------------|-------------------|---------|
| Gênero | Masculino | 3/81 (3,7%) | 0,976 |
| | Feminino | 3/83 (3,6%) | |
| Faixa etária | < 20 anos | 3/80 (3,8%) | 0,146 |
| | 21-30 anos | 2/74(2,7%) | |
| | 31-40 anos | 1/4 (25,0%) | |
| | > 40 anos | 0/3 (0,0%) | |
| Doador de sangue | Não | 5/141 (3,6%) | 0,849 |
| | Sim | 1/23 (4,4%) | |
| Tipo sanguíneo ABO | A | 3/66 (4,6%) | 0,893 |
| | B | 1/20 (5,0%) | |
| | AB | 0/5 (0,0%) | |
| | O | 2/73 (2,7%) | |
| Fator Rh | Negativo | 2/19 (10,5%) | 0,090 |
| | Positivo | 4/145 (2,8%) | |
| Tipo sanguíneo | A- | 1/6 (16,7%) | 0,543 |
| | A+ | 2/60 (3,3%) | |
| | B- | 0/2 (0,0%) | |
| | B+ | 1/18 (5,6%) | |
| | AB+ | 0/5 (0,0%) | |
| | O- | 1/11 (9,1%) | |
| | O+ | 1/62 (1,6%) | |
| Hipertensão arterial | Normal | 3/65 (4,6%) | 0,857 |
| | Pré-hipertensão | 1/38 (2,6%) | |
| | Hipertensão | 2/61 (3,3%) | |
| Pressão arterial | Normal | 3/65 (4,62%) | 0,597 |
| | Alterada | 3/99 (3,03%) | |

Tabela 3. Tabela da glicemia correlacionada com os grupos sanguíneos.

| Variável | Parâmetros avaliados | Idade | Glicemia | PAS | PAD |
|------------------|----------------------|----------------------|---------------|-------------------|--------------|
| Gênero | Masculino | 22,1 ± 6,0 | 81,4 ± 13,0 | 13,4 ± 1,3 | 8,2 ± 1,0 |
| | Feminino | 21,6 ± 4,6 | 84,0 ± 35,2 | 12,3 ± 1,4 | 7,9 ± 0,8 |
| | Valor-p | 0,925 | 0,312 | < 0,001 | 0,025 |
| Faixa etária | < 20 anos | | 82,5 ± 35,3 | 13,0 ± 1,4 | 8,1 ± 0,7 |
| | 21-30 anos | | 82,4 ± 14,5 | 12,7 ± 1,5 | 8,0 ± 1,0 |
| | 31-40 anos | | 87,5 ± 13,3 | 13,0 ± 1,2 | 8,8 ± 1,0 |
| | > 40 anos | | 97,0 ± 2,0 | 13,0 ± 2,0 | 8,3 ± 1,5 |
| | Valor-p | | 0,055 | 0,584 | 0,250 |
| Doador de sangue | Não | 21,3 ± 4,4 | 82,4 ± 28,4 | 12,9 ± 1,5 | 8,1 ± 0,9 |
| | Sim | 25,3 ± 8,6 | 84,5 ± 10,5 | 12,5 ± 1,2 | 7,9 ± 1,0 |
| | Valor-p | < 0,001 | 0,104 | 0,122 | 0,350 |
| Tipo sanguíneo | A | 21,0 ± 3,4 b | 83,1 ± 40,3 | 12,9 ± 1,4 | 8,1 ± 0,8 |
| | B | 23,8 ± 5,2 a | 83,0 ± 11,5 | 12,5 ± 1,3 | 8,0 ± 0,8 |
| | AB | 21,8 ± 6,9 b | 76,6 ± 10,2 | 13,4 ± 0,9 | 8,0 ± 0,7 |
| | O | 22,0 ± 6,6 b | 82,7 ± 9,8 | 12,8 ± 1,6 | 8,0 ± 1,0 |
| | Valor-p | 0,016 | 0,139 | 0,538 | 0,872 |
| Fator Rh | Negativo | 20,2 ± 2,0 | 96,9 ± 66,6 | 12,4 ± 1,3 | 7,9 ± 0,7 |
| | Positivo | 22,0 ± 5,6 | 80,9 ± 14,7 | 12,9 ± 1,4 | 8,1 ± 0,9 |
| | Valor-p | 0,094 | 0,566 | 0,232 | 0,554 |
| Tipo sanguíneo | A- | 19,3 ± 1,0 b | 134,3 ± 114,2 | 12,3 ± 1,2 | 8,0 ± 0,6 |
| | A+ | 21,2 ± 3,5 ab | 78,0 ± 19,7 | 13,0 ± 1,4 | 8,1 ± 0,9 |
| | B- | 24,5 ± 0,7 a | 71,0 ± 21,2 | 12,0 ± 1,4 | 7,5 ± 0,7 |
| | B+ | 23,7 ± 5,4 a | 84,3 ± 10,1 | 12,6 ± 1,3 | 8,0 ± 0,8 |
| | AB+ | 21,8 ± 6,9 ab | 76,6 ± 10,2 | 13,4 ± 0,9 | 8,0 ± 0,7 |
| | O- | 19,8 ± 1,6 b | 81,2 ± 13,3 | 12,5 ± 1,5 | 7,9 ± 0,7 |
| | O+ | 22,5 ± 7,1 ab | 83,0 ± 9,2 | 12,9 ± 1,6 | 8,0 ± 1,0 |
| | Valor-p | 0,014 | 0,051 | 0,689 | 0,949 |

Continua

Continuação:

| | | | | |
|----------------------|-----------------|------------|-------------|-----------|
| Glicemia de jejum | < 100 mg/dL | 21,7 ± 5,2 | 12,9 ± 1,4 | 8,0 ± 0,9 |
| | > 100 mg/dL | 24,3 ± 7,8 | 12,3 ± 1,2 | 8,2 ± 1,2 |
| | Valor-p | 0,511 | 0,359 | 0,862 |
| Hipertensão arterial | Normal | 21,7 ± 4,8 | 83,4 ± 37,5 | |
| | Pré-hipertensão | 21,4 ± 4,2 | 81,7 ± 12,5 | |
| | Hipertensão | 22,2 ± 6,4 | 82,6 ± 18,0 | |
| | Valor-p | 0,822 | 0,264 | |
| Pressão arterial | Normal | 21,7 ± 4,8 | 83,4 ± 37,5 | |
| | Alterada | 21,9 ± 5,7 | 82,2 ± 16,1 | |
| | Valor-p | 0,554 | 0,107 | |

*O valor-p se refere ao resultado do teste de Mann-Whitney, para os parâmetros com duas amostras independentes, ou Kruskal-Wallis, para os parâmetros com três ou mais amostras. Neste caso, letras distintas indicam as categorias em que foram verificadas diferenças significativas após a realização do teste de múltiplas comparações de Dunn.

Tabela 4. Tabela da Pressão arterial correlacionada com os grupos

| Parâmetros avaliados | Pressão arterial alterada | Valor-p |
|---------------------------|---------------------------|-------------------|
| Gênero | | |
| Masculino | 65/81 (80,3%) | < 0,001 |
| Feminino | 34/83 (41,0%) | |
| Faixa etária | | |
| < 20 anos | 52/80 (65,0%) | 0,598 |
| 21-30 anos | 41/74 (55,4%) | |
| 31-40 anos | 3/4 (75,0%) | |
| > 40 anos | 2/3 (66,7%) | |
| Doador de sangue | | |
| Não | 88/141 (62,4%) | 0,185 |
| Sim | 11/23 (47,8%) | |
| Tipo sanguíneo ABO | | |
| A | 41/66 (62,1%) | 0,754 |
| B | 11/20 (55,0%) | |
| AB | 4/5 (80,0%) | |
| O | 43/73 (58,9%) | |
| Fator Rh | | |
| Negativo | 10/19 (52,6%) | 0,464 |
| Positivo | 89/145 (61,4%) | |
| Tipo sanguíneo | | |
| A- | 3/6 (50,0%) | 0,943 |
| A+ | 38/60 (63,3%) | |
| B- | 1/2 (50,0%) | |
| B+ | 10/18 (55,6%) | |
| AB+ | 4/5 (80,0%) | |
| O- | 6/11 (54,6%) | |
| O+ | 37/62 (59,7%) | |
| Glicemia | | |
| < 100 mg/dL | 96/158 (60,8%) | 0,597 |
| > 100 mg/dL | 3/6 (50,0%) | |

*O valor-p se refere ao resultado do teste do qui-quadrado.

DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que 42,1% dos alunos dos cursos superiores do IFTM – *Campus* Uberaba não sabiam a qual grupo sanguíneo pertenciam. Uma vez identificado o tipo sanguíneo isso facilitaria na possível ocorrência da necessidade de transfusão sanguínea.

Ao avaliarmos a frequência dos grupos sanguíneos podemos observar que os alunos dos grupos sanguíneos A e O representaram juntos 122 (37,8% tipo O, n = 62 e 36,58% tipo A, n = 60) do total de alunos. Nossos resultados estão de acordo com Silva et al.⁸ que averiguaram 42,41% indivíduos pertencentes ao grupo sanguíneo A; 41,74% indivíduos do grupo O; 12,5% indivíduos do grupo B e 3,35% indivíduos do grupo AB. Comparativamente, os resultados encontrados no IFTM-*Campus* Uberaba equiparam-se aos resultados obtidos em relação ao do total da população brasileira que é aproximadamente: 45% O, 42% A, 10% B e 3% AB, onde o grupo O foi o mais prevalente, seguido pelo grupo A.

Fagherazzi, et al.⁽¹⁾ avaliaram a relação do grupo sanguíneo ABO (A, B, AB e O), o fator Rhesus (positivo ou negativo) e a combinação do grupo sanguíneo e fator Rhesus (Rh) com o risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2. O estudo apurou que, comparativamente com as mulheres com grupo sanguíneo O, os indivíduos com o tipo A e B apresentavam um risco 10 e 21% maior de desenvolver diabetes tipo 2. Relativamente às mulheres do grupo sanguíneo AB, estas apresentavam um risco 17% maior de desenvolver a doença, contudo, esta diferença não foi estaticamente significativa. As razões que estão na base desta associação ainda são desconhecidas, mas podem estar relacionadas com vários fatores ².

Os resultados da correlação da glicemia com os diferentes tipos sanguíneos dos alunos dos cursos superiores do IFTM – *Campus* Uberaba não apresentaram diferença significativa. Podemos supor que provavelmente não encontramos uma correlação devido ao fato da glicemia da maior parte dos alunos (n=158) se encontrar nos padrões da normalidade (< 100 mg/dL). Se fizéssemos essa

correlação com indivíduos portadores de alguma alteração na glicemia, talvez encontrássemos algum valor significativo.

No diabetes tipo 1 ocorre destruição das células beta do pâncreas, usualmente por processo autoimune. O diabetes tipo 2 é mais comum do que o tipo 1, perfazendo cerca de 90% dos casos de diabetes. É uma entidade heterogênea, caracterizada por distúrbios da ação e secreção da insulina, com predomínio de um ou outro componente. A etiologia específica deste tipo de diabetes ainda não está claramente estabelecida como no diabetes tipo 1. A destruição autoimune do pâncreas não está envolvida⁽⁹⁾.

Os resultados de pressão arterial mostraram uma diferença significativa ($p < 0,001$) em relação ao gênero masculino quando comparado com o gênero feminino. A pressão arterial apresentou maior alteração em indivíduos do grupo sanguíneo A positivo do que nos outros grupos. No presente trabalho 99 alunos demonstraram ter a pressão arterial alterada isso representa 60,4% do total de alunos.

Inquéritos populacionais em cidades brasileiras nos últimos vinte anos apontaram uma prevalência de HAS acima de 30%. Considerando-se valores de PA $> 140/90$ mmHg, 22 estudos encontraram prevalências entre 22,3% e 43,9%, (média de 32,5%), com mais de 50% entre 60 e 69 anos e 75 % acima de 70 anos⁴. Entre os gêneros, a prevalência foi de 35,8% em homens e de 30% em mulheres, semelhante à de outros países. Revisão sistemática quantitativa de 2003 a 2008, de 44 estudos em 35 países, revelou uma prevalência global de 37,8% em homens e 32,1% em mulheres⁽⁷⁾.

Não encontramos na literatura associação dos tipos sanguíneos com a pressão arterial. Em relação ao gênero nossos resultados estão de acordo com a literatura em que o gênero masculino apresentou diferença significativa em relação ao feminino.

A hemoterapia brasileira desde os seus primórdios demonstra a busca por uma organização e modelo característico de nosso país. Destacam-se o pioneirismo das artesanais transfusões realizadas por alguns cirurgiões na tentativa de salvar

vidas, a criação dos primeiros Serviços de Transfusão nos anos 40, o advento da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia em 1950, a Campanha da Doação Voluntária da SBHH de 1980 e o Programa Nacional de Sangue com a criação de hemocentros⁽⁸⁾.

Hoje vivemos uma hemoterapia acoplada à hematologia, a nova fronteira que é apresentada à hemoterapia no século XXI relaciona-se a tudo aquilo que a medicina considera hoje como ciência de ponta, como a biologia molecular, a engenharia genética e a terapia celular, além disso, há uma necessidade constante de conscientização, da população, sobre a importância da doação de sangue. Os resultados desse trabalho mostraram que 86% dos alunos que participaram da pesquisa não são doadores de sangue, vindo a confirmar a real necessidade das campanhas dos Hemocentros em parceria com instituições vinculadas à comunicação e a sistemas de ensino educacionais como escolas, institutos federais, universidades e afins.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal do Triângulo Mineiro que possibilitou a realização deste trabalho e aos servidores dos laboratórios.

REFERÊNCIAS

- (1) Fagherazzi, G; Gusto, G; Clavel-Chapelon, F; Balkau, B; Bonnet, F. 2015. ABO and Rhesus blood groups and risk of type 2 diabetes: evidence from the large E3N cohort study. *Diabetologia*. 58:519-522.
- (2) Wang, J; García-Bailo, B; Nielsen, DE; El-Soheily, A. 2014. ABO genotype, 'Blood-Type' diet and cardiometabolic risk factors. *PLoS One*. 9(1): e84749.
- (3) Aboel-Fetoh, NM; Alanazi, AR; Alanazi, AS; Alruwili, AN. 2016. ABO blood groups and risk for obesity in Arar, Northern Saudi Arabia. *J Egypt Public Health Assoc*, 91(4):169-173.
- (4) Rummel, SK; Ellsworth, RE. 2016. The role of the histoblood ABO group in cancer. *Future Sci AO*, 2(2): FSO107.

- (5) Cusack, L; DeBuck E; Compennolle, V; Vandekerckhove, P. 2013. Blood type diets lack supporting evidence: a systematic review *Am J Clin Nutr*, 98(1): 99-104.
- (6) Liumbruno, GM; Franchini, M. 2013. Beyond immunohaematology: the role of the ABO blood group in human diseases. *Blood Transfuse*, 11(4): 491–499.
- (7) Alsuhaibani, ES; Kizilbash, NA; Malik, S. 2015. Heterogeneity and diversity of ABO and Rh blood group genes in select Saudi Arabian populations. *Genet Mol Res*, 14(3): 7850-7863.
- (8) Malik, VS; Willett, WC; Hu, FB. 2013. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat Rev Endocrinol*, 9(1):13-27.
- (9) Denicola, E; Aburizaiza, OS; Siddique, A; Khwaja, H; Carpenter, DO. 2015. Obesity and public health in the Kingdom of Saudi Arabia. *Rev Environ Health*, 30(3): 191-205.

ENGENHARIA GENÉTICA, CRISPR E DOENÇAS CARDIOVASCULARES: A EDIÇÃO DE GENOMAS ROMPENDO FRONTEIRAS

GENETIC ENGINEERING, CRISPR AND CARDIOVASCULAR DISEASES: THE EDITION OF GENOMES BREAKING FRONTIERS

¹Nayane Soares de Lima, ¹Rômulo Morais Azevedo, ²Aline Helena da Silva Cruz, ^{1,3}Angela Adamski da Silva Reis, ^{1,4*}Rodrigo da Silva Santos

¹Laboratório de Patologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil *rdssantos@gmail.com
²Colegiado de Ciências Biológicas, Sociedade de Educação e Cultura de Goiás, Sociedade de Educação e Cultura de Goiás, Faculdade Araguaia, Goiânia, GO
³Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO
⁴Colegiado de Ciências da Natureza (LEdoC), Unidade Acadêmica Especial de Ciências Humanas, Universidade Federal de Goiás, Goiás, GO

RESUMO

As Doenças Cardiovasculares (DCVs) representam um conjunto de patologias que acometem o coração e os vasos sanguíneos, estas são consideradas como uma das principais causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo, contribuindo para o aumento significativo de gastos dos sistemas de saúde. As DCVs são definidas como a incapacidade do coração em bombear sangue, oxigênio e nutrientes para os órgãos e tecidos. São patologias de etiologia multifatorial e seu desenvolvimento é relacionado, principalmente, aos fatores genéticos. Atualmente, sabe-se que determinadas variações gênicas podem implicar na susceptibilidade e progressão da doença. Toda via, ainda não existem métodos de prevenção e diminuição do ritmo de progressão das DCVs com base nos fatores genéticos. Assim, este estudo visa correlacionar a técnica CRISPR/Cas9 às DCVs. O CRISPR/Cas9 é um sistema que se mostra útil na modulação do genoma e edição dos fatores genéticos, este pode ser aplicado na correção das variantes genéticas predizentes à doença, através da inserção ou deleção de bases nitrogenadas do genoma, bem como ser utilizado na diferenciação de células-tronco em cardiomiócitos para a correção de DCVs. O CRISPR/Cas9 é a mais recente e notável ferramenta capaz de editar o DNA, possibilitando a terapia gênica para o controle de inúmeras patologias, incluindo as cardiovasculares.

Palavras-chave: doenças crônicas, edição gênica, biologia molecular, medicina genômica.



ABSTRACT

Cardiovascular Diseases (CVDs) represent a set of pathologies that affect the heart and blood vessels, which are considered as one of the main causes of mortality and morbidity worldwide, contributing to the significant increase in health system spending. CVDs are defined as the inability of the heart to pump blood, oxygen, and nutrients to organs and tissues. They are pathologies of multifactorial etiology and their development is mainly related to genetic factors. It is currently known that certain gene variations may imply in susceptibility and disease progression. But there are no methods to prevent and slow the progression of CVD based on genetic factors. Thus, this study aims to correlate the CRISPR/Cas9 technique to CVDs. CRISPR/Cas9 is a system that is useful in genome modulation and editing of genetic factors. It can be applied to correct genetic variants that predict the disease through the insertion or deletion of nitrogenous bases of the genome, and it can be used in the differentiation of stem cells into cardiomyocytes for the correction of CVDs. CRISPR/Cas9 is the latest and most remarkable DNA-editing tool, enabling gene therapy to control numerous pathologies, including CVDs.

Keywords: chronic diseases, gene edition, molecular biology, genomic medicine.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCVs) afetam indivíduos em qualquer idade. Elas representam um conjunto de patologias que acometem os vasos sanguíneos e o coração. Essas são caracterizadas pela incapacidade do sistema circulatório, comprometendo o fluxo de oxigênio e nutrientes para os tecidos e órgãos⁽¹⁾. As DCVs mais comuns são: aterosclerose, acidente vascular encefálico (AVE), hipertensão arterial sistêmica (HAS), infarto agudo do miocárdio (IAM) e insuficiência cardíaca (IC)⁽²⁾. Destas patologias, as formas mais preocupantes são as que acometem as artérias coronárias e as artérias cerebrais⁽³⁾.

As DCVs são de etiologia multifatorial, compreendendo fatores comportamentais, metabólicos ou genéticos na sua predisposição⁽³⁾. Os fatores comportamentais, considerados também como modificáveis, incluem o tabagismo, consumo de álcool, dislipidemias, obesidade, sedentarismo, uso de anticoncepcionais hormonais e o estresse emocional⁽⁴⁾. Entre os fatores não modificáveis, ou seja, não susceptíveis à eliminação, estão aqueles que englobam fatores genéticos, gênero, histórico familiar de DCVs, idade e etnia⁽¹⁾. Além disso, existem outros fatores associados às complicações por DCVs, as quais são



entidades mórbidas como aterosclerose, diabetes *mellitus* (DM), hipertensão arterial e hipercolesterolemia⁽¹⁾.

Dentre os fatores não modificáveis, os genéticos apresentam-se como a principal causa no desenvolvimento das DCVs. Alguns polimorfismos genéticos e mutações em determinados genes, já estão descritos na literatura através de diversos processos de implicação para o desenvolvimento das DCVs, ou das entidades mórbidas que contribuem para a progressão dessas patologias⁽⁵⁾. Alguns dos principais genes associados ao desenvolvimento das DCVs são apresentados na Tabela 1.

Tais genes estão associados aos mecanismos patogênicos para o desenvolvimento das DCVs que incluem fibrose, desequilíbrio de íons de sódio, comprometimento de fatores de transcrição, diferenciação de células/calcificação celular, processos de hipertrofia cardíaca, grave hipercolesterolemia, disfunção septal atrial e ventricular, entre outros⁽⁷⁾.

As DCVs causam o aumento da taxa de mortalidade e morbidade, além de custos elevados para os sistemas de saúde⁽²⁴⁾. Mais pessoas vêm a óbito em consequência de DCVs do que por qualquer outra causa conhecida. Estima-se que no ano de 2015, 17,7 milhões de pessoas vieram a óbito devido ao acometimento dessas patologias, sendo considerada como a principal causa de morte a nível global⁽²⁵⁾.

A distribuição da incidência das DCVs é predominantemente maior na população de idosos. Todavia, a população mais jovem tem sido frequentemente afetada por essas enfermidades, o que tem gerado grande impacto socioeconômico, dado ao aumento no índice de mortalidade e morbidade na fase mais ativa desta população⁽²⁶⁾.

As sintomatologias das DCVs são bem variadas, podem ser assintomáticas ou manifestarem-se por meio de desconforto no peito, dores nos braços, ombro esquerdo, cotovelos, mandíbula ou costas, dificuldade na respiração, sensação de enjôo, tontura, suor frio e palidez. Entre as mulheres predominam sintomas como náuseas, falta de ar, vômitos e dores nas costas ou mandíbula⁽²⁵⁾.

Tabela 1. Alguns dos principais genes associados no desenvolvimento das DCVs.

| Gene | Nome | Ref. |
|---------------------|--|--|
| <i>APOE</i> | Apolipoproteína E | Huang et al., 2017 ⁽⁶⁾ |
| <i>LDLR</i> | Receptor de lipoproteína de baixa densidade | Kathiresan; Srivastava, 2012 ⁽⁷⁾ |
| <i>APOB</i> | Apolipoproteína B-100 | Manson; Bassuk, 2015 ⁽⁸⁾ ; Dittrich et al., 2019 ⁽⁹⁾ |
| <i>ABCG5, ABCG8</i> | Subfamília de cassete de ligação ao ATP | Schumacher; Benndorf, 2017 ⁽¹⁰⁾ ; Yu et al., 2014 ⁽¹¹⁾ |
| <i>PCSK9</i> | Proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 | Iacocca et al., 2018 ⁽¹²⁾ |
| <i>MYH7</i> | Miosina 7 | Marian; Braunwald, 2017 ⁽¹³⁾ ; Molina et al., 2017 ⁽¹⁴⁾ |
| <i>TNNT2</i> | Troponina T | Marsiglia et al., 2013 ⁽¹⁵⁾ |
| <i>MYBPC3</i> | Proteína C de ligação à miosina do tipo cardíaco | Marian; Braunwald, 2017 ⁽¹³⁾ ; Hamedani et al., 2017 ⁽¹⁶⁾ |
| <i>ACTC1</i> | Actina, músculo cardíaco alfa 1 | Wang et al., 2016 ⁽¹⁷⁾ ; Despond; Dawson, 2018 ⁽¹⁸⁾ |
| <i>TPM1</i> | Cadeia de tropomiosina alfa-1 | Nijak et al., 2018 ⁽¹⁹⁾ |
| <i>NKX2-5</i> | Proteína homeobox Nkx-2.5 | Lu et al., 2016 ⁽²⁰⁾ |
| <i>GATA-4</i> | Fator de transcrição GATA-4 | Berlo; Aronow; Molkenin, 2013 ⁽²¹⁾ ; Dixit et al., 2018 ⁽²²⁾ |
| <i>TBX5</i> | Fator de transcrição T-box TBX5 | Steimle; Moskowitz, 2017 ⁽²³⁾ |

Considerando todos os fatores apresentados, o risco das DCVs e o alto custo no tratamento de tais doenças, medidas preventivas para o controle dos fatores modificáveis e não modificáveis devem ser analisadas para a prevenção e contenção da incidência por essas patologias. Assim, avaliando medidas para os fatores não modificáveis, especialmente os fatores genéticos, tido como não susceptíveis à eliminação, no ano de 2012 surgiu uma técnica de edição genética denominada

CRISPR (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas Regularmente Interespaçadas), que pode auxiliar no controle e supressão de tais fatores⁽³⁾.

A CRISPR/Cas9, também conhecida como CRISPR/Cas tipo II, é a mais nova e proeminente técnica de edição do genoma, muito promissora nos estudos genéticos⁽²⁷⁾. É originária do sistema imune adaptativo de bactérias e arqueas, onde exerce um papel protetor contra a ação de elementos invasores, como os bacteriófagos e plasmídeos, atuando na proteção do genoma desses microrganismos contra uma possível reinfecção⁽²⁸⁾. A técnica tem sido aplicada a diversos estudos na edição gênica de doenças crônicas, como câncer⁽²⁹⁾, leucemias⁽³⁰⁾, HIV⁽³¹⁾, diabetes^(32,33), bem como em experimentos de imunoterapias⁽²⁹⁾, regeneração de tecidos⁽³⁴⁾ e doenças virais⁽³⁵⁾.

O sistema CRISPR/Cas9 também é aplicado com êxito na edição gênica em DCVs. A técnica foi utilizada por Pan et al.(2017)⁽³⁶⁾, na realização de uma abordagem *knockout* (*KO*) mediante a utilização de plasmídeos como vetores de expressão da Cas9. Esse mecanismo *KO* foi desenvolvido para explorar o efeito da proteína dedo de zinco ZNF418 na hipertrofia cardíaca patológica. A proteína ZNF418, por sua vez, pertence a uma classe de proteínas de ligação ao DNA eucariótico, que atuam no processo de ativação ou repressão da expressão gênica. Essa proteína é altamente expressa no coração, e já tem sido relatada como um fator preditivo às DCVs, devido a repressão de atividades transcricionais essenciais de vários genes no tecido cardíaco^(36,37).

No estudo de Marzenke et al. (2017)⁽³⁸⁾, foi utilizada a técnica para o controle da fibrilação atrial (FA), na qual realizaram a abordagem *KO*, nocauteando o gene da subfamília de canais controlada por voltagem para potássio membro 5 (*KCNA5*). Sabe-se que esse gene, no tecido cardíaco, atua na fase de rápida repolarização do potencial de ação, e variantes gênicas tem sido associadas a mecanismos de arritmogênese⁽³⁹⁾.

A tecnologia CRISPR/Cas9 também foi aplicada na modulação de células-tronco embrionárias humanas em diferentes tipos de células vasculares, com deficiência do fator de transcrição p65 (*RelA*) para inibir a atividade do gene *NF-*

kB e avaliar como o *NF-kB/RelA* regula células vasculares sob condições inflamatórias⁽⁴⁰⁾.

Deste modo, a técnica CRISPR/Cas9 se destaca dado ao grande potencial no estudo genético, especialmente, na edição gênica, imprescindível para supressão ou edição de genes associados ao desenvolvimento das DCVs⁽³⁾. Além disso, a técnica pode ser aplicada na farmacogenética, através da edição de genes pertencentes às famílias CYP, ABC, SLC, os quais estão envolvidos nos processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de drogas alvos para as DCVs, a fim do controle e tratamento mais efetivo aos portadores da doença⁽⁴¹⁾.

Nesse sentido, a presente pesquisa realizou um compilado de informações de grande relevância a respeito do uso do sistema CRISPR/Cas9 e sua aplicabilidade em DCVs, trazendo uma revisão das evidências científicas sobre essa técnica inovadora e promissora no tratamento e controle epidemiológico de tais patologias.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica sobre a correlação entre CRISPR/Cas9 e seus benefícios no controle das doenças cardiovasculares. Para o desenvolvimento do trabalho, foram analisados artigos em inglês e português publicados entre os anos 2003 a 2019, disponíveis nos bancos de dados *NCBI –PubMed* (www.https://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) e *SciELO - Scientific Electronic Library Online* (www.scielo.org/). Para a busca dos manuscritos, foram utilizados os termos: CRISPR, Doença Cardiovascular, Engenharia Genética, Biologia Molecular, combinadas e individualmente. Após as análises dos artigos, foram selecionados 63 estudos que se adequavam à proposta da revisão, os quais foram incluídos na pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

SISTEMA CRISPR/CAS9

Em meados da década de 80, pesquisadores identificaram uma região com um padrão incomum nas bactérias *Escherichia coli*, uma sequência altamente variada e intercalada por outra sequência repetida sem função conhecida⁽⁴²⁾. No ano de 2005, sabia-se que as sequências antes observadas, eram de origem extracromossomais, fazendo parte de uma memória imunológica contra invasores como fagos e plasmídeos^(43,44). Posteriormente, no ano de 2012, essas sequências ficaram conhecidas como CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* / Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas Regularmente Interespçadas), um sistema altamente eficaz, o qual vem acompanhado das proteínas do complexo Cas⁽⁴⁵⁾.

O sistema CRISPR/Cas9 é um participante ativo que age em defesa do genoma de organismos procariotos, os *locus* CRISPR já foram descritos em quase todos os genomas de arqueas e bactérias já sequenciadas, estes consistem em várias cópias de uma sequência de repetição curta, geralmente de 25 a 40 nucleotídeos. O mecanismo utilizado por esse sistema atua no reconhecimento do material genético de um invasor, seja de fagos ou plasmídeos, clivando-os em pequenos fragmentos e os integrando ao DNA bacteriano⁽⁴⁶⁾.

No caso de uma reinfecção pelo mesmo agente invasor, a maquinaria celular realiza a transcrição do *locus* CRISPR, em pequenos RNAs, denominados crisp RNA (crRNA), que agem em conjunto com as proteínas do complexo Cas, para reconhecer o DNA exógeno e degradá-lo, mediante ao reconhecimento por complementaridade de bases e clivagem pela ação das proteínas Cas^(47,44).

Atualmente existem seis tipos de sistemas CRISPR, os quais estão agrupados em duas classes diferentes⁽⁴⁸⁾. Os mais estudados são os tipos I, II e III, sendo, os tipos IV, V e VI identificados recentemente⁽⁴⁹⁾. Os sistemas CRISPR tipo I e III, utilizam um conjunto de diversas proteínas Cas, enquanto, o sistema CRISPR tipo II, necessita apenas de uma proteína do complexo Cas, a endonuclease Cas9⁽⁵⁰⁾.

Dentre os sistemas identificados, o CRISPR/Cas9 é um dos mais promissores nas pesquisas genéticas. Ele foi descoberto no ano de 2012 na bactéria *Streptococcus pyogenes*, verificando então, que esse procaríoto apresentava um sistema de defesa que poderia ser adaptado e utilizado como um sistema programável para a edição gênica⁽⁴⁵⁾.

Sabe-se que o CRISPR/Cas9 é um mecanismo capaz de induzir DSBs (do inglês, “*Double Strand Breaks*” que significa “quebras de fita dupla”) no DNA⁽⁵¹⁾, permitindo a edição do genoma por meio de clivagem, mediada pela endonuclease Cas9, guiada por uma sequência de sgRNA. Esse RNA guia é capaz de emparelhar-se com as bases nitrogenadas de uma sequência-alvo, permitindo a modificação ou remoção de bases nitrogenadas específicas no genoma. As repetições palindrômicas e os espaçadores do sistema CRISPR/Cas9, quando transcritos, formam o RNA transativador (tracrRNA), que atua em auxílio no direcionamento da Cas9 para a clivagem da sequência de interesse no genoma⁽³⁾.

Posteriormente a descoberta do CRISPR/Cas9, cientistas observaram que poderiam manipular a molécula de RNA CRISPR em um único RNA guia (sgRNA), e assim poderiam direcioná-lo a sequências específicas em áreas de interesse no genoma. Todavia, o sgRNA deve reconhecer uma sequência de pelo menos 17 a 22pb, seguida por uma sequência de Motivo Adjacente ao Protoespaçador 5-NGG-3 (PAM). As DSBs induzidas pela endonuclease Cas9 podem ser reparadas por processos celulares, como a NHEJ (do inglês, “*Non-homologous end joining*” que significa “união de extremidade não homóloga”) ou HDR (do inglês “*homology directed repair*” que significa “reparo direcionado por homologia”)⁽⁵¹⁾. Mecanismo representado na Figura 1.

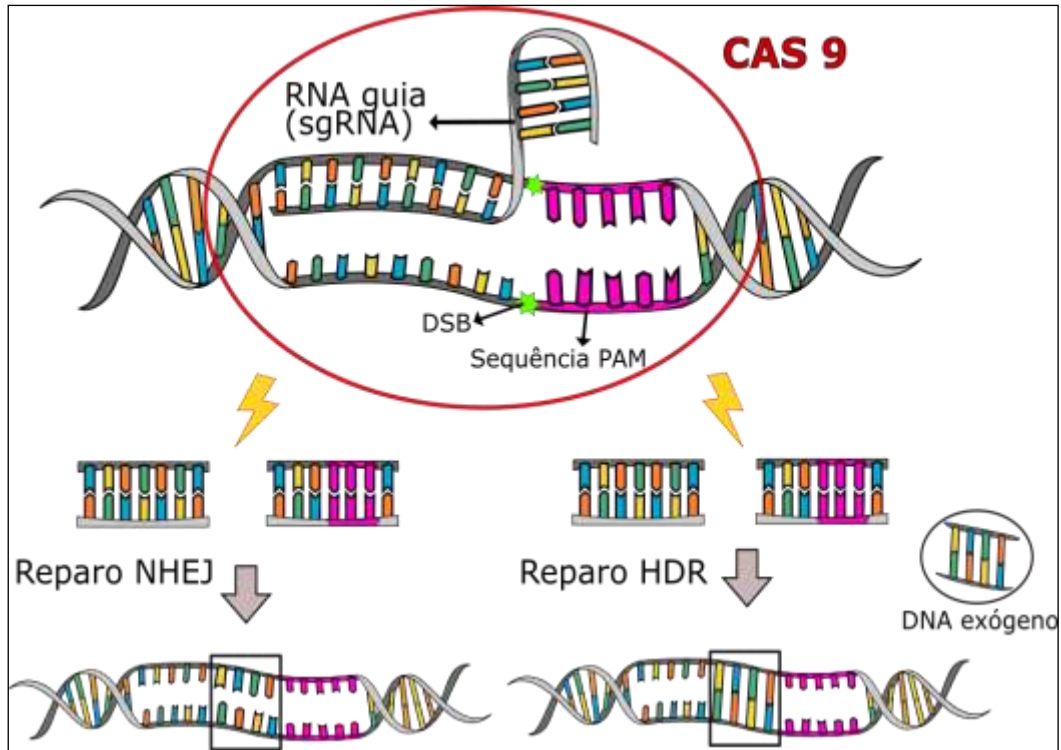


Figura 1. Mecanismo de ação do sistema CRISPR/Cas9 na edição do genoma.

Sugerida como uma técnica de fácil utilização, alta especificidade, além de fácil manipulação *in vivo*, *in vitro* e *ex vivo*, o mecanismo CRISPR/Cas9 permite a edição simultânea de múltiplos alvos no genoma⁽³⁾. A partir da manipulação de bases do DNA, esse sistema pode ser utilizado na correção de mutações, inserção ou deleção de bases nitrogenadas específicas no DNA, restauração da função gênica, tanto em abordagens *knock-in* (inserção de genes) ou na introdução de novas mutações mediadas pelo *knockout* (remoção de sequência gênica – “KO”)⁽³⁾.

A flexibilidade e simplicidade da técnica CRISPR/Cas9 favoreceu a sua utilização em diversas áreas de pesquisas biológicas, incluindo o desenvolvimento de modelos de linhagens celulares, auxílio para desvendar mecanismos patológicos, identificação de alvos conectados a doenças, o desenvolvimento de animais e plantas transgênicos, e modulação transcricional⁽⁴⁶⁾. Esquematisados na Figura 2.

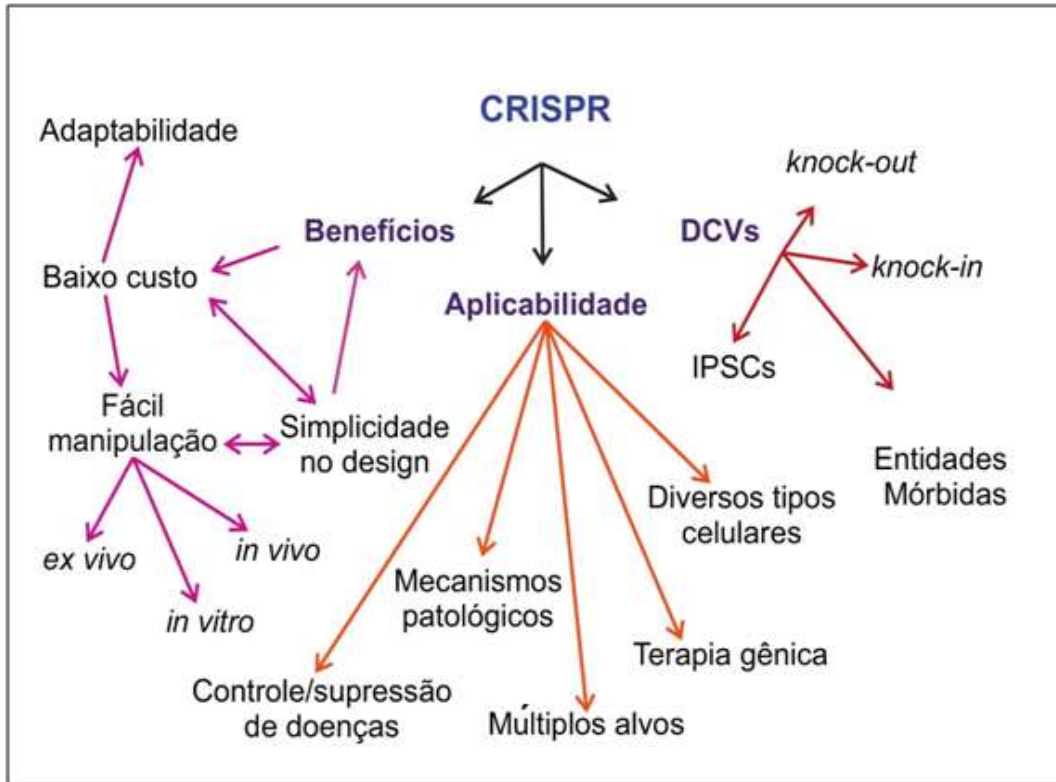


Figura 2. Representação esquemática do sistema CRISPR, segundo benefícios, aplicabilidade e direcionamento às DCVs.

Existem diversas aplicabilidades ao CRISPR, sendo a mais simples ligada à mudança de bases nitrogenadas únicas ou bases específicas em genes com uma relação alélica bem definida, permitindo a modificação ou a remoção desses nucleotídeos. Além disso, outros estudos mostram que modificações bi-alélicas também foram obtidas com sucesso⁽³⁾.

SISTEMA CRISPR/CAS9 EM CÉLULAS HUMANAS E EM MODELO ANIMAL PARA DOENÇAS CARDÍACAS

Mesmo com toda a complexidade do contexto cardiovascular, os fatores genéticos se apresentam como um dos principais riscos predizentes à doença. Nesse contexto, o uso do sistema CRISPR/Cas9 é visto como uma potencial ferramenta molecular na supressão desses fatores, considerados como não modificáveis, devido a fácil aplicabilidade, uma vez que o CRISPR/Cas9 produzido *in vitro* pode ser

introduzidos nas células mediante diferentes mecanismos, seja por vetores ou agentes químicos⁽⁵¹⁾.

Dados da literatura mostram que o CRISPR/Cas9 pode ser aplicado às DCVs, como no estudo de Marczenke et al. (2017)⁽³⁸⁾, no qual foram utilizados métodos para a diferenciação específica de subtipo de células tronco pluripotentes humanas induzidas (HIPSC's) para explorar os canais para potássio (*KCNA5*) em cardiomiócitos. O método CRISPR/Cas9 foi utilizado para simulação de um modelo de FA, através da mutação de HIPSC's sem integração e foi empregada para gerar um *KO* no gene *KCNA5* funcional. Sabe-se que mutações nesse gene implicam na FA, devido a alterações nos mecanismos de repolarização do cardiomiócito.

No estudo realizado por Arend, Pereira e Markoski (2016)⁽³⁾, utilizando coelhos, focado na diminuição da progressão da placa aterosclerótica, foram desenvolvidos “animais *KO*”. O nocaute nos genes: Apolipoproteína E (*ApoE*), *CD36*, receptor LDL, leptina, receptor rianodínico tipo 2 (*RyR2*), teve como premissa a inibição de possíveis associações no desenvolvimento da doença.

A revisão realizada por Motta et al. (2017)⁽⁵²⁾ explicita abordagens de engenharia genética em organismos: mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*), peixe-zebra (*Danio rerio*) e camundongo (*Mus musculus*), organismos os quais vem apresentando sucesso no estudo de doenças cardíacas. Tal êxito é devido à especificidade da ferramenta CRISPR/Cas9 na edição de mutagênese, possibilitando futuras triagens genéticas de alto rendimento no coração.

A edição do genoma embrionário tem sido promissora na geração de modelos de camundongos. Tal feito tornou possível gerar animais geneticamente modificados de uma variedade de espécies, nas quais a modelagem de doenças havia sido anteriormente difícil ou inatingível, o que possibilita um grande avanço na pesquisa cardiovascular diante do estudo de fenotipagem, comparações e descobertas de mecanismos patológicos de tais doenças⁽⁵³⁾.

Em abordagens *in vivo* e *in vitro*, o sistema CRISPR/Cas9 foi utilizado no estudo de Pan et al., (2017)⁽³⁶⁾ para realizar o *KO* na proteína ZNF418 em ratos e

em células cardíacas humanas. Em tal estudo foi possível observar a proteína ZNF418 como um importante fator na regulação e proteção do coração contra sobrecarga de pressão e estimulação de angiotensina II. Além disso, o estudo evidenciou a superexpressão de ZNF418 associado à fibrose e hipertrofia cardíaca, devido à desregulação no processo de transcrição celular pela fosforilação da proteína c-jun/proteína ativadora 1 (AP-1).

A capacidade de introdução de genes do sistema CRISPR/Cas9, pode proporcionar grandes benefícios para a população em questões de métodos inovadores na área da medicina e da saúde. Por ser considerada uma técnica de menor custo, fácil utilização, eficaz na edição do genoma e grande benefício, o sistema CRISPR/Cas9 tem sido indicado para estudos em busca da cura e tratamento de doenças genéticas e crônicas, incluindo a alteração da função dos genes associados às DCVs^(3,54).

O potencial terapêutico da edição genômica em DCVs ainda é reduzido por problemas biológicos e técnicos. Embora exista a possibilidade teórica de isolar ou gerar células-tronco de um paciente, editando as mesmas, convertendo-as no tipo de célula cardiovascular relevante e transplantando novamente ao corpo com enxerto no órgão-alvo (por exemplo, coração), ainda não está claro se isso será uma abordagem viável e prática. Em um futuro próximo, estima-se que as terapias de edição genômica possam ser aplicadas na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, visando à manipulação de cardiomiócitos⁽⁵³⁾.

O POTENCIAL TERAPÊUTICO DO SISTEMA CRISPR/CAS9

A engenharia genética pela técnica de CRISPR/Cas9 possibilita a edição gênica ao induzir DSBs em *loci* específicos no DNA e possibilita a realização da manipulação gênica com melhor precisão. As DSBs envolvem a atuação dos mecanismos de reparo endógeno celular, como a NHEJ, um mecanismo propenso a erros que geralmente induz mutações do tipo *indels* (termo utilizado em casos de inserção ou deleção de nucleotídeos do genoma) na junção de reparo⁽⁵⁵⁾.

Outro mecanismo de junção pode ser realizado pelo HDR, que permite a



edição genômica em modelos animais *knock-in* mediante a utilização de um DNA doador⁽⁵⁵⁾. Os *indels* que ocorrem devido à ação da NHEJ dentro de éxons codificadores permitem a geração eficiente de animais *KO*, pois podem levar a mutações do tipo *frameshift*, ou seja, a formação de uma matriz de leitura diferente quando as deleções ou inserções dizem respeito a um número de nucleotídeos não múltiplos de 3, assim gerando uma nova sequência de códons a partir do local mutado, bem como códons de parada prematuros⁽⁵⁶⁾.

Os avanços observados recentemente com o uso de técnicas precisas de edição de genes e as aplicações bem-sucedidas em modelos animais proporcionam meios para correção de mutações germinativas humanas. O CRISPR/Cas9, em sua particularidade, é uma ferramenta capaz de reconhecer sequências genômicas específicas e promover DSBs nas mesmas^(57,58), ativando os mecanismos de reparo em seguida.

O CRISPR/Cas9, por ser uma ferramenta de fácil acesso, trouxe oportunidades para a ciência em relação à modelagem de doenças humanas. Estudos de associação ampla do genoma (*GWAS*) permitem análises com mutações pontuais específicas, mutações em genes codificadores e genes não codificadores, e mutações regulatórias, sendo viáveis em quase todos os fundos genéticos, assim como em quase todas as espécies⁽⁵⁹⁾.

A humanização de fragmentos genômicos, ou seja, quando há adição de fragmentos naturais do genoma humano em organismos de outras espécies, no intuito de substituir sequências gênicas de determinados indivíduos por sequências humanas, tem se tornado uma prática acessível. A adição e substituição de segmentos gênicos de ratos em sequências humanas por meio de injeção direta em óvulos fertilizados, foi uma das realizações em um estudo por Yoshimi et al. (2016)⁽⁵⁵⁾. Nesse estudo, os pesquisadores estabeleceram abordagens de *knock-in* em ratos, que foram mediadas por oligodesoxinucleotídeos de cadeia simples (ssODN) utilizando a técnica de edição gênica CRISPR/Cas9. Portanto, essa tecnologia facilita a produção de animais com genes específicos, bem como animais transgênicos, e/ou animais “humanizados”^(55,60).

Os mecanismos de “entrega” do sistema CRISPR/Cas9 às células, se baseiam em usos de reagentes de transfecção que inserem simultaneamente o sgRNA e a Cas9 em células alvo. A utilização desse mecanismo em laboratório vem provando sua eficácia em diversas linhagens celulares. Conforme a aplicação desejada, os sgRNAs podem ser introduzidos nas células na forma de amplicons de PCR contendo cassetes de expressão, DNA, RNA ou proteínas plasmídicas^(34,61). Todavia, a utilização de plasmídeos é frequentemente associada à integração total ou partes dos mesmos, no genoma do hospedeiro. Avaliando o modo de entrega do sistema CRISPR/Cas9 a célula, alguns mecanismos de entrega foram observados, como o uso de sistemas de entrega viral, onde os vetores virais podem atingir diversas células com grande eficiência, tanto *in vitro* quanto *in vivo*⁽⁵¹⁾.

De acordo com a literatura, o uso de vetores virais vem começando a apresentar alguns resultados que podem beneficiar sua utilização na clínica⁽⁶²⁾. Deste modo, para a utilização do sistema CRISPR/Cas9 na edição em DCVs faz-se necessário avaliações dos potenciais alvos moleculares intrínsecos à doença, considerando que se trata de um grupo de patologias heterogêneas, relacionadas a um conjunto de fatores genéticos, ambientais e comportamentais.

No entanto, apesar das recentes descobertas sobre a eficácia da técnica CRISPR/Cas9, ainda não é possível prever com exatidão a influência da ativação ou inativação de genes em relação ao prognóstico da doença. Todavia, a possibilidade de utilizar uma nova ferramenta molecular em DCVs pode ser estimada e, possivelmente no futuro não distante, beneficiar a população⁽³⁾.

VANTAGENS E DESVANTAGENS DO SISTEMA CRISPR/CAS9

Ensaio clínico envolvendo células hematopoiéticas têm sido anunciados. Esses envolvem a edição genômica *ex vivo* das células de um paciente seguida do transplante dessas células de volta ao corpo do paciente. As aplicações terapêuticas *ex vivo* têm algumas vantagens sobre as aplicações terapêuticas *in vivo*: a entrega de ferramentas de edição de genoma nas células é muito mais simples, há menos risco na edição do genoma em tipos de células não-alvo, e

existe o potencial de separar ou selecionar apenas as células apropriadamente editadas para transplante e, assim, melhorar a eficiência e a segurança da terapia⁽⁵³⁾.

Apesar do avanço alcançado através da técnica CRISPR/Ca9, alguns levantamentos sobre suas vantagens e desvantagens ainda permanecem não elucidados. A respeito das vantagens da técnica, esta consiste na simplicidade do design do alvo, reconhecimento de alvos multiplexados, eficiência em editar diferentes células humanas, além de triagem de regiões não codificadas do DNA⁽⁵²⁾.

Mesmo com a supervalorização da engenharia genética CRISPR/Cas9, essa não possui apenas vantagens, fazendo-se necessária a avaliação das limitações que acompanham esse sistema, como o número limitado de sequências PAM, os efeitos fora do alvo, quando atinge outras áreas do genoma que são sensíveis à indução de DSBs⁽⁶³⁾, bem como o mosaicismos e a presença de alelos múltiplos⁽⁵²⁾.

A endonuclease Cas9 presente na técnica CRISPR/Cas9, assim como outras tecnologias de nucleases programadas, como as ZNFs e TALENs, facilitam a indução de DSBs no DNA alvo em *loci* específicos, e estimulam os mecanismos de reparo endógeno celular, via NHEJ ou HDR. Todavia, a endonuclease Cas9 apresenta vantagens potenciais sobre as demais nucleases, incluindo facilidade de personalização, maior eficiência no direcionamento e capacidade de facilitar a edição do genoma⁽⁵²⁾.

A Cas9 também pode ser utilizada na edição de múltiplos alvos no genoma simultaneamente, utilizando combinação de sgRNAs às células de interesse⁽⁶¹⁾. Em contrapartida, uma das principais limitações com o sistema CRISPR/Cas9 é a necessidade de sequências PAM para direcionar e ligar a nuclease para que ocorram as DSBs⁽⁵²⁾.

CONCLUSÃO

As DCVs são consideradas a principal causa de mortalidade e morbidade no mundo, as quais possuem fatores genéticos intrínsecos ao seu desenvolvimento. Tais fatores vêm sendo editados e suprimidos através do mecanismo de edição genética CRISPR/Cas9. O CRISPR tem revolucionado as áreas de medicina e biologia molecular, proporcionando estudos na edição gênica. A tecnologia tornou possível o estudo em diferenciação de células-tronco pluripotentes induzidas (IPSC's) em cardiomiócitos para análise da compreensão de mecanismos envolvidos em DCVs, assim como proporciona a possibilidade de realizar abordagens *knockout* em genes específicos, a fim de explorar os mecanismos patológicos envolvidos no desenvolvimento dessas patologias.

Embora as descobertas científicas sejam o gerador que impulsiona os pesquisadores, todos devem estar cientes da necessidade de compreender as inviabilidades e riscos de cada técnica utilizada, observando a necessidade de aprimoramentos e adequações metodológicas em pesquisa científica, tendo como pilar a ética e o respeito à vida.

Todavia, o sistema CRISPR se apresenta como uma ferramenta promissora na edição de fatores genéticos associados a diversas doenças, especialmente as DCVs e as entidades mórbidas que contribuem para o seu desenvolvimento. Por ser uma técnica de fácil manipulação, alta especificidade e baixo custo, seu uso possibilita o estudo e controle das doenças crônicas humanas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Grupo de Pesquisa em Patologia Molecular (LPM) da Universidade Federal de Goiás (UFG), por todo apoio e suporte na realização deste estudo.



REFERÊNCIAS

- (1) Pirani N, Khiavi F. 2017. Population Attributable Fraction for Cardiovascular Diseases Risk Factors in Selected Countries: A comparative study. *Mater Socio Medica*. 29 (1): 35.
- (2) Rocha RM, Martins W de A. 2017. Manual de prevenção cardiovascular. 1 ed. Ricardo Mourilhe Rocha W de AM, editor. Rio de Janeiro: SOCERJ - Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro; 5 – 93 p.
- (3) Arend MC, Pereira JO, Markoski MM. 2016. The CRISPR/Cas9 System and the Possibility of Genomic Edition for Cardiology. *Arq Bras Cardiol*. 108 (1): 81–3.
- (4) Organization WH. Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control. Shanthi Mendis PP and BN. 2011. editor. Vol. 1, World Health Organization. Geneva. 3–155 p.
- (5) Nordestgaard BG. 2016. Triglyceride-Rich Lipoproteins and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 118 (4): 547–63.
- (6) Huang L, Hua Z, Xiao H, Cheng Y, Xu K, Gao Q, et al. 2017. CRISPR/Cas9-mediated *ApoE*^{-/-} and *LDLR*^{-/-} double gene knockout in pigs elevates serum LDL-C and TC levels. *Oncotarget*. 8 (23): 37751–60.
- (7) Kathiresan S, Srivastava D. 2012. Genetics of Human Cardiovascular Disease. *Cell*. 148 (6): 1242–57.
- (8) Manson JE, Bassuk SS. 2015. Biomarkers of cardiovascular disease risk in women. *Metabolism*. 64 (3): S33–9.
- (9) Dittrich J, Beutner F, Teren A, Thiery J, Burkhardt R, Scholz M, et al. 2019. Plasma levels of apolipoproteins C-III, A-IV, and E are independently associated with stable atherosclerotic cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 281: 17–24.
- (10) Schumacher T, Benndorf RA. 2017. ABC Transport Proteins in Cardiovascular Disease—A Brief Summary. *Molecules*. 22 (4): 589.
- (11) Yu X, Qian K, Jiang N, Zheng X, Cayabyab FS, Tang C. 2014. ABCG5/ABCG8 in cholesterol excretion and atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 428: 82–8.

- (12) Iacocca MA, Wang J, Sarkar S, Dron JS, Lagace T, McIntyre AD, et al. 2018. Whole-Genome Duplication of PCSK9 as a Novel Genetic Mechanism for Severe Familial Hypercholesterolemia. *Can J Cardiol.* 34 (10): 1316–24.
- (13) Marian AJ, Braunwald E. 2017. Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Res.* 121 (7): 749–70.
- (14) Sabater-Molina M, Pérez-Sánchez I, Hernández del Rincón JP, Gimeno JR. 2018. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy: A review of current state. *Clin Gene.* 93 (1): 3–14.
- (15) Marsiglia JDC, Credidio FL, de Oliveira TGM, Reis RF, Antunes M de O, de Araujo AQ, et al. 2013. Screening of MYH7, MYBPC3, and TNNT2 genes in Brazilian patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am Heart J.* 166 (4): 775–82.
- (16) Sedaghat-Hamedani F, Kayvanpour E, Tugrul OF, Lai A, Amr A, Haas J, et al. 2018. Clinical outcomes associated with sarcomere mutations in hypertrophic cardiomyopathy: a meta-analysis on 7675 individuals. *Clin Res Cardiol.* 107 (1): 30–41.
- (17) Wang Y, Du X, Zhou Z, Jiang J, Zhang Z, Ye L, et al. 2016. A gain-of-function ACTC1 3'UTR mutation that introduces a miR-139-5p target site may be associated with a dominant familial atrial septal defect. *Sci Rep.* 6 (1): 25404.
- (18) Despond EA, Dawson JF. 2018. Classifying Cardiac Actin Mutations Associated With Hypertrophic Cardiomyopathy. *Front Physiol.* 9 (April): 1–6.
- (19) Nijak A, Alaerts M, Kuiperi C, Corveleyn A, Suys B, Paelinck B, et al. 2018. Left ventricular non-compaction with Ebstein anomaly attributed to a TPM1 mutation. *Eur J Med Genet.* 61 (1): 8–10.
- (20) Lu X-L, Yao X-L, Yan C-Y, Wan Q-L, Li Y-M. 2016. Functional role of NKX2-5 and Smad6 expression in developing rheumatic heart disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 20 (4): 715–20.
- (21) Van Berlo JH, Aronow BJ, Molkenin JD. 2013. Parsing the Roles of the Transcription Factors GATA-4 and GATA-6 in the Adult Cardiac Hypertrophic Response. Sadayappan S, editor. *PLoS One.* 8 (12): e84591.
- (22) Dixit R, Narasimhan C, Balekundri VI, Agrawal D, Kumar A, Mohapatra B. 2018. Functionally significant, novel GATA4 variants are frequently associated with Tetralogy of Fallot. *Hum Mutat.* 39 (12): 1957–72.
- (23) Steimle JD, Moskowitz IP. 2017. TBX5. In: *Current Topics in Developmental Biology.* p. 195–221.

- (24) Mosca L, Banka CL, Benjamin EJ, Berra K, Bushnell C, Dolor RJ, et al. 2007. Evidence-Based Guidelines for Cardiovascular Disease Prevention in Women: 2007 Update. *Circulation*. 115 (11): 1481–501.
- (25) Organização Mundial de Saúde. OPAS/OMS Brasil - Doenças cardiovasculares. [cited 2018 May 22]. Available from: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839
- (26) Brant LCC, Nascimento BR, Passos VMA, Duncan BB, Bensenõr IJM, Malta DC, et al. 2017. Variações e diferenciais da mortalidade por doença cardiovascular no Brasil e em seus estados, em 1990 e 2015: estimativas do Estudo Carga Global de Doença. *Rev Bras Epidemiol*. 20 (suppl 1): 116–28.
- (27) Sander JD, Joung JK. 2014. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nat Biotechnol*. 32 (4): 347–55.
- (28) Doudna JA, Charpentier E. 2014. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* (80-). 346 (6213): 1258096–1258096.
- (29) Salsman J, Dellaire G. 2017. Precision genome editing in the CRISPR era. *Biochem Cell Biol*. 95 (2): 187–201.
- (30) García-Tuñón I, Hernández-Sánchez M, Ordoñez JL, Alonso-Pérez V, Álamo-Quijada M, Benito R, et al. 2017. The CRISPR/Cas9 system efficiently reverts the tumorigenic ability of BCR/ABL in vitro and in a xenograft model of chronic myeloid leukemia. *Oncotarget*. 8 (16): 26027–40.
- (31) Kang H, Minder P, Park MA, Mesquitta W-T, Torbett BE, Slukvin II. 2015. CCR5 Disruption in Induced Pluripotent Stem Cells Using CRISPR/Cas9 Provides Selective Resistance of Immune Cells to CCR5-tropic HIV-1 Virus. *Mol Ther - Nucleic Acids*. 4 (12): e268.
- (32) Yin Z, Cai M, Weng X, Liu Z, Zhang G. 2019. Porcine insulin receptor substrate 2 : molecular cloning , tissues distribution , and functions in hepatocyte and aortic endothelial cells. *Pol J Vet Sci*. 22 (3): 589–98.
- (33) Chung JY, Ain QU, Song Y, Yong S-B, Kim Y-H. 2019. Targeted delivery of CRISPR interference system against Fabp4 to white adipocytes ameliorates obesity, inflammation, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Genome Res*. 29 (9): 1442–52.
- (34) Nguyen AH, Marsh P, Schmiess-heine L, Burke PJ, Lee A, Lee J. 2019. Cardiac tissue engineering : state-of-the-art methods and outlook 0: 57.

- (35) Martinez-Lage M, Torres-Ruiz R, Rodriguez-Perales S. 2017. CRISPR/Cas9 Technology: Applications and Human Disease Modeling. In: Progress in Molecular Biology and Translational Science. p. 23–48.
- (36) Pan L, Sheng M, Huang Z, Zhu Z, Xu C, Teng L, et al. 2017. Zinc-finger protein 418 overexpression protects against cardiac hypertrophy and fibrosis. Bader M, editor. PLoS One. 12 (10): e0186635.
- (37) Li Y, Yang D, Bai Y, Mo X, Huang W, Yuan W, et al. 2008. ZNF418, a novel human KRAB/C2H2 zinc finger protein, suppresses MAPK signaling pathway. Mol Cell Biochem. 310 (1–2): 141–51.
- (38) Marczenke M, Piccini I, Mengarelli I, Fell J, Röpke A, Seebohm G, et al. 2017. Cardiac subtype-specific modeling of Kv1.5 ion channel deficiency using human pluripotent stem cells. Front Physiol. 8 (Jul): 1–11.
- (39) Dehghani-Samani A, Madreseh-Ghahfarokhi S, Dehghani-Samani. 2019. A. Mutations of voltage-gated ionic channels and risk of severe cardiac arrhythmias. Acta Cardiol Sin. 35 (2): 99–110.
- (40) Wang P, Liu Z, Zhang X, Li J, Sun L, Ju Z, et al. 2018. CRISPR/Cas9-mediated gene knockout reveals a guardian role of NF- κ B/RelA in maintaining the homeostasis of human vascular cells. Protein Cell. 9 (11): 945–65.
- (41) Karlgren M, Simoff I, Keiser M, Oswald S, Artursson P. 2018. CRISPR-Cas9: A New Addition to the Drug Metabolism and Disposition Tool Box. Drug Metab Dispos. 46 (11): 1776–86.
- (42) Gonçalves GAR, Paiva R de MA. 2017. Gene therapy: advances, challenges and perspectives. Einstein (São Paulo). 15 (3): 369–75.
- (43) Mojica FJM, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Soria E. 2005. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. J Mol Evol. 60 (2): 174–82.
- (44) Marraffini LA, Sontheimer EJ. 2010. CRISPR interference: RNA-directed adaptive immunity in bacteria and archaea. Nat Rev Genet. 11 (3): 181–90.
- (45) Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. 2012. A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. Science. 337 (6096): 816–21.
- (46) Lino CA, Harper JC, Carney JP, Timlin JA. 2018. Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches. Drug Deliv. 25 (1): 1234–57.

- (47) Brouns SJJ, Jore MM, Lundgren M, Westra ER, Slijkhuis RJH, Snijders APL, et al. 2008. Small CRISPR RNAs Guide Antiviral Defense in Prokaryotes. *Science*. 321 (5891): 960–4.
- (48) Wright A V., Nuñez JK, Doudna JA. 2016. Biology and Applications of CRISPR Systems: Harnessing Nature’s Toolbox for Genome Engineering. *Cell*. 164 (1–2): 29–44.
- (49) Makarova KS, Wolf YI, Alkhnbashi OS, Costa F, Shah SA, Saunders SJ, et al. 2015. An updated evolutionary classification of CRISPR–Cas systems. *Nat Rev Microbiol*. 13 (11): 722–36.
- (50) Makarova KS, Haft DH, Barrangou R, Brouns SJJ, Charpentier E, Horvath P, et al. 2011. Evolution and classification of the CRISPR–Cas systems. *Nat Rev Microbiol*. 9 (6): 467–77.
- (51) Cribbs AP, Perera SMW. 2017. Science and bioethics of CRISPR-CAS9 gene editing: An analysis towards separating facts and fiction. *Yale J Biol Med*. 90 (4): 625–34.
- (52) Motta BM, Pramstaller PP, Hicks AA, Rossini A. 2017. The Impact of CRISPR/Cas9 Technology on Cardiac Research: From Disease Modelling to Therapeutic Approaches. *Stem Cells Int*. 2017: 1–13.
- (53) Musunuru K. 2017. Genome Editing. *J Am Coll Cardiol*. 70 (22): 2808–21.
- (54) Carlos G, Caetano G, Matos HDEOS, Simão CR, Duarte RV, Barreto SA, et al. 2019. Técnica crispr-cas9 e sua utilização na área laboratorial. *Brazilian J Surg Clin Res*. 25 (1): 96–9.
- (55) Yoshimi K, Kunihiro Y, Kaneko T, Nagahora H, Voigt B, Mashimo T. 2016. ssODN-mediated knock-in with CRISPR-Cas for large genomic regions in zygotes. *Nat Commun*. 7 (1): 10431.
- (56) Perez EE, Wang J, Miller JC, Jouvenot Y, Kim KA, Liu O, et al. 2008. Establishment of HIV-1 resistance in CD4+ T cells by genome editing using zinc-finger nucleases. *Nat Biotechnol*. 26 (7): 808–16.
- (57) Hsu PD, Lander ES, Zhang F. 2014. Development and Applications of CRISPR-Cas9 for Genome Engineering. *Cell*. 157 (6): 1262–78.
- (58) Ma H, Marti-Gutierrez N, Park S-W, Wu J, Lee Y, Suzuki K, et al. 2017. Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature*. 548 (7668): 413–9.

- (59) Birling M-C, Herault Y, Pavlovic G. 2017. Modeling human disease in rodents by CRISPR/Cas9 genome editing. *Mamm Genome*. 28 (7–8): 291–301.
- (60) Boel A, De Saffel H, Steyaert W, Callewaert B, De Paepe A, Coucke PJ, et al. 2018. CRISPR/Cas9-mediated homology-directed repair by ssODNs in zebrafish induces complex mutational patterns resulting from genomic integration of repair-template fragments. *Dis Model Mech*. 11 (10): dmm035352.
- (61) Ran FA, Hsu PD, Wright J, Agarwala V, Scott DA, Zhang F. 2013. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nat Protoc*. 8 (11): 2281–308.
- (62) Finer M, Glorioso J. 2017. A brief account of viral vectors and their promise for gene therapy. *Gene Ther*. 24 (1): 1–2.
- (63) Cho SW, Kim S, Kim Y, Kweon J, Kim HS, Bae S, et al. 2014. Analysis of off-target effects of CRISPR/Cas-derived RNA-guided endonucleases and nickases. *Genome Res*. 24 (1): 132–41.

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE ESPECIARIAS COMERCIALIZADAS NO ESTADO DE MINAS GERAIS

EVALUATION OF HYGIENIC-SANITARY CONDITIONS OF SPICES COMMERCIALIZED IN THE STATE OF MINAS GERAIS

^{1*}Lucimara Ferreira da Silva, ²Ludmila de Moraes e Silva, ¹Nayara Mussi Monteze, ¹Fernanda Meneghello Delvivo, ³Adriene Ribeiro Lima

^{1*}Centro Universitário UNA, 30180-100, Belo Horizonte, MG
lucifsilva330@gmail.com

²Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais, 31630-900, Belo Horizonte, MG

³Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ

RESUMO

As especiarias têm sido usadas no preparo de alimentos há milhares de anos, conferindo-lhes sabor e aroma diferenciados, além disso, apresentam propriedades biológicas, como atividade antioxidante. Estas características tornam as especiarias cada vez mais interessantes ao consumidor. Em relação à qualidade física, sanitária e nutricional do produto é fundamental que sejam realizadas pesquisas de matérias estranhas, ou seja, substâncias que não pertencem ao alimento e que podem estar presentes, em consequência de práticas inadequadas durante a fase de produção, armazenamento ou distribuição. Este estudo teve como objetivo analisar os dados dos laudos laboratoriais obtidos pelo Instituto Octávio Magalhães da Fundação Ezequiel Dias IOM/FUNED de 62 amostras de canela do Ceilão, orégano e pimenta-do-reino que foram coletadas no âmbito do Programa Estadual de Monitoramento da Qualidade de Alimentos de Minas Gerais (PROGVISA). Foram avaliados resultados de ensaios microbiológicos, de elementos histológicos e de matéria estranha macroscópica e microscópica. Pôde-se concluir que 60% das amostras se apresentaram fora dos padrões higiênico-sanitários estabelecidos pela legislação vigente, indicando falhas das Boas Práticas de Fabricação desses condimentos. Portanto, a adoção de ferramentas de controle de qualidade efetiva e com ação preventiva se torna primordial para que os condimentos ofertados aos consumidores se enquadrem nos padrões higiênico-sanitários.

PALAVRAS-CHAVE: fiscalização de alimentos, legislação, qualidade de alimentos.

ABSTRACT

Spices have been used in the preparation of food for thousands of years, adding them different flavor, and aroma, and also have biological properties such as antioxidant activity. These characteristics intensify consumer interest on them. Regarding the physical, sanitary and nutritional quality of the product, it is



fundamental that research on foreign matter is carried out, that is, that which is not part of the food and which may be present as a result of improper practices during the production, storage or distribution stages. The objective of the present study was to analyze data from laboratory reports obtained by Instituto Octávio Magalhães da Fundação Ezequiel Dias IOM/FUNED of tests performed on 62 samples of Ceilão cinnamon, oregano and black pepper spices which were collected in the scope of State Program for Monitoring Food Quality of Minas Gerais. Results of microbiological essays, histological elements and macroscopic and microscopic low-grade elements were evaluated. It can be concluded that 60% samples were out of the hygienic-sanitary standards established by prevailing legislation, indicating failures of Good Manufacturing Practices of these condiments. Therefore, the adoption of effective quality control tools with preventive actions becomes paramount in order to the condiments offered to the consumers meet the hygienic-sanitary standards.

KEYWORDS: food surveillance, legislation, food quality.

INTRODUÇÃO

A utilização de especiarias remonta desde a pré-história, época em que esses produtos serviam como perfumes, unguentos coloridos e relaxantes usados para tintura e tempero. Existia também a exploração comercial, tendo um importante papel para disfarçar o sabor e odor dos alimentos no início de deterioração^(1,2).

As especiarias são de origem vegetal, podem ser encontradas na forma de fruto, flor, semente, raiz ou córtex de uma planta e são empregados para dar cor, sabor, aroma e tempero aos alimentos. Dentre as especiarias mais utilizadas na culinária brasileira, destacam-se canela, orégano e pimenta-do-reino^(3,4).

As especiarias apresentam propriedades biológicas, como atividade antioxidante que se deve principalmente à presença de compostos fenólicos como, por exemplo, os flavonóides. Estes compostos estabilizam radicais livres e quelam metais de transição. Estas características tornam as especiarias cada vez mais interessantes ao consumidor, que busca substituir antioxidantes sintéticos pelos naturais^(5,6).

Em relação à qualidade física, sanitária e nutricional do produto é fundamental que sejam realizadas pesquisas de matérias estranhas em alimentos. A Association of Official Analytical Chemists (AOAC) determina como matéria

estranha o que não pertence ao alimento e que pode estar presente, em consequência de práticas inadequadas durante a fase de produção, armazenamento ou distribuição. Dentre as matérias estranhas estão as sujidades consideradas leves, como por exemplo, os insetos e seus fragmentos, ácaros, pelos de animais e bárbulas de aves. O reconhecimento dessas matérias representa um desafio permanente para a indústria e é indicativa das condições sanitárias dos produtos⁽⁷⁾.

Os alimentos são substratos adequados para o transporte e/ou proliferação de microrganismos patogênicos, relacionados a surtos alimentares, portanto o monitoramento da qualidade microbiológica de alimentos é essencial do ponto de vista da Saúde Pública. O contato com umidade, temperatura e manipulação inadequadas desde a sua produção até a sua comercialização e distribuição, propicia a alteração ou deterioração do alimento que inviabiliza a sua venda, gerando prejuízo econômico ao produtor ou enfermidades ao consumidor^(8,10).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) podem ser de origem física, química e microbiológica. As infecções alimentares de origem microbiana são as mais preocupantes, pois ocorrem com maior frequência e têm um importante papel na diminuição da produtividade laboral. Apesar das especiarias se enquadrarem nos alimentos não perecíveis, elas são suscetíveis a contaminação desde sua produção até sua comercialização e distribuição. Dentre os microrganismos mais encontrados em especiarias destacam-se a bactéria patogênica *Salmonella* sp. e os coliformes à 45 °C, que expressam as condições higiênicas do alimento^(11,12).

No estado de Minas Gerais, a Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado de Saúde (VISA/MG) realiza anualmente o Programa Estadual de Monitoramento da Qualidade de Alimentos de Minas Gerais (PROGVISA) desde o ano de 2000 e utiliza-se de métodos para viabilizar a fiscalização dos alimentos, incluindo as especiarias. O monitoramento é efetuado através da análise laboratorial das amostras de alimentos, com a finalidade de averiguação da conformidade dos produtos quanto a legislação sanitária em relação aos parâmetros físico-químicos, microbiológicos, microscópicos e de rotulagem^(13,14).

A seleção dos alimentos a serem coletados é feita de acordo com a necessidade das regiões onde são comercializados com base na verificação dos padrões de consumo da população mineira. Após a seleção dos alimentos, são realizadas reuniões com representantes das Unidades Regionais de Saúde do Estado de Minas Gerais (URS/MG) e dos municípios para definirem a quantidade de cada tipo de alimento a ser coletada⁽¹⁴⁾.

O PROGVISA conta com a participação da Gerência de Vigilância Sanitária de Alimentos (GVA), das 28 Gerências Regionais de Saúdes (GRS), de 270 vigilâncias sanitárias municipais e do Instituto Octávio Magalhães/Fundação Ezequiel Dias (IOM/FUNED), Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Minas Gerais (LACEN-MG), que é o laboratório oficial⁽¹⁴⁾.

Este estudo teve como objetivo analisar os dados dos laudos laboratoriais das especiarias canela do Ceilão, orégano e pimenta-do-reino coletadas pela VISA/MG, por meio do Programa Estadual de Monitoramento da Qualidade de Alimentos de Minas Gerais (PROGVISA).

METODOLOGIA

Foi realizada a coleta de dados, a partir dos laudos laboratoriais emitidos pelo Instituto Octávio Magalhães/Fundação Ezequiel Dias (IOM/FUNED) de 62 amostras de especiarias (20 amostras de *Cinnamomum zeylanicum*, 18 amostras de *Origanum vulgare* e 24 amostras de *Piper nigrum*), entre os anos de 2015 a 2017, sendo os resultados de 2017 parciais.

As amostras foram coletadas por municípios do estado de Minas Gerais que fazem parte do PROGVISA e pela VISA/MG por meio da Diretoria de Vigilância Sanitária de Alimentos (DVA) e das URS/MG. As amostras de condimentos que deram origem aos laudos foram coletadas no comércio do estado de Minas Gerais pelos municípios que optaram por participar do PROGVISA, pelas URS/MG e, quando necessário, pela DVA, entre os anos de 2015 a 2017. O plano amostral utilizado foi o indicativo e a quantidade de amostras de cada tipo de alimento foi

definida com base no “Manual de Coleta de Amostras” publicado pelo IOM/FUNED (LACEN/MG)^(14,15).

Para a análise dos resultados dos ensaios microbiológicos foi utilizada como referência a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) que regulamenta os parâmetros microbiológicos para especiarias⁽¹⁶⁾.

Já para os ensaios de pesquisa e identificação de elementos histológicos, foi consultada a RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005 (Anvisa), que fixa a identidade e parâmetro mínimos de qualidade para especiarias⁽¹⁷⁾.

A referência quanto aos ensaios de pesquisa de matéria estranha macroscópica e microscópica, foi a Resolução - RDC nº 14, de 28 de março de 2014 (Anvisa), que estabelece os requisitos mínimos para avaliação de matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas e seus limites de tolerância⁽¹⁸⁾.

As legislações de referência utilizadas para o estudo estabelecem limites a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras de canela, orégano e pimenta-do-reino analisadas no período de 2015 a 2017 apresentaram resultados satisfatórios para a contagem de coliformes à 45°C. Em relação a análise de *Salmonella* sp., apenas 1 amostra de pimenta-do-reino no ano de 2017 apresentaram contaminação.

Furlaneto e Mendes (2004)⁽⁵⁾ ao avaliarem amostras de canela e orégano comercializadas em hipermercados e feiras livres da cidade de Londrina/PR encontraram 100% das amostras fora dos padrões microbiológicos para coliformes à 45°C. Outro estudo realizado por Sousa (2015)⁽¹⁹⁾, para avaliar especiarias (canela, orégano e pimenta-do-reino) comercializadas em supermercados no município de Palmas/TO, revelou que dentre as especiarias coletadas, apenas a pimenta-do-reino apresentou contaminação por microrganismos.

Em um estudo publicado pela Portaria SDA (Secretaria de Defesa Agropecuária) nº 44, de 08 de maio de 2015, o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes analisou 16 amostras de pimenta-do-reino, das quais 18,8% estavam contaminadas com *Salmonella sp.* A legislação estabelece ausência desse patógeno nos alimentos⁽²⁰⁾.

Muitos fatores podem contribuir com a contaminação microbiológica de especiarias, que pode ocorrer de forma direta, pelo manipulador ou por meio de resíduos biológicos como fezes e fluidos biológicos, e pode ocorrer de forma indireta, por meio dos vetores como moscas, baratas e ratos que carregam consigo material contaminado. Além da transmissão ambiental, na qual os vetores contaminam o ambiente em que o alimento é manipulado, como superfícies de trabalho e equipamentos⁽²¹⁾.

O óleo essencial presente nas especiarias estudadas possui substâncias com atividade antimicrobiana, as quais destacam os hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres e ácidos orgânicos. Entretanto, a presença dessas substâncias nestes condimentos não exclui o risco de contaminação, visto que muitos microrganismos podem demonstrar resistência às substâncias químicas presentes. Desta maneira, somente a presença de substâncias com ação antimicrobiana em especiarias, não assegura a qualidade do alimento, dado que a quantidade presente é relativamente baixa em relação aos inúmeros fatores contaminantes⁽²²⁾.

Em relação aos elementos histológicos 9 amostras não atenderam a legislação sanitária devido à presença de amido não característico (Tabela 1).

Tabela 1. Número de amostras de especiarias analisadas no período de 2015 a 2017 no âmbito do PROGVISA que não atenderam aos padrões legais para elementos histológicos por apresentarem amido não característico.

| Especiarias | Parâmetro Histológico | Ano | | | Número total de amostras não conformes |
|-----------------------------------|---------------------------|------|------|------|--|
| | | 2015 | 2016 | 2017 | |
| Canela n=20 | Casca de Canela | 2 | * | 3 | 5 |
| Orégano n=18 | Folhas e Talos de Orégano | * | * | * | 0 |
| Pimenta-do-reino n=24 | Fruto de Pimenta-do-reino | 1 | 1 | 2 | 4 |
| Total de amostras avaliadas: n=62 | | | | | 9 |

(*) Dentro dos padrões legais vigentes estabelecidos pela RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005 da Anvisa⁽¹⁷⁾.

A utilização de outras partes do vegetal, e/ou de outras espécies vegetais que não são comumente utilizadas como alimento pode ser autorizada desde que seja comprovada a segurança de uso desse produto⁽¹⁷⁾.

Em pesquisa realizada por Rodrigues et al. (2005)⁽²³⁾ foram analisadas 182 amostras de condimentos em seis cidades do estado de São Paulo, e não houve ocorrência de amido nas amostras analisadas, uma vez que só foram identificados os elementos histológicos característicos dos condimentos.

Já para os ensaios de pesquisa de matéria estranha macroscópica e microscópica, 23 amostras realizadas apresentaram resultados insatisfatórios (Tabela 2).

A presença de fragmentos de pelo de roedor acima dos limites estabelecidos, é considerada indicativa de risco à saúde do consumidor, por serem capazes de veicular agentes patogênicos para os alimentos. Esses resultados indicam falhas nas Boas Práticas de Fabricação, que contemplam o controle de pragas e vetores, frequentemente associados à presença de fragmentos e insetos inteiros. Devido à grande quantidade de matérias estranhas encontradas em inspeções sanitárias,

tornou-se necessário estabelecer limites para matérias estranhas microscópicas e macroscópicas por meio de uma Resolução da Anvisa que regulamenta as especiarias e outros alimentos⁽¹⁸⁾.

Tabela 2. Valores máximos e mínimos de matéria estranha macroscópica e microscópica encontradas em especiarias analisadas no período de 2015 a 2017 no âmbito do PROGVISA e número de amostras que não atenderam aos padrões legais.

| Especiarias | Parâmetros de Matéria Estranha | Ano | | | Número de amostras não conformes |
|---------------------------|--|-----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------------|
| | | 2015 | 2016 | 2017 | |
| Canela n=20 | 100 fragmentos de insetos em 50g | * | * | Mín = 100 Máx.= 156 | 4 |
| | 1 fragmento de pelo de roedor em 50g | Mín = 1 Máx.= 4 | Mín = 1 Máx.= 4 | Mín = 1 Máx.= 23 | |
| Orégano n=18 | 20 fragmentos de insetos, de 20 insetos inteiros mortos próprios da cultura em 10g | Mín = 20 Máx.= 32 | * | * | 2 |
| | 1 fragmento de pelo de roedor em 10g | Mín = 1 Máx.= 3 | * | Mín = 1 Máx.= 4 | |
| Pimenta-do-reino n=24 | 60 fragmentos de insetos em 50g | Mín = 60 Máx = 108 | Mín = 60 Máx.= 158 | Mín = 60 Máx.= 200 | 3 |
| | 1 fragmento de pelo de roedor em 50g | Mín = 1 Máx.= 3 | * | Mín = 1 Máx.= 4 | |
| Total de amostras: n = 62 | | | | | 23 |

(*) Dentro dos padrões legais vigentes estabelecidos pela RDC nº 14, de 28 de março de 2014 da Anvisa⁽¹⁸⁾. Máx. Valor máximo encontrado. Mín. Valor mínimo encontrado.

É de suma importância adoções de práticas pelo setor produtivo, o qual deve empregar métodos para a redução de matérias estranhas com a finalidade de atingir o padrão de identidade e qualidade para os condimentos, garantindo a qualidade sanitária em todas as fases de produção⁽²⁴⁻²⁶⁾.

CONCLUSÃO

Pôde-se concluir que 60% das amostras de condimentos avaliadas estavam fora dos padrões higiênico-sanitários estabelecidos, indicando falhas no emprego das Boas Práticas de Fabricação desses alimentos. Os resultados desse estudo demonstram a importâncias da análise microscópica na avaliação da qualidade de condimentos, já que matérias estranhas identificadas não são detectadas por métodos físico-químicos e microbiológicos. O PROGVISA realiza um importante papel na identificação de padrões dos produtos circulantes no estado de Minas Gerais, verificando e intervindo em caso de risco à saúde da população. No entanto, a adoção de ferramentas de controle de qualidade efetivas e com ação preventiva se torna primordial para que os condimentos ofertados aos consumidores se enquadrem nos padrões higiênico-sanitários.

REFERÊNCIAS

- (1) Morais, SM; Cavalcante, ESB; Costa, SMO; Aguiar, LA. 2009. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. Revista Brasileira de Farmacognosia. 19 (1B): 315-320.
- (2) Pestana, F. No tempo das especiarias: O império da pimenta e do açúcar. São Paulo: Editora Contexto, 2013.
- (3) Del Ré, PV; Jorge, N. 2012. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 14 (2): 389-399.
- (4) Martins, AGLA; Nascimento, AR; Filho, JEM; Filho, NEM; Souza, AG; Aragão, NE; Silva, DSV. 2010. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjericão frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaces. Ciência Rural. 40 (8): 1791-1796.



- (5) Furlaneto, L; Mendes, S. 2004. Análise Microbiológica de Especiarias comercializadas em feira livre e hipermercados. *Alimentos e Nutrição*. 15 (2): 87-91.
- (6) Rodrigues, RS; Silva, RR. 2010. A história sob o olhar da química: As especiarias e sua importância na alimentação humana. *Química Nova Escola*. 32 (2): 84-89.
- (7) Association of Official Analytical Chemists (AOAC). International. Official Methods of Analysis of AOAC International. Gaithersburg: AOAC Official Method 972.40A., 2000.
- (8) Peixoto, D; Weckwerh, PH; Simionato, EMRS. 2009. Avaliação da qualidade microbiológica de produtos de confeitaria comercializados na cidade de Ribeirão Preto/SP. *Alimento e Nutrição*. 20 (4): 611-615.
- (9) Silva, JF; Melo, BA; Leite, DT; Cordeiro, MFR; Pessoa, EB; Barreto, CF; Ferreira, TC. 2013. Análise microbiológica de condimentos comercializados na feira central de Campina Grande – PB. *Agropecuária Científica no Seminário*. 9 (2): 83-87.
- (10) Silva, GR; Barros, MLG; Barbosa, MVF; Siqueira, MGFM; Oliveira, AE; Lins, LF; Moura, APBL. 2013. Percepção do conceito de higiene e segurança alimentar dos manipuladores de produtos cárneos de mercado público, Recife/PE. *Acta Veterinária Brasílica*. 7 (2): 158 - 163.
- (11) Carvalho, IT. *Microbiologia dos Alimentos*. Recife: EdUFRPE, 2010.
- (12) Mesquita, MO; Daniel, AP; Saccol, ALF. 2006. Qualidade microbiológica no processamento do frango assado em unidade de alimentação e nutrição. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 26 (1): 198-203.
- (13) MINAS GERAIS. 2018. Relatório 2017: Breve Análise dos Resultados Obtidos em Atendimento ao Programa de Monitoramento da Qualidade dos Alimentos (PROGVISA) em 2016. *Portal da Vigilância em Saúde*. 1 (1): 24-27.
- (14) Almeida, GPB. 2015. Qualidade dos alimentos monitorados pelo PROGVISA/MG no período de 2007 a 2013. *Biblioteca Digital UFMG*. 113.
- (15) FUNED. Manual de Coleta de Amostras. Belo Horizonte, Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2018. Disponível em: <http://www.funed.mg.gov.br/wp-content/uploads/2018/12/Manual-de-coleta-de-amostras-Vigilância-Sanitária.pdf>. Acesso em: 20 mai 2019.

- (16) BRASIL. Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2001
- (17) BRASIL. RDC n° 276, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2005.
- (18) BRASIL. Resolução RDC n° 14, de 28 de março de 2014. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2014.
- (19) Sousa, VMP. 2015. Análise microbiológica de especiarias comercializadas no município de Palmas-TO. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Bacharel em Farmácia, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas/TO. Biblioteca Digital do CEULP/ULBRA.
- (20) BRASIL. 2015. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal - PNCRC/Vegetal, no ano-safra 2013/2014. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 88(1): 4-11.
- (21) Silva Júnior, EA. Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação. São Paulo: Editora Varela, 2012.
- (22) Santurio, DF; Costa, MM; Maboni, G; Cavalheiro, CP; Sá, MF; Pozzo, MD; Alves, SH; Fries, LLM. 2011. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. Ciência Rural. 41(6): 1051-1056.
- (23) Rodrigues, RMMS; Martini, MH; Chiarini, PFT; Prado, SP. 2005. Matérias estranhas e identificação histológica em manjerona (*Origanum majorana* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e salsa (*Petroselinum sativum* Hoffim.) em flocos, comercializados no estado de São Paulo. Revista Instituto Adolfo Lutz. 64 (1): 25-30.
- (24) BRASIL. Resolução RDC n° 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2004.

(25) Carneiro, ACLL; Cardoso, LM; Souza, LT; Santos, LV; Filho, GPV. 2017. Elaboração de roteiro para inspeção das boas práticas de manipulação e comercialização de alimentos no setor informal. *Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia*. 5 (1): 127-132.

(26) Santos VVM; Moura, FML; Baptista, RIAA. 2015. Condições higiênico-sanitárias do comércio de alimentos em feira de arte e artesanato, Recife-PE. *Acta Veterinária Brasílica*. 9 (1): 23-33.



www.crbio04.gov.br
actabiologica@crbio04.gov.br