



Organização
Jader Luís da Silveira

Temáticas em Farmácia

Atualidades



Editora
MultiAtual



Organização
Jader Luís da Silveira

Temáticas em Farmácia

Atualidades



Editora
MultiAtual

© 2021 – Editora MultiAtual

www.editoramultiatual.com.br

editoramultiatual@gmail.com

Editor Chefe e Organizador: Jader Luís da Silveira

Editoração e Arte: Resiane Paula da Silveira

Capa: Freepik/MultiAtual

Revisão: Respective autores dos artigos

Conselho Editorial

Ma. Heloisa Alves Braga, Secretaria de Estado de Educação de Minas Gerais, SEE-MG

Me. Ricardo Ferreira de Sousa, Universidade Federal do Tocantins, UFT

Me. Guilherme de Andrade Ruela, Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF

Esp. Ricael Spirandeli Rocha, Instituto Federal Minas Gerais, IFMG

Ma. Luana Ferreira dos Santos, Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC

Me. Guilherme de Andrade Ruela, Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF

Ma. Ana Paula Cota Moreira, Fundação Comunitária Educacional e Cultural de João Monlevade, FUNCEC

Me. Camilla Mariane Menezes Souza, Universidade Federal do Paraná, UFPR

Ma. Jocilene dos Santos Pereira, Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC

Esp. Alessandro Moura Costa, Ministério da Defesa - Exército Brasileiro

Ma. Tatiany Michelle Gonçalves da Silva, Secretaria de Estado do Distrito Federal, SEE-DF

Dra. Haiany Aparecida Ferreira, Universidade Federal de Lavras, UFLA

Me. Arthur Lima de Oliveira, Fundação Centro de Ciências e Educação Superior à Distância do Estado do RJ, CECIERJ

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Silveira, Jader Luís da
S587t Temáticas em Farmácia: Atualidades / Jader Luís da Silveira
(organizador). – Formiga (MG): Editora MultiAtual, 2021. 89 p. : il.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-89976-09-7
DOI: 10.5281/zenodo.5594691

1. Farmácia. 2. Ciência. 3. Inovação. 4. Atualidades. I. Silveira,
Jader Luís da. II. Título.

CDD: 615.7
CDU: 615

Os artigos, seus conteúdos, textos e contextos que participam da presente obra apresentam responsabilidade de seus autores.

Downloads podem ser feitos com créditos aos autores. São proibidas as modificações e os fins comerciais.

Proibido plágio e todas as formas de cópias.

Editora MultiAtual
CNPJ: 35.335.163/0001-00
Telefone: +55 (37) 99855-6001
www.editoramultiatual.com.br
editoramultiatual@gmail.com

Formiga - MG

Catálogo Geral: <https://editoras.grupomultiatual.com.br/>

AUTORES

**ÂNGELO MÁRCIO LEITE DENADAI
ÁRINA OLIVEIRA REIS DA PAIXÃO
DAFNE DAYSE BEZERRA MACEDO
DANIEL TENÓRIO DA SILVA
ELAINE DA SILVA LEITE
FELIPE GOMES DA COSTA OLIVEIRA
GÉSSICA DE SOUZA SENA
IGOR JOSÉ DE SOUZA MARQUES
JANINY MARIA ARAÚJO GARCIA
JESSYCA WANESSA SOARES ARAUJO SILVA
JHULY AURORA ASSUNÇÃO GOUVÊA
JOEL ALEXANDRE MEIRA
JULIANA DE CARVALHO DA COSTA
KÁTIA APARECIDA NUNES DA SILVA
LAIS ALVES MARQUES
PRISCILA DE LIMA PAULA
RODRIGO LUIZ FABRI
ROGÉRIO LUIS BORTOLUZZI
THIAGO MARTINS PAIS
VANESSA TEMPONI DE MELO**



APRESENTAÇÃO

O farmacêutico é um profissional perito no uso de medicamentos e fármacos, bem como em suas consequências no organismo, contudo, vai além, pois, o farmacêutico é o profissional do cuidado, o profissional do carinho. A farmácia é a porta de entrada aos serviços de saúde e também o último local de saúde por onde passa o paciente, no momento da dispensação do medicamento. Assim, é o local onde é procurado não só pelos remédios, mas também por orientação.

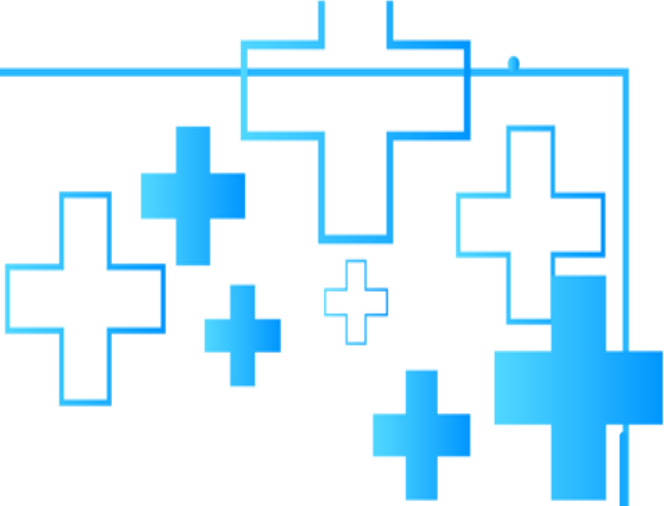
A assistência farmacêutica objetiva à promoção ao uso racional de medicamentos e requer atuação do farmacêutico integrada aos outros profissionais da saúde, numa equipe multidisciplinar. Cabe ao farmacêutico não apenas dispensar e manipular medicamentos, mas também orientar sobre o seu uso correto, e, em algumas situações, até prescrevê-los (medicamentos não tarjados), atuar no controle de doenças crônicas e na prevenção de patologias. A obra “Temáticas em Farmácia: Atualidades” foi concebida diante artigos científicos especialmente selecionados por pesquisadores da área.

Os conteúdos apresentam considerações pertinentes sobre os temas abordados diante o meio de pesquisa e/ou objeto de estudo. Desta forma, esta publicação tem como um dos objetivos, garantir a reunião e visibilidade destes conteúdos científicos por meio de um canal de comunicação preferível de muitos leitores.

Este e-book conta com trabalhos científicos da área de Farmácia, aliados às temáticas das práticas ligadas a a inovação e aspectos que buscam contabilizar com as contribuições de diversos autores. É possível verificar a utilização das metodologias de pesquisa aplicadas, assim como uma variedade de objetos de estudo.

SUMÁRIO

Capítulo 1 INSTRUMENTOS PARA CONCILIAÇÃO DE MEDICAMENTOS APLICÁVEIS EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA <i>Elaine da Silva Leite; Dafne Dayse Bezerra Macedo; Jessyca Wanessa Soares Araujo Silva; Igor José de Souza Marques; Géssica de Souza Sena; Lais Alves Marques; Daniel Tenório da Silva</i>	8
Capítulo 2 PHENOTYPIC ANALYSIS OF YEAST STRAINS POTENTIALLY USED FOR BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS <i>Joel Alexandre Meira; Rogério Luis Bortoluzzi; Thiago Martins Pais</i>	31
Capítulo 3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA PURIFICADA DE UMA FARMÁCIA MAGISTRAL DE JUIZ DE FORA-MG <i>Árina Oliveira Reis da Paixão; Kátia Aparecida Nunes da Silva; Jhuly Aurora Assunção Gouvêa; Janiny Maria Araújo Garcia; Vanessa Temponi de Melo; Felipe Gomes da Costa Oliveira; Juliana de Carvalho da Costa</i>	44
Capítulo 4 ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DAS FOLHAS DE PLÍNIA CAULIFLORA (DC.) KAUSEL (JABUTICABA) <i>Priscila de Lima Paula; Ângelo Márcio Leite Denada; Rodrigo Luiz Fabri</i>	59
Biografias CURRÍCULOS DOS AUTORES	84



Capítulo 1

INSTRUMENTOS PARA CONCILIAÇÃO DE MEDICAMENTOS APLICÁVEIS EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Elaine da Silva Leite

Dafne Dayse Bezerra Macedo

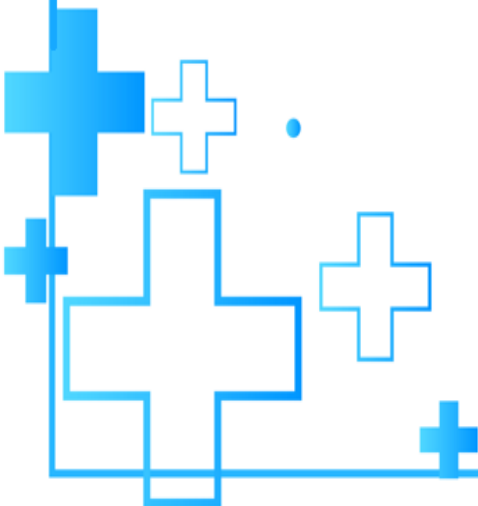
Jessyca Wanessa Soares Araujo Silva

Igor José de Souza Marques

Géssica de Souza Sena

Lais Alves Marques

Daniel Tenório da Silva ●



INSTRUMENTOS PARA CONCILIAÇÃO DE MEDICAMENTOS APLICÁVEIS EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Elaine da Silva Leite

Farmacêutica pela Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF e
Residente em Atenção ao Câncer e Cuidados Paliativos pela Asces-Unita

leite.elaine@gmail.com

Dafne Dayse Bezerra Macedo

Farmacêutica pela Universidade Federal da Paraíba-UFPB e Residente em Atenção
ao Câncer e Cuidados Paliativos pela Asces-Unita

dafne_dayse_scc@hotmail.com

Jessyca Wanessa Soares Araujo Silva

Farmacêutica pela Asces-Unita e Residente em Atenção ao Câncer e Cuidados
Paliativos pela Asces-Unita

jessyca_wanessa@hotmail.com

Igor José de Souza Marques

Farmacêutico pela Asces-Unita e Residente em Atenção ao Câncer e Cuidados
Paliativos pela Asces-Unita

igorjosedesouzamarques@gmail.com

Géssica de Souza Sena

Farmacêutica pela Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF

ge.s.sena12@gmail.com

Lais Alves Marques

Mestre em Farmácia pela Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF

laisalves.la91@gmail.com

Daniel Tenório da Silva

Professor Doutor da Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF

daniel.tenorio@univasf.edu.br

RESUMO

Pacientes hospitalizados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) estão mais susceptíveis à necessidade de múltiplas terapias, o que pode facilitar a ocorrência de Eventos Adversos a Medicamentos (EAM). Assim, a conciliação de medicamentos é tida como um processo importante quando se trata da garantia da segurança ao paciente e otimização do tratamento, a fim de reduzir o número de erros e danos ao paciente. O objetivo desse estudo foi realizar uma busca sistemática acerca de instrumentos aplicáveis na conciliação de medicamentos em UTI. As bases de dados utilizadas foram Scielo, Lilacs, Pubmed e Scopus e realizou-se a procura de estudos relevantes publicados até julho de 2021. Os estudos incluídos foram avaliados sob diversos aspectos, se sobressaindo trabalhos de origem holandesa e brasileira, o idioma mais prevalente foi o inglês e o tipo de publicação mais observado foi artigo. Dois estudos utilizaram formulário eletrônico enquanto três preferiram formulário impresso. Em relação à metodologia de validação, a maioria dos estudos fez adaptações de outros instrumentos, quanto aos setores de aplicação dos instrumentos os cuidados intensivos e pediátricos ganharam um destaque maior. O tipo dos estudos variou entre observacional prospectivo e transversal, houve heterogeneidade quanto à duração dos estudos e o tamanho das amostras. Os principais desfechos relataram o erro por omissão como o mais frequente, e dentre as limitações abordadas estavam vieses de seleção e memória, amostra pequena e período curto de realização do estudo. Na análise de conteúdo dos instrumentos, as principais informações relacionadas ao paciente foram nome ou iniciais, data de nascimento, número do prontuário ou registro, sexo, peso e altura, alergias e/ou intolerâncias a medicamentos e/ou alimentos. Já em relação aos dados farmacoterapêuticos, os quesitos mais frequentes foram nome do medicamento, dose utilizada, via de administração, frequência de uso, data e hora da última tomada e presença de discrepâncias na conciliação e erros de medicação associados a estas. Finalmente, tal revisão corroborou com o desenvolvimento de estudos futuros na temática, além de auxiliar o fomento de alternativas seguras no uso de medicamentos.

Palavras-chaves: Erros de medicação. Segurança do paciente. Conciliação de medicamentos. Unidade de Terapia Intensiva.

ABSTRACT

Patients hospitalized in Intensive Care Units (ICU) are more susceptible to the need for multiple therapies, which can facilitate the occurrence of adverse drug events. Thus, medication reconciliation is considered an important process when it comes to guaranteeing patient safety and optimizing treatment, in order to reduce the number of

errors and harm to the patient. The aim of this study was to conduct a systematic search on instruments applicable to medication reconciliation in the ICU. The databases used were Scielo, Lilacs, Pubmed and Scopus, and a search for relevant studies published until July 2021 was carried out. was English and the most observed type of publication was article. Two studies used an electronic form while three preferred a printed form. Regarding the validation methodology, most studies made adaptations of other instruments, as the sectors of application of the instruments, intensive care and pediatrics gained greater prominence. The type of studies varied between prospective observational and cross-sectional, with heterogeneity regarding the duration of the studies and the size of the samples. The main outcomes reported error by omission as the most frequent one, and among the limitations addressed were selection and memory biases, small sample size and short study period. In the content analysis of the instruments, the main information related to the patient were name or initials, date of birth, medical record number, gender, weight and height, allergies and/or intolerance to medications and/or food. Regarding pharmacotherapeutic data, the most frequent questions were the name of the drug, dose used, route of administration, frequency of use, date and time of the last intake and the presence of discrepancies in the reconciliation and medication errors associated with these. Finally, this review corroborated the development of future studies on the subject, in addition to helping to promote safe alternatives in the use of medicines.

Keywords: Medication errors. Patient safety. Medication reconciliation. Intensive Care Unit.

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos constituem a principal tecnologia de saúde utilizada na terapêutica clínica, de maneira que o uso inapropriado aumenta o risco de aparecimento de Eventos Adversos a Medicamentos (EAM). Tais eventos podem acontecer em quaisquer das etapas de cuidado, seja na prescrição, preparo, dispensação, administração, podendo ou não provocar danos ao paciente (AFONSO, 2015; LINDENMEYER; GOULART; HEGELE, 2013; VOLPATTO et al., 2017).

Nesse contexto, o sistema de Conciliação de Medicamentos (CM) constitui uma ferramenta importante para redução de danos e prevenção de implicações negativas aos pacientes, especialmente de cuidados intensivos, além de garantir a continuação e adequação do tratamento oportuno (MÁRMOL-RODRIGUEZ; RODRIGUEZ-CASAL, 2015).

Para tanto, é necessária a obtenção de uma lista completa de medicamentos utilizados domiciliarmente pelo paciente juntamente com os prescritos no contexto hospitalar. Tal prática visa identificar e barrar a propagação de erros, tais como de

omissão, duplicidade, transcrição e interações medicamentosas; além de garantir a segurança do paciente (FRIZON et al., 2014; REY; PRADOS; GÓMES, 2016).

Ademais, situações em que o paciente é submetido a transições de cuidado, como admissão, transferência interna e alta hospitalar, são as que mais os expõe a Eventos Adversos (EA), principalmente, devido à comunicação deficiente e perda de informações durante o processo (KWAN et al., 2013; LINDENMEYER, GOULART, HEGELE, 2013; VILLAMAYOR-BANCO et al., 2016). Lombardi e colaboradores (2016) certificaram-se que mais de 50% da ocorrência de EM ocorreram quando o paciente foi submetido a transições de cuidado, ressaltando o quão são frágeis e sujeitos a falhas. Outro desafio encontrado na prática da CM é a baixa adesão dos profissionais de saúde, principalmente devido à necessidade de tempo que deve ser dedicado à atividade (FERRAZ, 2015).

Diante disso, a escassez de instrumentos para esse fim, sobretudo brasileiros, torna necessária a realização estudos que auxiliem na compreensão, prática e implantação desse serviço de forma a ampliar a promoção da segurança dos cuidados prestados ao paciente, bem como a qualidade dos serviços da rede de atenção à saúde (MANZORRO et al., 2011; SALES et al., 2016).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi realizar uma busca sistemática acerca de instrumentos de CM aplicáveis em UTI a fim de caracterizar metodologicamente os estudos eleitos, bem como, obter um panorama geral de estudos e instrumentos de conciliação de medicamentos que possam ser aplicados em ambiente de cuidados intensivos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 EVENTOS ADVERSOS A MEDICAMENTOS

Atualmente existem inúmeros recursos e tecnologias disponibilizadas pelos serviços de saúde para auxiliar na promoção, prevenção, recuperação e/ou reabilitação da saúde do indivíduo. Entretanto, a aplicação indevida de tais ferramentas pode resultar em um EA, que segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) se caracteriza como qualquer dano não intencional, decorrente da assistência à saúde e que não está associado à doença de base do paciente (WHO, 2018). No Brasil, estudos mostraram que no serviço de emergência de um Hospital Universitário

cerca de 50% dos pacientes em alta hospitalar e 70% dos que evoluíram a óbito sofreram pelo menos um EA (NUNES et al., 2014, NETO et al., 2019).

Quando o dano é causado através da utilização do medicamento como tecnologia, classifica-se como EAM, sendo o medicamento a principal causa de ocorrência de EA em pacientes hospitalizados (MASTROIANNI; VARALHO, 2013; SALES et al., 2016). Ademais, o uso de múltiplas terapias tornam estes mais propensos a sofrerem danos desnecessários devido à ocorrência desses eventos (ROQUE; MELO, 2012).

Nesse contexto, erros de medicação (EM) podem surgir durante o processo de prescrição médica; fracionamento de produtos para a saúde e medicamentos; composição das formulações; falhas nos processos de distribuição, administração e monitoramento do paciente (NASCIMENTO; FREITAS; OLIVEIRA, 2016; SIMAN et., 2021).

Assim, pacientes que apresentam múltiplas comorbidades geralmente têm necessidade de utilização de várias terapias associadas, o que eleva o risco de EM e discrepâncias na farmacoterapia, podendo ser citados os Medicamentos Potencialmente Perigosos (MPPs). Estes são caracterizados por possuírem risco maior em relação à seus benefícios e estão associados com EAM significantes e de elevado grau de risco à vida (OLIVEIRA et al., 2016; SOUSA et al., 2018).

Tais fatores podem aumentar a permanência no ambiente hospitalar, elevando consideravelmente os custos com internações hospitalares, gerando assim maior necessidade de intervenções terapêuticas e diagnósticas, custos sociais, aumento da utilização de medicamentos e óbitos precoces (ARAÚJO; MELO, 2017).

2.2 FARMACOTERAPIA E EVENTOS ADVERSOS NA UTI

A utilização adequada e eficiente dos leitos de UTI é imprescindível para o fluxo ideal de pacientes e melhora da qualidade do atendimento. Todavia, a incidência de internações em UTI relacionadas a medicamentos relatada é de até 27,4% (JOLIVOT et al., 2014). Além disso, em virtude da fragilidade e complexidade da situação clínica desses pacientes, a transferência destes de uma especialidade para outra é considerado um evento de alto risco devido à redução significativa do monitoramento e elevada ocorrência de erros evitáveis (VAN SLUISVELD et al., 2015).

Santamaria et al. (2017) mostraram que a readmissão na UTI é considerada um evento adverso evitável. Assim, os pacientes readmitidos na UTI apresentam taxa de mortalidade hospitalar até seis vezes maior que os não readmitidos, além de reduzirem a disponibilidade de leitos e elevarem os custos do tratamento (VAN SLUISVELD et al., 2017).

Diante desse contexto, a gravidade clínica e a urgência/emergência no momento do atendimento e admissão na UTI, faz com que a informação dos medicamentos utilizados pelo paciente em domicílio se perca no processo, descontinuando o tratamento. Em contrapartida, alguns medicamentos iniciados na UTI, como inibidores da secreção de ácido gástrico e antipsicóticos, que permanecem para uso em curto prazo, são continuados desnecessariamente após a alta (BOSMA et al., 2018; STOLLINGS et al., 2018).

Muitos são os protocolos de boas práticas cujo intuito é evitar a ocorrência de erros por parte dos profissionais de saúde e possibilitar que desenvolvam suas atribuições de forma segura (VOLPE, 2016), dentre eles está o Documento de Referência para o Programa Nacional de Segurança do Paciente. Este afirma que a pressão exercida sobre os profissionais de saúde tais como redução de custos, elevada jornada de trabalho e superlotação nas instituições contribuem para o processo de adoecimento profissional e aumento das chances de ocorrência de erros e eventos adversos (BRASIL, 2014).

2.3 CONCILIAÇÃO DE MEDICAMENTOS COMO UMA ESTRATÉGIA DE SEGURANÇA

A CM é definida como o “processo de comparação contínua dos medicamentos que o paciente está usando (ou deveria estar usando) com novas prescrições nas interfaces de cuidado a fim de resolver discrepâncias e problemas potenciais” (MENDES, 2016). Informações como dose, posologia e via de administração são extremamente importantes nesse processo de busca de eventuais erros de transcrição, omissão e duplicidade, além de inconsistências e interações medicamentosas (FERRAZ, 2015; LINDENMEYER; GOULART; HEGELE, 2013).

Visto que a maioria dos EA que ocorrem nos hospitais advém dos EM, a CM surge como uma estratégia para interceptar os possíveis erros na cadeia de processos que abrangem a farmacoterapia do paciente, reduzindo a possibilidade de falhas,

assim como agravos à saúde do enfermo através da identificação e resolução de discrepâncias nas transições de cuidado (Figura 1) (FERRAZ, 2015; SANZ et. al, 2014).

As discrepâncias podem ser descritas como qualquer inconsistência encontrada durante a revisão entre as listas de medicamentos, como omissão ou duplicação de medicamentos, erros na posologia (dose, frequência e duração do tratamento) e equívoco quanto à via de administração (STEURBAUT et al., 2010). Estas podem ser classificadas em intencionais quando há uma justificativa clínica e o profissional agiu propositalmente, e não intencionais ou não documentadas quando a discrepância ocorreu de maneira involuntária e/ou inconsciente. Sendo importante ressaltar que esta última é considerada EM (MENDES, 2016; GRAÇA, 2015).

A melhor história possível do uso de medicamentos (MHPM) é o primeiro passo para realização da CM e depende tanto de profissionais da saúde, quanto da colaboração de familiares e do próprio paciente. Esta envolve duas etapas: obtenção da lista completa de medicamentos prescritos e não prescritos através de entrevista com o paciente, além de ratificar essas informações com pelo menos uma fonte de dados confiável (banco de dados governamental, embalagens e/ou lista de medicamentos, prescrições anteriores) (KWAN et al., 2013).

Um estudo brasileiro relatou que na obtenção do histórico de medicamentos, apenas 0,8% dos pacientes negaram a utilização de algum medicamento, enquanto 99,2% informou o uso, evidenciando a necessidade de realização da CM. Entretanto, apenas 25% dos pacientes tiveram suas terapias reconciliadas, o que evidencia a carência de medidas para que melhorem esse percentual (SANTOS et al., 2019).

Nessa perspectiva, Ferraz (2015) e Mendes (2016) afirmam que a obtenção do histórico completo do uso de medicamentos pelo paciente depende de vários fatores, como barreiras linguísticas, analfabetismo, estado cognitivo do entrevistado, proximidade suficiente entre paciente e acompanhante, entre outros. Dessa forma, visualiza-se a dificuldade de obtenção de uma lista precisa de medicamentos utilizados, bem como a adição de terapias errôneas. Inclusive, segundo a OMS, a obtenção do histórico de medicação do paciente é considerada uma das principais estratégias para segurança do paciente (FERNANDES, 2012).

Diante desse contexto, evidencia-se a intervenção farmacêutica, que objetivam a prevenção dos erros de prescrição e de administração, assim, o Farmacêutico Clínico tem um papel primordial na promoção do uso racional dos medicamentos.

(RIBEIRO, 2015). Um estudo realizado na Holanda em 2018, analisou a intervenção do farmacêutico através da CM na admissão da UTI e antes da alta da UTI, constatando que na admissão pré intervenção houve uma redução de 67,6% de EAM. Já na alta da UTI observou-se uma redução em 44,2% de EAM com a realização da CM (BOSMA et al, 2018).

Para JCI a falta de comunicação é a grande vulnerabilidade nos sistemas de saúde, seja na admissão, transferência interna ou alta hospitalar (FERRAZ, 2015). Dessa forma, a implementação de sistema eletrônico de gerenciamento de medicamentos foi associada a uma melhora da comunicação intersetorial, bem como o aumento significativo na proporção de CM realizadas, em função da facilitação e agilidade no processo (SADANEH et al., 2017).

Corroborando com tais dados, estudos demonstram que o serviço de CM tem sido eficiente na prevenção e redução de EAM devido identificação e intervenção em discrepâncias não intencionais na farmacoterapia de pacientes hospitalizados, em cerca de 70% (ANACLETO et al., 2010; KWAN et al., 2013), 75% (FERRAZ, 2015) e 90% (FRANZEN et al., 2014), representando grande diferencial na promoção da segurança do paciente.

Portanto, o processo de CM é reconhecido por reduzir os riscos de EAM, morbidade e mortalidades associadas, aumento da segurança e eficácia das terapias prescritas, bem como a redução de custos hospitalares (AFONSO, 2015; URENÃ et al., 2017). Além disso, deve ser uma prática integrada nos serviços de saúde, pois já é considerado um requisito obrigatório para acreditação hospitalar em muitos países (FARHA et al., 2018; VILLAMAYOR-BANCO et al., 2016).

3 MÉTODO

Esta revisão sistemática foi construída com base no guideline *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* e nas ferramentas *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) e *Assessing the Methodological Quality of Systematic Reviews* (AMSTAR).

3.1 BUSCA SISTEMÁTICA EM BASE DE DADOS

Estudos pertinentes publicados até Julho de 2021 foram identificados por meio de uma pesquisa nas bases de dados *Pubmed*, *Scopus*, *Scielo* e *Lilacs*. Como

estratégia de busca foram utilizados termos padronizados a partir de consultas à enciclopédia de vocabulários na *National Library of Medicine* por meio do *Medical Subject Headings* (MeSH) e na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS) através dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). Dessa forma, através do MeSH foram obtidos “*Medication Reconciliation*” e “*Intensive Care Units*”, e com o auxílio do DeCS foram encontrados os termos “*Reconciliação de Medicamentos*” e “*Unidades de Terapia Intensiva*”.

3.2 SELEÇÃO DE ESTUDOS

Inicialmente, foram identificados e desconsiderados todos os estudos duplicados e logo após a seleção prosseguiu em três etapas: avaliação de títulos, resumos e textos completos. As duas etapas iniciais foram realizadas por dois pesquisadores para analisar as publicações selecionadas de acordo com os critérios de inclusão na análise de títulos e resumos. Em casos de discrepância de opiniões, um terceiro pesquisador analisou a divergência. Houve também busca manual de estudos através das referências dos estudos obtidos, possibilitando ampliação de busca de instrumentos utilizados no serviço de CM na UTI.

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os estudos que atenderam aos seguintes parâmetros foram considerados elegíveis para inclusão: 1) publicados em Português, Inglês ou Espanhol; 2) utilizavam instrumento específico para conciliação de medicamentos; 3) disponibilizavam o instrumento para livre utilização e/ou visualização; 4) instrumento aplicável à UTI ou quaisquer setores hospitalares que permitissem fluxo de internação e trabalho semelhante a UTI. Foram utilizados os seguintes critérios para exclusão: 1) estudo indisponível na íntegra; 2) resumo publicado em anal de congresso; 3) carta ao editor; 4) revisão de literatura; 5) revisão integrativa; 6) *scoping review*; 7) revisão sistemática com ou sem metanálise; 8) *overview* de revisão sistemática com ou sem metanálise; 9) capítulo de livro; 11) estudo em que o método e/ou intervenção não estavam claros; 12) Editorial.

3.4 EXTRAÇÃO DE DADOS

Os estudos incluídos nesta revisão sistemática a partir de sua afinidade aos critérios de inclusão foram analisados quanto: ao(s) autor(es), ano de publicação, país

de origem, metodologia de avaliação do instrumento, setor de aplicação do instrumento, etapa da hospitalização que o instrumento foi aplicado (admissão, transferência interna ou alta), amostra, idioma de publicação, tipo de estudo, principais resultados e limitações dos instrumentos analisados, além da caracterização de conteúdo dos instrumentos de conciliação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

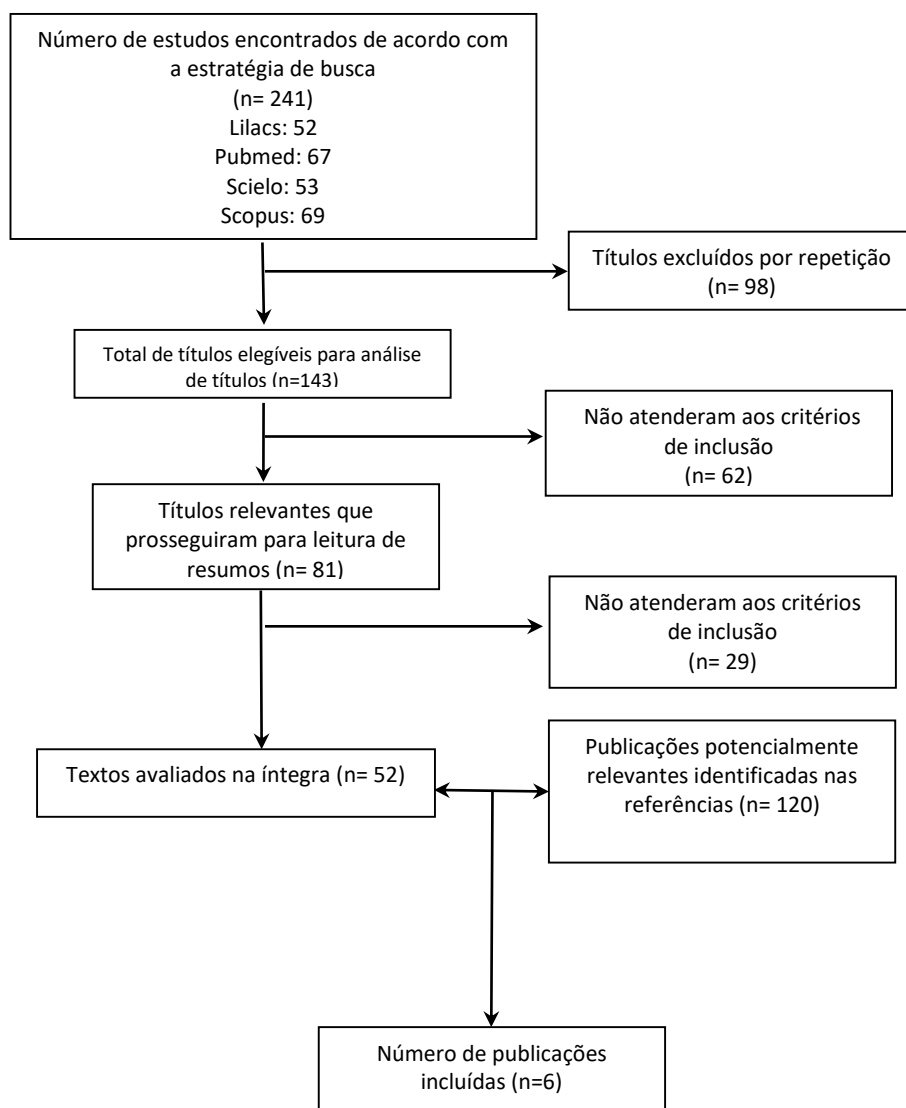
4.1 BUSCA SISTEMÁTICA EM BASE DE DADOS

Através da estratégia de busca estabelecida, foram encontrados 241 estudos, dos quais apenas seis estavam de acordo com os critérios de inclusão, bem como apresentaram instrumentos para conciliação de medicamentos. A figura 5 esquematiza em detalhes as etapas realizadas que compuseram tal revisão sistemática.

4.2 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS PROPOSTAS

Diante das seis publicações selecionadas, dois artigos são holandeses (BOSMA et al., 2017; BOSMA et al., 2019), uma dissertação e um artigo brasileiros (GRAÇA, 2015; SCHUCH et al., 2013), um manual canadense (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011) e um artigo espanhol (MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015). Três foram publicados no idioma Inglês (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011; BOSMA et al., 2017; BOSMA et al., 2019) dois em Português (GRAÇA, 2015; SCHUCH et al., 2013) e um em Espanhol (MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015).

Figura 5. Fluxograma de etapas de seleção das publicações incluídas no estudo.



Quanto à modalidade do instrumento de CM, foram utilizados instrumentos impressos ou eletrônicos. Ao total, dois artigos utilizaram como instrumento para CM um formulário eletrônico e tiveram como base o *Tim Program* (BOSMA et al., 2017; BOSMA et al., 2019). Em contrapartida, uma dissertação (GRAÇA, 2015) e dois artigos (MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015; SCHUCH et al., 2013) utilizaram formulário impresso. Um estudo não relatou o tipo de modalidade utilizada (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011).

A implementação de sistema eletrônico de gerenciamento de medicamentos foi associada a um aumento significativo na proporção de CM realizadas (SADANEH et al., 2017), sendo que, a implantação da prescrição eletrônica tem potencial impacto nos erros de prescrição, embora seu custo elevado possa ser considerado uma

limitação (ANACLETO et al., 2010). A eficácia das ferramentas de padronização eletrônicas foi relatada como instrumento para melhorar a transferência de informações entre setores (VAN SLUISVELD et al., 2015).

Em relação à metodologia de validação, Bosma et al. (2017) realizaram adaptações no *Tim Program* e nas medidas de resultados através de um painel de avaliadores. Já Graça (2015) fez uma adaptação de estudos e manuais internacionais com o auxílio de um painel de avaliadores que utilizaram a técnica Delphi. Mármol-Rodríguez e Rodríguez-Casal (2015) avaliaram seu instrumento com recomendações da Junta de Andalucia, adaptadas do questionário *Instituto para el Uso Seguro de los Medicamentos* de aplicação nacional e internacional. O manual *Safer Healthcare Now* (2011) utilizou instrumentos de CM de instituições diferentes com autorização das mesmas, mas não descreveu o processo de validação. Enquanto Schuch et al. (2013) usou um formulário de CM da Seção de Farmácia Clínica da própria instituição, mas também não expuseram sua metodologia de validação. Um estudo (BOSMA et al., 2019) não descreveu a origem nem validação do instrumento utilizado.

É através do processo de validação que ferramentas são avaliadas quanto sua qualidade e confiabilidade para medir o que se propôs, através de coerência nos processos metodológicos e consistência dos resultados (GUIMARÃES; HADDAD; MARTINS, 2015). Contudo, convém destacar que validações inadequadas podem originar instrumentos fragmentados, dificultando a efetivação de pesquisas e disseminando materiais equivocados e não reprodutíveis (LEITE et al., 2018).

Os setores de aplicação dos instrumentos relatados foram UTI (BOSMA et al., 2017; BOSMA et al., 2019); enfermaria pediátrica, enfermaria de doenças infecciosas pediátricas, unidade intermediária, unidade de pacientes graves, enfermaria de cirurgia pediátrica (GRAÇA, 2015); unidade de medicina interna e cirurgia (MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015) e unidade de oncologia pediátrica (SCHUCH et al., 2013). Um estudo não especificou o setor de aplicação do instrumento de CM (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011). Um estudo brasileiro constatou que os setores de cuidados intensivos foram os que mais apresentaram prescrições contendo MPPs, bem como o maior percentual de MPPs com erros, corroborando a necessidade de estudos e intervenções na área (ROSA et al., 2009).

Todas as publicações relataram a etapa da hospitalização na qual ocorreu o processo de CM, dentre elas a admissão (BOSMA et al., 2017; GRAÇA, 2015; MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015; SAFER HEALTHCARE NOW,

2011; SCHUCH et al., 2013), transferência interna (GRAÇA, 2015; SAFER HEALTHCARE NOW, 2011) e alta (BOSMA et al., 2017; BOSMA et al., 2019; SAFER HEALTHCARE NOW, 2011). Nesse sentido, histórias precisas de utilização de medicamentos na admissão, transferência interna e alta hospitalar podem associar o uso e/ou não adesão terapêutica. Em contrapartida, históricos vagos podem desencadear tratamento farmacoterapêutico interrompido ou inadequado (KWAN et al., 2013). A tabela 1 detalha as variáveis analisadas nos estudos selecionados.

5.3 ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS PUBLICAÇÕES SELECIONADAS.

Quando ao tipo de estudo das seis publicações incluídas, três delas foram do tipo observacional prospectivo (BOSMA et al., 2017; BOSMA et al., 2019; GRAÇA, 2015), um estudo transversal (SCHUCH et al., 2013) e dois não foram descritos (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011; MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015). Nesse sentido, percebe-se que é necessária a realização de estudos com maior robustez metodológica, a fim de proporcionar maior nível de evidência aos dados encontrados.

Dentre os principais desfechos observados estavam o erro por omissão como sendo o principal tipo de discrepância não intencional (BOSMA et al., 2019; GRAÇA, 2015; SCHUCH et al., 2013); redução de cerca de 50% da relação de pacientes com pelo menos um EA na admissão e na alta da UTI em relação aos dados apresentados na literatura (BOSMA et al., 2017); 49,3% das discrepâncias não justificadas apresentaram danos potenciais e o MHPM foi obtido em apenas 28,6% dos pacientes (MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015).

Outros estudos também demonstram que intervenções farmacêuticas parecem eficazes na melhora dos cuidados e redução dos eventos adversos evitáveis, revelando uma redução significativa na média de dias na UTI de 71 para 37 dias (VAN SLUISVELD et al., 2015) e redução em 31,3% no total de discrepâncias, com redução em 14,5% no número de pacientes com discrepâncias, de maneira significativa (STEWART; LYNCH, 2014).

Já relacionado às limitações, os estudos relataram a possível existência de viés de seleção (BOSMA et al., 2017; GRAÇA, 2015) e memória (GRAÇA, 2015), limitação em relação ao tamanho da amostra relativamente pequeno (BOSMA et al., 2019; MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015; GRAÇA, 2015) e período

relativamente curto de realização do estudo (BOSMA et al., 2017 GRAÇA, 2015). Apesar de não ter descrito suas limitações, o manual *Safer Healthcare Now* (2011) foi pautado apenas na exposição de informações de caráter injuntivo; ao passo que, Schuch et al. (2013) também não relataram a presença de limitações e/ou pontos negativos no estudo.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS INSTRUMENTOS DE CONCILIAÇÃO DE MEDICAMENTOS

Os instrumentos de CM foram analisados quanto ao seu conteúdo e apresentaram informações comuns entre si. Quanto aos dados pessoais, as informações mais frequentes foram: nome (SCHUCH et al., 2013; SAFER HEALTHCARE NOW, 2011; BOSMA et al., 2017) ou iniciais do paciente (GRAÇA, 2015), data de nascimento (BOSMA et al., 2017; GRAÇA, 2015), número do prontuário/registro (MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015; SCHUCH et al., 2013), sexo (GRAÇA, 2015; MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015), peso e altura (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011; GRAÇA, 2015), alergias e/ou intolerâncias a medicamentos e/ou alimentos (BOSMA et al., 2017; GRAÇA, 2015; MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015; SAFER HEALTHCARE NOW; SCHUCH et al., 2013).

Algumas publicações apresentaram diferenciais e destacaram-se quanto à exigência de informações adicionais em relação aos demais estudos, de maneira que foram os únicos a abordarem tal quesito, como: setor de origem e destino na transferência interna e contraindicações (BOSMA et al., 2017), diagnóstico de admissão, de base e superfície corporal (GRAÇA, 2015), número de doenças crônicas e hábitos tóxicos (MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015), data e hora da admissão (SCHUCH et al., 2013) e tempo de permanência na UTI (BOSMA et al., 2019). Apenas um estudo preconizou o tempo ideal para CM na admissão, como sendo em até 48 horas (SCHUCH et al., 2013).

Em relação às informações acerca dos medicamentos, os dados mais requeridos foram: nome do medicamento e dose utilizada (todos os estudos solicitaram), via de administração (SCHUCH et al., 2013; GRAÇA, 2015; SAFER HEALTHCARE NOW, 2011), frequência de uso (SCHUCH et al., 2013; GRAÇA, 2015; SAFER HEALTHCARE NOW, 2011), data e hora da última tomada (SCHUCH et al., 2013; GRAÇA, 2015; SAFER HEALTHCARE NOW, 2011), discrepâncias e erros de

medicação associados (GRAÇA, 2015; MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015; SCHUCH et al., 2013).

Houve ainda publicações que apresentaram dados excedentes em relação às demais, como: classificação da MHPM, da melhor lista possível de medicamentos de alta na UTI e quanto ao aconselhamento profissional (BOSMA et al., 2017), interações medicamentosas identificadas (GRAÇA, 2015), uso de plantas medicinais (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011) e quanto à fundamentação das alterações no regime farmacoterapêutico (SAFER HEALTHCARE NOW, 2011; SCHUCH et al., 2013).

Apenas um estudo apresentou um instrumento de CM por meio de um score de previsão para identificação de pacientes de risco através de pontuações estabelecidas para seis preditores, constatando que 60% dos pacientes de UTI participantes tinham risco aumentado para erros de medicação potencialmente prejudiciais (BOSMA et al., 2019). A caracterização detalhada dos estudos citados está descrita na tabela 1.

Tabela 1. Caracterização dos instrumentos de CM analisados.

Estudo / Ano	Título da publicação	Requisitos abordados pelo instrumento
BOSMA et al., 2017	<i>The effect of the TIM program (Transfer ICU Medication reconciliation) on medication transfer errors in two Dutch intensive care units: design of a prospective 8-month observational study with a before and after period.</i>	Nome do paciente, data de nascimento, setor de origem e destino na transferência interna, medicamento, posologia, se é tomado em casa, se estava em uso antes da UTI bem como na alta da UTI, e o aconselhamento (recomeçar, continuar, parar quando indicado, reiniciar medicação em casa e/ou dar seguimento conforme a própria necessidade). Alergias, intolerâncias e contraindicações. Classificação da MHPM e da melhor lista possível de alta de medicação na UTI. Fonte de informação consultada.
BOSMA et al., 2019	<i>Development of a multivariable prediction model for identification of patients at risk for medication transfer errors at ICU discharge.</i>	Tempo de permanência na UTI (dias), número de medicamentos presentes na MHPM, uso ou não de vitaminas e/ou minerais em casa, utilização de medicamentos cardiovasculares em casa (digoxina, anti-hipertensivos, diuréticos, vasoprotetores, moduladores lipídicos), utilização de medicamentos antipsicóticos e/ou antidepressivos em casa, utilização de medicamentos inalatórios para doenças obstrutivas das vias aéreas em casa.
GRAÇA, 2015	Avaliação do processo de conciliação medicamentosa em pacientes pediátricos em um hospital público especializado no estado do Rio de Janeiro.	-Admissão: Iniciais do paciente, diagnostico de admissão e de base, data de nascimento, sexo, peso, altura, superfície corporal, reação adversa anterior e alergias. Nome do medicamento, dose, via de administração, frequência de uso, data/hora do uso antes da internação, fonte. Prescritos na admissão, discrepâncias, EM, interações medicamentosas e resolução. Medicamentos não prescritos. -Transferência interna: Iniciais do paciente, diagnostico de admissão e de base, data de nascimento, sexo, peso, altura, superfície corporal, reação adversa anterior e alergias. Tipo de medicamento (anterior ou posterior à internação), nome do medicamento, dose, via de administração, frequência de uso. Prescrito na transferência, discrepâncias, EM, interações medicamentosas e resolução.
MÁRMOL-RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ-CASAL, 2015	<i>Estudio clínico de conciliación de la medicación al ingreso hospitalario en pacientes de las áreas de medicina interna y cirugía.</i>	Número do registro, idade, número de doenças crônicas, sexo, presença de RAMs ou alergias, hábitos tóxicos. Medicamentos anteriores à admissão e medicamentos durante a permanência – Nome do medicamento, dose, padrão, forma farmacêutica, discrepância e tipo de erro associado à discrepância.

Tabela 1. Continuação.

Estudo / Ano	Título da publicação	Requisitos abordados pelo instrumento
SAFER HEALTHCARE NOW, 2011	<i>Medication reconciliation in acute care, getting started kit.</i>	-Admissão: Alergias/intolerâncias a medicamentos e alimentos; Peso e altura. Medicamentos domiciliares prescritos, prescritos no ambulatório, medicamentos não prescritos e uso de plantas medicinais tomados antes da admissão: Nome do medicamento, dose, posologia, via de administração; Data/data da última tomada. Presença de espaço reservado para uso do médico na decisão de continuada, parada ou mudança de terapia. -Transferência interna: Peso e altura; Nome do medicamento, dosagem, frequência, via de administração, indicação e última dose administrada. -Alta: Nome do paciente, setor e unidade. Presença ou não de alergias. Lista de medicamentos para serem tomados na alta: Nome, dose, via de administração e frequência de uso. Reconciliação: Comparação com a lista de admissão com MHPM, fundamentação de alterações de medicamentos (inalterado, alterado e novo), descontinuação de medicamentos com sua devida justificativa.
SCHUCH et al., 2013	Reconciliação de medicamentos na admissão em uma unidade de oncologia pediátrica.	Nome do paciente, numero do prontuário, data e hora de admissão. Fontes de informações utilizadas para coleta do MHPM. Alergias e reações adversas (qual o medicamento e o tipo e data da reação). Processo em 4 etapas: Medicamentos utilizados pelo paciente antes da admissão (nome, dose, via, frequência, data/hora da última dose tomada); Reconciliação (medicamento prescrito, não prescrito e/ou alterado, com suas devidas descrições como dose alterada e medicamento substituído); Discrepâncias (se presentes, classificar como intencional ou não); e detalhamento do desfecho. Além disso, ainda apresenta um espaço reservado para detalhamento de novos medicamentos prescritos e comentários pertinentes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de medicamentos é uma tecnologia em saúde necessária e indispensável no âmbito hospitalar. Não existem sistemas isentos de erros, entretanto, existem alternativas e possibilidades na construção de processos mais seguros e eficazes aos pacientes hospitalizados, através da redução de discrepâncias e consequente minimização da ocorrência de danos evitáveis.

Diante disso, foi possível identificar a predominância dos erros de omissão como os mais frequentes associados às discrepâncias. Cabe ressaltar ainda, a relevância de estudos relacionados à segurança do paciente e alternativas seguras para utilização de medicamentos, de maneira que os estudos selecionados beneficiam não apenas a comunidade acadêmica, mas também os profissionais envolvidos nesse panorama, através do fornecimento de materiais de base para compreensão, prática e implantação do serviço de CM.

REFERÊNCIAS

AFONSO, R. Reconciliação terapêutica. **Revista Clínica Hospitalar Prof Dr Fernando Fonseca**, v. 3, n. 1, p. 35-36, 2015.

ANACLETO, T. A. et al. Erros de medicação – Farmácia hospitalar. **Pharmacia Brasileira**. 2010.

ARAÚJO, A. S. S. C.; MELLO, J. M. H. P. . Internações hospitalares por lesões decorrentes de acidente de transporte terrestre no Brasil, 2013: permanência e gastos. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v.26, n.1, p. 31-8, 2017.

BOSMA, L. B. E. et al; The effect of a medication reconciliation program in two intensive care units in the Netherlands: a prospective intervention study with a before and after design. **Ann Intensive Care**. p.8:19, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde/ Fundação Oswaldo Cruz/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Documento de Referência para o Programa Nacional de Segurança do Paciente**. Brasília, 2014.

FARHA, R. A. et al. The prevalence and clinical seriousness of medication discrepancies identified upon hospital admission of pediatric patients. **MBC Health Services Research**, p.18:966, 2018. .

FERNANDES, O. Medication reconciliation in the hospital: what, why, where, when, who and how? **Healthcare Quarterly**. n:42:9, 2012.

FERRAZ, C. L. A. S. A importância da conciliação medicamentosa na internação hospitalar. **Revista Especialize On-line** - Goiânia - 9ª Edição n.10, v.01, 2015.

FRANZEN K. et al. Medication Reconciliation- theory and practice. **Ther Umsch Jorنال**, v.71, n.6, p. 335-42, 2014.

FRIZON, F. et al. Reconciliação de medicamentos em hospital universitário. **Revista Enfermagem UERJ**, v. 22, n.4, p.454-60, 2014..

GRAÇA, D. D. C. Avaliação do processo de conciliação medicamentosa em pacientes pediátricos em um hospital público especializado no estado Rio de Janeiro. 2015. 193 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

GUIMARÃES, P. V.; HADDAD, M. C. L.; MARTINS, E. A. P. Validação de instrumento para avaliação de pacientes graves em ventilação mecânica, segundo o ABCDE. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 17, n. 1, p. 43-50, 2015.

JOLIVOT, P. A. et al. A systematic review of adult admissions to ICUs related to adverse drug events. **Critical Care**. November, 2014.

KWAN, J. L. et al. Medication reconciliation during transitions of care as a patient safety strategy: a systematic review. **Annals of Internal Medicine**, v. 5, n.158, p.397:403, 2013.

LEITE, S. S. et al. Construction and validation of an Educational Content Validation Instrument in Health. **Revista Brasileira de Enfermagem**, 2018.

LINDENMEYER, L. P.; GOULART, V. P.; HEGELE, V. Reconciliação Medicamentosa como Estratégia para a Segurança do Paciente Oncológico - Resultados de um Estudo Piloto. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**. São Paulo v.4, n.4, p.51-55, 2013.

LOMBARDI, N. F. et al. Analysis of the discrepancies identified during medication reconciliation on patient admission in cardiology units: a descriptive study. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. v. 24, 2016.

MANZORRO, A. G., et al. Developing a programme for medication reconciliation at the time of admission into hospital. **International Journal of Clinical Pharmacy**. V.33, n. 4, p. 603-09, 2011

MÁRMOL-RODRIGUEZ, J. A.; RODRIGUEZ-CASAL, M. D. P. Clinical study of medication reconciliation at hospital admission with patients in the areas of internal medicine and surgery. **Ars Pharmaceutica** (Internet), v. 56, n. 3, p. 141-148, 2015.

MASTROIANNI, P. C.; VARALLO, F. R. Farmacovigilância: avaliação do risco/benefício para a promoção do uso seguro de medicamentos. Porto Alegre: Artmed, p. 13-26, 2013a.

MENDES, A. E. M. Conciliação de medicamentos na admissão hospitalar: Um ensaio clínico randomizado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2016.

MENDES, P. S. W. et al. Segurança do paciente: conhecendo os riscos nas organizações de saúde. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2014. Cap. 1.

NASCIMENTO, M.; FREITAS, K; OLIVEIRA, C. G. S. Erros na administração de medicamentos na prática assistencial da equipe de enfermagem: uma revisão sistemática. **Ciências Biológicas e de Saúde**, Aracaju, v. 3, n. 3, p. 241-256. 2016. Disponível em:< <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2613>>.

NETO, A. V. L. et al. Análise de notificações de eventos adversos em um hospital particular. **Enfermería Global**, n.55, p.324-333, jul. 2019.

NUNES, F .D. O. et al. Segurança do paciente: como a enfermagem vem contribuindo para a questão? **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, Rio de Janeiro, v. 6, n.2, p. 841-847, abr/ jun. 2014.

OLIVEIRA, M. G. et al. Consenso brasileiro de medicamentos potencialmente inapropriados para idosos. **Geriatrics, Gerontology and Aging**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 1-14, 2016.

REY, M. B. C.; PRADOS, Y. A.; GÓMES, E. S. Analysis of the medication reconciliation process conducted at hospital admission. **Farmacia Hospitalaria**. v. 40 n.04, 2016.

RIBEIRO, V. F. et al; Realização de intervenções farmacêuticas por meio de uma experiência em farmácia clínica. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**. São Paulo v.6 n.4 18-22 out./dez. 2015.

ROQUE, K. E.; MELO, E. C. P. Avaliação dos Eventos adversos a medicamentos no contexto hospitalar. **Escola Anna Nery**. v.16, n. 1, p. 121-127, 2012.

ROSA, M. B. et al. Erros na prescrição hospitalar de medicamentos potencialmente perigosos. **Revista Saúde Pública** v.43, n.3, p.490-498, 2009.

SAFER HEALTHCARE NOW. Medication Reconciliation in Acute Care Getting Started Kit – Version 3, 2011.

SALES, T. L. S. et al. Eventos adversos a medicamentos em pacientes oncológicos hospitalizados. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**. São Paulo v.7 n.4 8-14 out./dez. 2016.

- SANTAMARIA, J. D. et al. Discharge and Readmission Evaluation (DARE) Study Group. Readmissions to Intensive Care: A Prospective Multicenter Study in Australia and New Zealand. **Critical Care Medicine**, v.45, n.2, p. 290-297, 2017.
- SANTOS, C. O. et al. Reconciliação de medicamentos: processo de implantação em um complexo hospitalar com a utilização de sistema eletrônico. **Saúde debate**, v.43, n. 121, , 2019.
- SANZ, U. E. et al. Implementation of a therapeutic reconciliation procedure at admission by the emergency department. **Farmácia Hospitalar** v. 38 n. 05, .2014.
- SARDANEH, A.A. et al. Pharmacist-led admission medication reconciliation before and after the implementation of an electronic medication management system. **International Journal Medicine Informatics**, v.101, p.41-49 2017.
- SCHUCH, A. Z. et al. Reconciliação de medicamentos na admissão em uma unidade de oncologia pediátrica. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**. v.4, n.2, p.35-39, 2013.
- SIMAN, A.G. et al. Erro de medicação : concepções de conduta da equipe de enfermagem. **Journal of Research: Fundamental Care Online's**, v.13, p.109-116, 2021. Disponível em:
<http://seer.unirio.br/cuidadofundamental/article/view/7853/pdf_1>.
- SOUSA, L. A. O.; ARRAIS, P. S. D. Prevalência e características dos eventos adversos a medicamentos no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.34, n.4, 2018. Disponível em:< <https://repositorio.unb.br/handle/10482/33391>>.
- STEURBAUT, S. et al. Medication history reconciliation by clinical pharmacists in elderly inpatients admitted from home or a nursing home. **Ann Pharmacother**, v.44, n.10,p.1596:603, 2010.
- STEWART, A. L.; LYNCH, K. J. Medication discrepancies despite pharmacist led medication reconciliation: the challenges of maintaining an accurate medication list in primary care Pharmacy Practice, vl. 12, n. 1, p. 14-20, 2014..
- STOLLINGS, J. L. et al. Critical Care Pharmacists and Medication Management in an ICU Recovery Center. **Ann Pharmacother**.v. 52, n.8, p. 713–723, 2018.
- URENÃ, A. M. O. et al.; Comparative evaluation of the medication conciliation process performed by the Nursing and Pharmacy services at a private hospital in Costa Rica. **Pharmaceutical Care España**. v. 19, n.6, p. 476-498, 2017.
- VAN SLUISVELD, N. et al. Improving clinical handover between intensive care unit and general ward professionals at intensive care unit discharge. **Intensive Care Medicine**, v. 41, n. 4, p. 589-604, 2015.

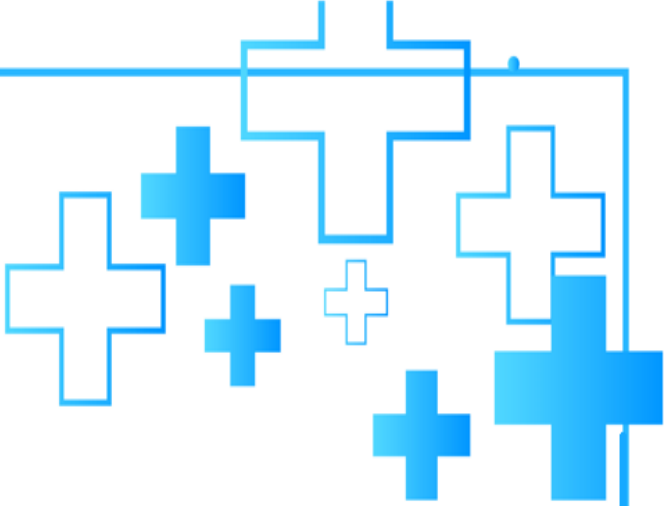
VAN SLUISVELD, N. et al. Variation in rates of ICU readmissions and post-ICU in-hospital mortality and their association with ICU discharge practices. **BMC Health Services Research**, v. 17, n. 1, p. 281, 2017.

VILLAMAYOR-BANCO, L. et al. Conciliación de medicación al ingreso mediante un programa de prescripción electrónica assistida. **Farmácia Hospitalar**, v. 40, n.5, 2016.

VOLPATTO, B. M. et al. Erros de medicação em pediatria e estratégias de prevenção: revisão integrativa. **Cogitare Enfermagem**. v.22, n.1, 2017.

VOLPE, C. R. G. et al; Erros de medicação divulgados na mídia: estratégias de gestão do risco. **Revista de Administração Hospitalar e Inovação em Saúde**, v. 13 n. 2 , 2016.

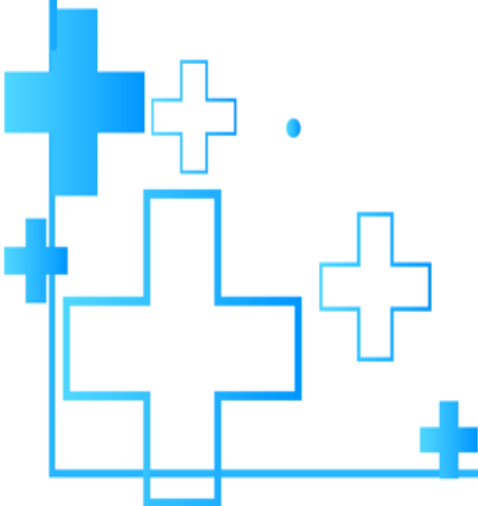
WORLD HEALTH ORGANIZATION. Summary of the evidence on patient safety: implications for research. Geneva: WHO, 2018.



Capítulo 2

PHENOTYPIC ANALYSIS OF YEAST STRAINS POTENTIALLY USED FOR BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS

**Joel Alexandre Meira
Rogério Luis Bortoluzzi
Thiago Martins Pais**



PHENOTYPIC ANALYSIS OF YEAST STRAINS POTENTIALLY USED FOR BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS

Joel Alexandre Meira

Químico, mestre (UFPR)

Rogério Luis Bortoluzzi

Gerente cervejeiro

Thiago Martins Pais

Farmacêutico, doutor (Instituto de Biotecnologia de Flanders, Bélgica)

RESUMO

A indústria farmacêutica de base biotecnológica tem apresentado um constante crescimento com o desenvolvimento de biofármacos inovadores. A utilização de microrganismos como biofábricas é explorada em inúmeros processos. As leveduras, eucariotos como as células humanas, são usadas na produção de metabólitos, como o etanol e ácidos orgânicos, bem como biomoléculas mais complexas, como o hormônio insulina. A engenharia genética permitiu inclusive a modificação de certas linhagens de leveduras, para que processos mais específicos realizados por células de mamíferos superiores pudessem ser realizadas em eucariotos primitivos, como a levedura. Destaca-se nesse caso a criação da chamada levedura de glicosilação humanizada, que permite a produção de proteínas recombinantes humanas utilizando células de leveduras. Além disso, processos produtivos no esquema de biorefinarias permitem ainda a valorização econômica de subprodutos anteriormente subdimensionados. Esse trabalho tem como objetivo estudar parâmetros fermentativos de diferentes cepas de leveduras. Esses parâmetros foram avaliados por meio de fermentações em pequena escala e testes de resistência em meio sólido, que mimetizavam fatores estressantes industriais às células de levedura. Dentre as 12 cepas de levedura analisadas identificamos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* como a cepa Ethanol Red, que apresentou boa velocidade fermentativa, resistência ao pH ácido (pH 3.0) e bom acúmulo de biomassa, com densidade ótica (600 nm) de $58,3 \pm 3,6$, em agitação orbital e sem oxigenação suplementar. A cepa CBS1585 teve extraordinária viabilidade celular, acima de 70% de células viáveis, mesmo em altas concentrações de etanol (18% v/v). Além disso, uma cepa de *Brettanomyces bruxellensis* destacou-se pela quase completa atenuação de um meio de cultura complexo, mostrando versatilidade metabólica para utilização de diferentes fontes nutricionais. Em suma, as diferentes cepas de levedura apresentaram fenótipos distintos que podem ser usados, aprimorados e/ou combinados em uma cepa superior, para o benefício direto ou indireto da indústria biotecnológica farmacêutica.

Palavras-chave: Levedura. Bioproduto. Análise fenotípica. Estresse celular.

ABSTRACT

The biotechnological sector within the pharmaceutical industry presents a steady increase with the development of innovative biopharmaceuticals. Microorganisms working as biofactories are employed in several processes. Yeasts, eukaryotes like human cells, are employed in the production of metabolites, such as ethanol and organic acids, as well as more complex biomolecules, such as the insulin hormone. The genetic engineering allowed even the modification of certain yeast strains, enabling their use in more specific processes only seen before in mammalian cells. For example, we can highlight the development of a humanized yeast, capable of glycosylating proteins likewise human cells perform, allowing the production of recombinant human proteins using yeast cells. Moreover, production schemes in biorefineries allows the recovery of by-products once undervalued. This work had the aim of studying fermentation parameters of different yeast strains. The yeasts were evaluated in small-scale fermentations and stress resistance tests on plates. Among the 12 yeast strains analyzed we identified *Saccharomyces cerevisiae* strains as Ethanol Red, with high fermentation rate, high resistance to acidic pH (pH 3.0) and high biomass production, achieving optical density (600 nm) of $58,3 \pm 3,6$ on orbital agitation without additional oxygenation. Another *S. cerevisiae* strain (CBS1585), had exceptional cell viability (>70%), even in the presence of high ethanol titers (18% v/v). Moreover, one *Brettanomyces bruxellensis* strain showed almost complete attenuation of a complex culture media, denoting metabolic versatility to utilize different nutrient sources. In conclusion, different yeast strains can bear distinct phenotypes that can be used, tailored and/or combined in a superior strain, that will ultimately benefit, directly or indirectly, the biopharmaceutical industry.

Keywords: Yeast. Bioproduct. Phenotypic analysis. Cellular stress.

1 - Introdução

As leveduras, eucariotos primitivos unicelulares, são largamente utilizados na indústria de base biotecnológica para produção de químicos, proteínas e metabólitos. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* em especial é uma das espécies mais estudadas e empregadas na indústria. A relativa facilidade em sua manipulação genética permite seu uso em várias aplicações industriais. Existem muitas linhagens de *S. cerevisiae* disponíveis em bancos de culturas e presentes em diferentes biomas. Conhecer suas características e sua performance em diferentes processos industriais permite a seleção mais direcionada de uma cepa que atenda a requisitos industriais específicos. Parâmetros relacionados a velocidade de fermentação, rendimento, acúmulo de biomassa, sensibilidade ao pH, temperatura, concentração de sais e micronutrientes podem diferir profundamente entre diferentes linhagens e condições de fermentação. Otimizar os parâmetros fermentativos e ajustar os fenótipos das

leveduras são pontos cruciais para o sucesso em sua aplicação industrial (MATTANOVICH, 2014). A biologia sintética vem auxiliando nesse processo no intuito de aumentar a eficiência.

O design, a conceituação e a construção de sistemas biológicos complexos vem sendo aprimorados para uso em larga escala. Conhecer as características das diferentes espécies e cepas de leveduras, suas condições ideais de utilização, os fatores de estresse e mecanismos de adaptação aos mesmos, são cruciais para o emprego sistemático desses microrganismos para produção de bioprodutos.

2 - Fundamentação Teórica

2.1 - Condições de cultivo e vias de sinalização celular

As leveduras são eucariotos unicelulares muito utilizados nas pesquisas básica e aplicada. Na pesquisa básica destacam-se os estudos nas áreas de envelhecimento celular (KAEBERLEIN, 2007), controle do ciclo celular (RAGHURAMAN, 2001), interatoma (CONSTANZO, 2010), arquitetura genômica (ZIMMER, 2011) e função gênica (HILLENMEYER, 2008). Por outro lado, as leveduras tem um importante papel nas pesquisas biotecnológicas aplicadas, tais como nas áreas: médica (GERNGROSS, 2004; OUTEIRO, 2003), de alimentos (LEGRAS, 2007), biocombustíveis (ANTONI, 2007) e biofármacos (NANDY AND SRIVASTAVA, 2018). O profundo conhecimento acerca do funcionamento bioquímico e genético das leveduras, sobretudo da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, permitiu o emprego de cepas dessa espécie em inúmeros processos industriais (NANDY AND SRIVASTAVA, 2018). As células de levedura tem mecanismos elegantes e sofisticados para detectar e adaptarem-se a mudanças ambientais, como a disponibilidade de nutrientes e a presença de fatores de estresse celular (RUBIO-TEIXEIRA, 2010). Devido a sua importância econômica na produção de diversos bioprodutos, o melhoramento de cepas de leveduras é uma demanda industrial contínua.

As células de levedura tem requerimentos nutricionais específicos para que essas possam obter as condições ideais de crescimento e fermentação. Embora possa existir alguma variabilidade entre as espécies e cepas das diferentes leveduras, existem alguns compostos básicos comuns a todas elas a saber: fonte de carbono, nitrogênio, fosfato, enxofre, micronutrientes (ex: Mg e Zn) e vitaminas, como o

pantotenato. A presença desses compostos é detectada e sinalizada intracelularmente por três classes diferentes de proteínas de membrana citoplasmática: receptores acoplados a proteína G, transceptores não transportadores e transceptores transportadores (RUBIO-TEIXEIRA, 2010; KRIEL, 2011).

2.2 - Tipos de estresse celular

As células de leveduras podem sofrer diversos tipos de estresse durante os processos fermentativos industriais. Variações na concentração de nutrientes, oscilações na oxigenação do meio de cultura, redução de pH, mudanças de temperatura, presença de compostos inibidores, alterações na osmolaridade do meio e toxicidade ao etanol. A habilidade das células em responder a esses fatores de estresse é crucial para a performance fermentativa (GIBSON, 2007).

A exposição das células à 30% (v/v) de etanol por 10 minutos reduz a viabilidade celular a apenas 9% da inicial. O primeiro alvo do etanol é a membrana plasmática. Análises de microscopia atômica, mostraram que o estresse ao etanol causa aumento da rugosidade e enrugamento celular, indicando perda de integridade da membrana celular (CANETTA, 2006). As células de levedura respondem ao estresse a presença de etanol modificando a constituição lipídica da membrana celular (ALEXANDRE, 1994). Ácidos graxos insaturados e ergosterol são considerados os principais estabilizadores da membrana citoplasmática em resposta ao estresse causado por etanol (YOU, 2003). Além disso, o etanol causa disruptura do gradiente eletroquímico ocasionando captação defeituosa de nutrientes como glicose, amônia, aminoácidos e potássio (PIPER, 1995). Altas concentrações de etanol também causam a desnaturação de proteínas como a piruvato quinase e hexoquinases (PASCUAL, 1988). Em resposta, as células induzem a expressão das proteínas HSP (*heat shock proteins*) por meio do fator transcricional Hsf1 (HASHIKAWA, 2007). As mitocôndrias também podem ser afetadas por altos níveis de etanol levando a formação de espécies reativas de oxigênio e consequentemente ao estresse oxidativo (WU AND CEDERBAUM, 2003). O fenômeno de resistência e adaptação ao etanol é um fenótipo poligênico e alguns genes tem sido descritos na participação dessa resposta celular (CYERT, 2003; ARAKI, 2009).

A maioria dos processos fermentativos acontecem em uma faixa de pH entre 4,0 e 5,5. Entretanto, dependendo da composição do meio de cultura, da produção de ácido carbônico, da liberação de ácidos orgânicos e da atividade da H⁺-ATPase de

membrana citoplasmática, reduções maiores no pH podem ser observadas (ROWE, 1994; BASSO, 2008). A adaptação das células de levedura à diminuição de pH é uma propriedade poligênica. Um estudo com uma cepa haplóide de laboratório mostrou a indução de 36 genes quando as células foram submetidas a um decréscimo de pH de 5,5 para 3,5. Entre os genes induzidos encontravam-se alguns reconhecidamente participantes da resposta a diferentes tipos de estresse como *CTT1*, *ALD2*, *MCR1*, *HSP12* e *HSP42* (KAPTEYN, 2001).

Entender os mecanismos que as células de leveduras utilizam para mitigar os efeitos deletérios de fatores de estresse, ajuda-nos a identificar os alvos celulares afetados nessas condições. Desse modo, melhoramentos genéticos pontuais podem ser buscados na tentativa de obter cepas de leveduras industriais mais robustas. Ao mesmo tempo, essas informações auxiliam a indústria na prevenção de situações desfavoráveis às células de leveduras, desde sua manipulação pré-fermentação, bem como no ajuste de parâmetros fermentativos mais apropriados a cada espécie ou cepa de levedura (PULINGUDLA, 2011).

Diversas metodologias podem ser empregadas no incremento da robustez das cepas de leveduras, incluindo embaralhamento genômico (ZHENG, 2011), engenharia da maquinaria de transcrição (GAO, 2010), mutagênese química (MOBINI-DEHKORDI, 2008), mutagênese física (BLIECK, 2007) e engenharia evolutiva (WEI, 2007). Embora essas metodologias tenham exemplos de sucesso prático, a elucidação das causas genéticas nem sempre obtém sucesso. Nesse sentido, metodologias para identificação de QTLs (*quantitative trait loci*) e seu(s) gene(s) causadores tem sido desenvolvidas (STEINMETZ, 2002; MACKAY, 2009).

2.3 - Exemplos de bioprodutos

As leveduras são empregadas em muitos processos industriais (NANDY AND SRIVASTAVA, 2018). Entre os bioprodutos produzidos industrialmente encontramos: os ácidos láctico e succínico (BORODINA AND NIELSEN, 2014), etanol (STANLEY, 2010), propanol (NISHIMURA, 2016), isobutanol (SWIDAH, 2015), etileno, resveratrol, farneseno e valina. Entre os biofármacos destacam-se a albumina sérica humana (ZHAO, 2008), o fator de crescimento fibroblástico 20 (YANG, 2013), proteína supressora de tumor humano p53 (MOKDAD-GARGOURI, 2012), beta-aminopeptidase BapA (HEYLAND, 2011), insulina (LIU, 2012), hemoglobina humana

(LIU, 2014), aquaporina recombinante Fps1 (CARTWRIGHT, 2017), antígeno de superfície da hepatite B (SRIVASTAVA, 2015) e Gurmarina (SIGOILLOT, 2012).

As proteínas e enzimas de natureza humana, que necessitam de modificações pós-traducionais complexas como a glicosilação, também podem ser produzidas por células de leveduras especiais, que passaram por um processo de modificação genética da via de secreção protéica. O silenciamento de alguns genes, codificantes de proteínas responsáveis pela glicosilação fúngica, aliado a inserção de alguns genes humanos de glicosilação, permitiu a obtenção da chamada levedura de glicosilação humanizada. Dessa forma, tornou-se possível a realização de glicosilações humanas complexas utilizando células de leveduras como biofábricas (NIELSEN, 2013).

3 – Metodologia

3.1 - Cepas e condições de crescimento: As cepas de leveduras foram crescidas em meio YPD (2% bactopectona, 1% extrato de levedura e 2% de glicose) à 30°C sob agitação (200 rpm).

3.2 - Fermentação em escala laboratorial: foram realizadas em meio YPD 20% (m/v) + extrato de malte 10% (m/v) a 25°C. Os frascos foram pesados diariamente para determinação do peso perdido, que é correspondente ao gás carbônico evaporado do sistema.

3.3 - Testes de resistência ao pH ácido: as células pré-crescidas foram inoculadas em meio ágar YPD (pH 3.0). O crescimento foi acompanhado por até 10 dias a 30°C.

3.4 - Viabilidade celular: as células foram coradas com azul de metileno 0.1% (m/v) por 15 minutos após a fermentação e contadas em microscópio para determinação da porcentagem de células viáveis.

4 – Análise de dados

Os resultados dos ensaios de fermentação em pequena escala, viabilidade celular ao final da fermentação, testes de resistência à acidez e capacidade de produção de biomassa celular estão reunidos na tabela 1.

Levedura	Atenuação (% de açúcar residual em relação ao inicial) (a)	Viabilidade celular (% de células vivas) (b)	Resistência à acidez (pH 3.0) (c)	Acúmulo de Biomassa (D.O 600 nm) (d)
<i>S. cerevisiae</i> 6412	2.8 ± 0.3	47.5 ± 3.6	++	55.6 ± 3.1
<i>S. cerevisiae</i> 796	2.7 ± 0.2	41.2 ± 3.9	++	53.2 ± 3.3
<i>S. cerevisiae</i> EtOH Red	1.9 ± 0.2	44.4 ± 3.1	+++	58.3 ± 3.6
<i>S. cerevisiae</i> Eau de Vie	2.3 ± 0.2	38.5 ± 4.2	+++	57.0 ± 3.2
<i>S. cerevisiae</i> 1585	2.0 ± 0.2	78.4 ± 4.4	+++	56.5 ± 2.8
<i>S. cerevisiae</i> 24	2.3 ± 0.2	47.5 ± 3.6	+++	52.1 ± 3.7
<i>S. cerevisiae</i> 04	3.3 ± 0.3	56.4 ± 3.8	++	50.6 ± 3.6
<i>S. cerevisiae</i> 05	3.4 ± 0.3	55.4 ± 3.1	++	51.2 ± 3.5
<i>S. cerevisiae</i> 1323	3.2 ± 0.2	50.9 ± 4.1	++	49.7 ± 4.1
<i>S. cerevisiae</i> 58	3.5 ± 0.3	41.8 ± 4.0	++	52.1 ± 3.9
<i>B. bruxellensis</i> 650	1.0 ± 0.2	51.5 ± 3.3	+++	55.8 ± 3.1
<i>S. pastorianus</i> 3470	2.3 ± 0.2	59.3 ± 3.5	++	41.2 ± 4.3

Tabela: Análise fenotípica de diferentes leveduras. Os experimentos foram realizados em triplicata ($\pm$ desvio padrão). (a) Atenuação final de fermentação em 100 ml de meio YPD 20% (m/v) + extrato de malte 10% (m/v). (b) Viabilidade celular ao final da fermentação, em porcentagem de células viáveis, coradas com azul de metileno. (c) Resistência ao pH ácido em meio YPD ágar (pH 3.0). (d) Acúmulo de biomassa final (D.O 600 nm) em meio YPD (30°C, 200 rpm, 2 dias).

Dentre as 12 cepas de levedura analisadas identificamos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* como a cepa Ethanol Red, que apresentou boa velocidade fermentativa, resistência ao pH ácido (pH 3.0) e bom acúmulo de biomassa, com densidade ótica (600 nm) de 58,3 $\pm$ 3,6, em agitação orbital e sem oxigenação suplementar. A cepa *S. pastorianus* 3470 apresentou a menor produção de biomassa entre as leveduras avaliadas. Essa observação está de acordo com o observado na indústria cervejeira, onde essa linhagem de levedura é empregada em fermentações do tipo lager (BLIECK, 2007). A cepa CBS1585 teve extraordinária viabilidade celular, acima de 70% de células viáveis, mesmo em altas concentrações de etanol (18% v/v). Esse fenótipo é vantajoso em processos fermentativos com reutilização de leveduras como ocorre no bioetanol de cana de açúcar brasileiro (BASSO, 2008). Além disso, uma cepa de *Brettanomyces bruxellensis* destacou-se pela quase completa atenuação de um meio de cultura complexo, mostrando versatilidade metabólica para utilização de diferentes fontes nutricionais. Esse resultado está de acordo com outras observações já realizadas com diversas linhagens de *B. bruxellensis*, nas quais

fenótipos particulares, inclusive relacionados a produção de compostos secundários da fermentação, foram detectados e são valorizados industrialmente (STEENSELS, 2015).

5 - Considerações finais

A bioprospecção de espécies e linhagens de leveduras aliada às modernas ferramentas de manipulação genética dessas células, permite-nos vislumbrar processos biotecnológicos inovadores. O desafio da biotecnologia moderna é desenvolver processos de produção viáveis em escala industrial de maneira custo-efetiva. Conhecer os fenótipos de diferentes espécies/cepas de leveduras auxiliará na melhor escolha de candidatos a serem testados em bioprocessos específicos. Além disso, esse portfólio de fenótipos servirá de base para que a área de engenharia metabólica atue de modo mais racional e pontual na construção de cepas de fenótipos superior e customizada.

6 - Referências bibliográficas

ALEXANDRE, H., ROUSSEAUX, I. AND CHARPENTIER, C. Relationship between ethanol tolerance, lipid composition and plasma membrane fluidity in *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata*. **FEMS Microbiol Lett**, n.124, p.17–22, 1994.

ANTONI, D., ZVERLOV, V. V. AND SCHWARZ, W. H. Biofuels from microbes. **Applied microbiology and biotechnology**, v.77, n.1, p.23-35, 2007.

ARAKI, Y., WU, H., KITAGAKI, H., AKAO, T., TAKAGI, H., AND SHIMOI, H. Ethanol stress stimulates the Ca²⁺-mediated calcineurin/Crz1 pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of bioscience and bioengineering**, v.107, n.1, p.1-6, 2009.

ASHE, M.P. Butanol production in *S. cerevisiae* via a synthetic ABE pathway is enhanced by specific metabolic engineering and butanol resistance. **Biotechnol. Biofuels** v.8, p.97, 2015.

BASSO, L. C., DE AMORIM, H. V., DE OLIVEIRA, A. J., AND LOPES, M. L. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. **FEMS yeast research**, v.8, n.7, p.1155-63, 2008.

BLIECK, L., TOYE, G., DUMORTIER, F., VERSTREPEN, K. J., DELVAUX, F. R., THEVELEIN, J. M. AND VAN DIJCK, P. Isolation and characterization of brewer's yeast variants with improved fermentation performance under high gravity conditions. **Appl Environ Microbiol**, n.73, p.815–824, 2007.

BORODINA, I., NIELSEN, J. Advances in metabolic engineering of yeast *Saccharomyces cerevisiae* for production of chemicals. **Biotechnol**, v. 9, p.609–620, 2014.

CANETTA, E., ADYA, A. K. AND WALKER, G. M. Atomic force microscopic study of the effects of ethanol on yeast cell surface morphology. **FEMS microbiology letters**, v.255, n.2, p.308-15, 2006.

CARTWRIGHT, S.P., DARBY, R.A.J., SARKAR, D., BONANDER, N., GROSS, S.R., ASHE, M.P., BILL, R.M. Constitutively-stressed yeast strains are high-yielding for recombinant Fps1: implications for the translational regulation of an aquaporin. **Microb. Cell Fact**, n.16, p.41, 2017.

COSTANZO, M., BARYSHNIKOVA, A., BELLAY, J., KIM, Y., SPEAR, E. D., SEVIER, C. S. AND DING, H. The genetic landscape of a cell. **Science**, v.327, n.5964, p.425-31, 2010.

CYERT, M. S. Calcineurin signaling in *Saccharomyces cerevisiae*: how yeast go crazy in response to stress. **Biochem Biophys Res. Commun** v.311,p.1143-1150, 2003.

GAO, C., WANG, Z., LIANG, Q. AND QI, Q. Global transcription engineering of brewer's yeast enhances the fermentation performance under high-gravity conditions. **Appl Microbiol Biotechnol**. V.87, p.1821-1827, 2010.

GERNGROSS, T. U. Advances in the production of human therapeutic proteins in yeasts and filamentous fungi. **Nature biotechnology**, v.22, n.11, p.1409-14, 2004.

GIBSON, B. R., LAWRENCE, S. J., LECLAIRE, J. P. R., POWELL C. D., SMART K. A. Yeast responses to stress associated with industrial brewery handling. **FEMS Microbiol Rev**, v.31, p.535-569, 2007.

HASHIKAWA, N., YAMAMOTO, N., AND SAKURAI, H. Different mechanisms are involved in the transcriptional activation by yeast heat shock transcription factor through two different types of heat shock elements. **J. Biol. Chem.**, v.282, p.10333-10340, 2007.

HEYLAND, J., FU, J., BLANK, L.M., SCHMIDM, A. Carbon metabolism limits recombinant protein production in *Pichia pastoris*. **Biotechnol. Bioeng**. v.108, n.8, p.1942-1953, 2011.

HILLENMEYER, M. E., FUNG, E., WILDENHAIN, J., PIERCE, S. E., HOON, S., LEE, W. AND PROCTOR, M. The chemical genomic portrait of yeast: uncovering a phenotype for all genes. **Science**, v.320, n.5874, p.362-5, 2008.

KAEBERLEIN, M., BURTNER, C. R. AND KENNEDY, B. K. Recent developments in yeast aging. **PLoS genetics**, v.3, n.5, p.84, 2007.

KAPTEYN, J. C., TER RIET, B., VINK, E., BLAD, S., DE NOBEL, H., VAN DEN ENDE, H. AND KLIS, F. M. Low external pH induces HOG1-dependent changes in

the organisation of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Mol Microbiol** v.39, p. 469-479, 2001.

KRIEL, J., HAESSENDONCKX, S., RUBIO-TEXEIRA, M., VAN ZEEBROECK, G., AND THEVELEIN, J. M. From transporter to transceptor: Signaling from transporters provokes re-evaluation of complex trafficking and regulatory controls. **BioEssays**, v.85, p.870-879, 2011.

LEGRAS, J. L., MERDINOGLU, D., CORNUET, J. M. AND KARST, F. Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history. **Molecular ecology**, v.16, n.10, p.2091-102, 2007.

LIU, L., MARTÍNEZ, J.L., LIU, Z., PETRANOVIC, D., NIELSEN, J. Balanced globin protein expression and heme biosynthesis improve production of human hemoglobin in *Saccharomyces cerevisiae*. **Metab. Eng.**, v.21, p.9-16, 2014.

LIU, Z., TYO, K.E.J., MARTÍNEZ, J.L., PETRANOVIC, D., NIELSEN, J. Different expression systems for production of recombinant proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnol. Bioeng.**, v.109, n.5, p.1259-1268, 2012.

MACKAY, T. F., STONE, E. A. AND AYROLES, J. F. The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. **Nature Reviews Genetics.**, v.10, p.565-577, 2009.

MATTANOVICH, D., SAUER, M., GASSER, B. Yeast biotechnology: teaching the old dog new tricks. **Microb. Cell Fact.**, v.13, p.34, 2014.

MOBINI-DEHKORDI, M., NAHVI, I., ZARKESH-ESFAHANI, H., GHAEDI, K., TAVASSOLI, M., AND AKADA, R. Isolation of a novel mutant strain of *Saccharomyces cerevisiae* by an ethyl methane sulfonate-induced mutagenesis approach as a high producer of bioethanol. **Journal of bioscience and bioengineering**, v.105, n.4, p.403-8, 2008.

MOKDAD-GARGOURI, R., ABDELMOULA-SOUSSI, S., HADIJI-ABBÈS, N., HADJ AMOR, I.Y., BORCHANI-CHABCHOUB, I., GARGOURI, A. Yeasts as a tool for heterologous gene expression. **Methods Mol. Biol.**, v.824, p.359-370, 2012.

NANDY, S. K. E SRIVASTAVA, R. K. A review on sustainable yeast biotechnological processes and applications. **Microbiol Res.**, v.207, p.83-90, 2018.

NIELSEN, J. Production of biopharmaceutical proteins by yeast. **Bioengineered**, v.4, n.4, p.207-211, 2013.

NISHIMURA, Y. 1-Propanol production of *S. cerevisiae* engineering 2-Ketobutyrate biosynthetic pathway. **Proceeding Metabol. Engg.** n.11, p.345, 2016.

OUTEIRO, T. F. AND LINDQUIST, S. Yeast cells provide insight into alpha-synuclein biology and pathobiology. **Science**, v.302, n.5651, p.1772-5, 2003.

PASCUAL, C., ALONSO, A., GARCÍA, I. AND ROMAY, C. Effect of ethanol on glucose transport, key glycolytic enzymes and proton extrusion in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnol Bioeng.**, v.32, p.374-378, 1988.

- PIPER, P. W. The heat shock and ethanol stress responses of yeast exhibit extensive similarity and functional overlap. **FEMS Microbiol Lett.**, v.134, p.121-127, 1995.
- PULIGUNDLA, P., SMOGROVICOVA, D., OBULAM, V. S. R., AND K.O, S. Very high gravity (VHG) ethanolic brewing and fermentation: a research update. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**. V.38, n.9, p.1133-44, 2011.
- RAGHURAMAN, M. K., WINZELER, E. A, COLLINGWOOD, D., HUNT, S., WODICKA, L., CONWAY AND A, LOCKHART, D. J. Replication dynamics of the yeast genome. **Science**, v.294, n.5540, p.115-21, 2001.
- ROWE, S. M., SIMPSON W. J. AND HAMMOND J. R. M. Intracellular pH of yeast during brewery fermentation. **Lett Appl Microbiol.**, v.18, p.135-137, 1994.
- RUBIO-TEXEIRA, M., VAN ZEEBROECK, G., VOORDECKERS, K., AND THEVELEIN, J. M. *Saccharomyces cerevisiae* plasma membrane nutrient sensors and their role in PKA signaling. **FEMS yeast research**, v.10, n.2, p.134-49, 2010.
- SIGOILLOT, M., BROCKHOFF, A., LESCOP, E., POIRIER, N., MEYERHOF, W., BRIAND, L. Optimization of the production of gurmairin, a sweet-taste-suppressing protein, secreted by the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.96, n.5, p.1253-1263, 2012.
- SRIVASTAVA, S., VERMA, H.K., SINGH, J. A low-cost alternative expression system for recombinant protein production in *Schizosaccharomyces pombe*. In: World Congress on Biotechnology, n.(6), 2015, Nova Deli. **J. Biotechnol. Biomater.** Nova Deli, 2015, v.5, n.6, p.103-7.
- STANLEY, D., BANDARA, A., FRASER, S., CHAMBER, P.J., STANLEY, G.A. The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Appl. Microbiol.** v.109, p.13-24, 2010.
- Steensels, J., Daenen, L., Malcorps, P., Derdelinckx G., Verachtert H., Verstrepen K. Brettanomyces yeasts – From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. **International Journal of Food Microbiology**, v.206, p.24–38, 2015.
- STEINMETZ, L. M., SINHA, H., RICHARDS, D. R., SPIEGELMAN, J. I., OEFNER, P. J., MCCUSKER, J. H., AND DAVIS, R. W. Dissecting the architecture of a quantitative trait locus in yeast. **Nature**, v.416, p.326-330, 2002.
- SWIDAH, R., WANG, H.P., REID, J., AHMED, H.Z., PISANELLI, A.M., PERSAUD, K.C., GRANT, C.M., WEI, P., LI, Z., LIN, Y., HE, P., AND JIANG, N. Improvement of the multiple-stress tolerance of an ethanologenic *Saccharomyces cerevisiae* strain by freeze-thaw treatment. **Biotechnology letters**, v.29, n.10, p.1501-8, 2007.
- WU, D. AND CEDERBAUM, A. I. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. **Alcohol Res Health**, n.27, p.277-284, 2003.

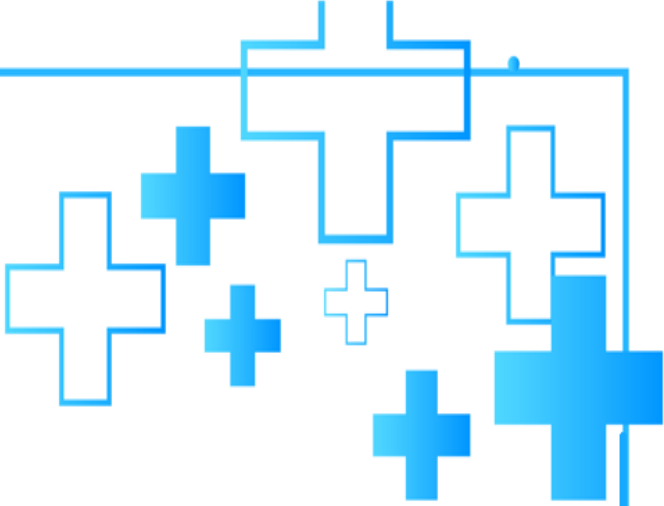
YANG, S., KUANG, Y., LI, H., LIU, Y., HUI, X., LI, P., JIANG, Z., ZHOU, Y., WANG, Y., XU, A., LI, S., LIU, P., WU, D. Enhanced production of recombinant secretory proteins in *Pichia pastoris* by optimizing kex2 P1' site. **PLoS One**, v.8 n.9, p.75347, 2013.

YOU, K. M., ROSENFELD, C. L. AND KNIPPLE, D. C. Ethanol tolerance in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is dependent on cellular oleic acid content. **Appl Environ Microbiol**, v.69, p.1499-1503, 2003.

ZHAO, H.L., XUE, C., WANG, Y., YAO, X.Q., LIU, Z.M. Increasing the cell viability and heterologous protein expression of *Pichia pastoris* mutant deficient in *PMR1* gene by culture condition optimization. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.81, p.235-241, 2008.

ZHENG, D.-Q., WU, X.-C., TAO, X.-L., WANG, P.-M., LI, P., CHI, X.-Q., LI, Y.-D., YAN, Q.F AND ZHAO, Y.-H. Screening and construction of *Saccharomyces cerevisiae* strains with improved multi-tolerance and bioethanol fermentation performance. **Bioresource technology**, v.102, n.3, p.3020-7, 2011.

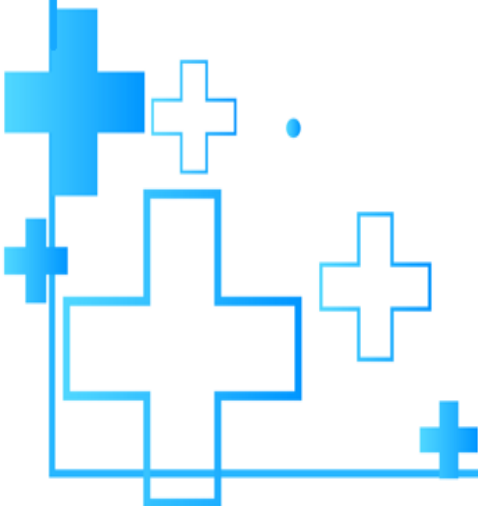
ZIMMER, C. AND FABRE, E. Principles of chromosomal organization: lessons from yeast. **The Journal of cell biology**, v.192, n.5, p.723-33, 2011.



Capítulo 3

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA PURIFICADA DE UMA FARMÁCIA MAGISTRAL DE JUIZ DE FORA-MG

**Árina Oliveira Reis da Paixão
Kátia Aparecida Nunes da Silva
Jhuly Aurora Assunção Gouvêa
Janiny Maria Araújo Garcia
Vanessa Temponi de Melo
Felipe Gomes da Costa Oliveira
Juliana de Carvalho da Costa**



AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA PURIFICADA DE UMA FARMÁCIA MAGISTRAL DE JUIZ DE FORA-MG

Árina Oliveira Reis da Paixão

*Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora,
arinapaixao_jf@hotmail.com*

Kátia Aparecida Nunes da Silva

*Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora,
katianunes12345@gmail.com*

Jhuly Aurora Assunção Gouvêa

*Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora,
assuncaojhu@gmail.com*

Janiny Maria Araújo Garcia

*Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora,
janinygarcia@gmail.com*

Vanessa Temponi de Melo

*Técnica Administrativa em Educação na Faculdade de Farmácia da Universidade
Federal de Juiz de Fora, vanessatemponi@hotmail.com*

Felipe Gomes da Costa Oliveira

*Técnico Administrativo em Educação na Faculdade de Farmácia da Universidade
Federal de Juiz de Fora, lipygomes12@yahoo.com.br*

Juliana de Carvalho da Costa

*Professora na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora,
jufarmaciauuff@yahoo.com.br*

Resumo: A água purificada é a matéria-prima mais utilizada no preparo de formulações farmacêuticas e magistrais, exigindo para tal aplicação uma série de especificações físico-químicas e microbiológicas que assegurem a qualidade dos produtos fabricados tanto por indústrias como por farmácias magistrais. Segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), a água purificada é produzida a partir da água potável, podendo ser obtida por diferentes tipos de sistemas de purificação, como por múltipla destilação, troca iônica, osmose reversa, eletrodeionização, ultrafiltração ou qualquer outro processo capaz de atender aos limites de qualidade estabelecidos. A falta de qualidade da água purificada devido a falhas nos sistemas de produção e distribuição pode acarretar uma série de problemas, incluindo efeitos farmacológicos indesejáveis, perdas de produtos, autuações fiscais e prejuízos econômicos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade da água purificada utilizada em uma farmácia magistral de Juiz de Fora – MG. Para isso, foram analisadas 49 amostras de água purificada obtidas por meio de sistema de osmose reversa entre os anos 2016 e 2021. As amostras foram avaliadas quanto à condutividade de acordo com a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 6ª edição. Também realizou-se a contagem de bactérias heterotróficas e verificou-se a presença/ausência de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* de acordo com a metodologia estabelecida pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 23ª edição. Do total das amostras analisadas, 36,7% apresentaram alguma não conformidade quanto aos critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira 6ª edição. Ao longo dos seis anos de estudo, observou-se um crescente percentual de amostras em desacordo quanto à condutividade (0%, 27,3%, 25%, 53,3%, 50% e 100%). Os altos valores de condutividade na água normalmente indicam problemas no sistema de purificação, principalmente em etapas relacionadas à remoção de íons. Também foi observado a contaminação por *P. aeruginosa* em uma única amostra no ano 2017, sendo indicativa de uma possível formação de biofilme e falha de higienização no sistema de produção ou distribuição da água na quele período. A partir desses resultados, verifica-se a necessidade da realização de manutenções periódicas nos sistemas de osmose reversa, em especial na troca dos componentes de filtragem que envolvem a remoção de íons, bem como nos procedimentos de limpeza e sanitização.

Palavras-chave: Água purificada. Controle de qualidade. Osmose reversa. Farmácia magistral.

Abstract: Purified water is the most used material in pharmaceutical and magisterial formulations, requiring for such application a series of physicochemical and microbiological specifications to ensure the quality of products manufactured both in industries and in magisterial pharmacies. According to the Brazilian Pharmacopeia 6th edition (2019), purified water is produced from drinking water and can be obtained by different purification systems, such as multiple distillation, ion exchange, reverse osmosis, electrodeionization, ultrafiltration or other process capable of meeting with desirable efficiency to the specified limits for various contaminants. The lack of quality of purified water due to failure in production and distribution systems can lead to a series of problems, including undesirable pharmacological effects, product losses, tax assessments and economic losses. The objective of this work was to evaluate the quality of purified water used in a magisterial pharmacy in Juiz de Fora - MG. For that,

forty-nine purified water samples obtained through a reverse osmosis system were analyzed between 2016 and 2021. The conductivity of the samples was evaluated according to the methodology described in the Brazilian Pharmacopeia 6th edition. The count of heterotrophic bacteria, the presence/absence of total coliforms, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were evaluated according to the methodology of the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23nd ed. From the total samples analyzed, 36.7% showed some non-compliance with the criteria established by the Brazilian Pharmacopeia 6th edition. There was an increase in the percentage of samples that presented non-compliance with conductivity (0%, 27.3%, 25%, 53.3%, 50% and 100%). The high conductivity indicates problems in the water purification system, especially in the steps related to the ion removal. On the other hand, contamination by *P. aeruginosa* was punctual and occurred only in 2017, indicating a possible biofilm formation and failure in the sanitize water production or distribution system. From these results, it is verified the need of a periodic maintenance in reverse osmosis systems, especially in the replacement of filtering components that involve the removal of ions, as well as in cleaning and sanitizing procedures.

Keywords: Purified water. Quality control. Reverse osmosis. Magistral pharmacy.

INTRODUÇÃO

As farmácias magistrais apesar de quase desaparecerem após o advento da indústria farmacêutica na década de 50, vêm cada vez mais ampliando sua relevância e representatividade no mercado de medicamentos. O aumento da demanda por produtos manipulados resultou em uma maior necessidade do seu controle de qualidade, e por conta disso, várias regulamentações acerca da realização dessa prática foram estabelecidas (BONFILIO *et al.*, 2010).

Até mesmo a água utilizada durante a manipulação de medicamentos deve apresentar características intrínsecas, devendo ser no mínimo caracterizada como purificada, já que a água potável proveniente do sistema de distribuição por encanamentos contém substâncias indesejáveis para a qualidade do produto final (AULTON; TAYLOR, 2016).

Com base nisso, este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade da água purificada obtida por osmose reversa utilizada para a manipulação de formulações farmacêuticas em uma farmácia magistral na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Para isso, as amostras foram coletadas no período de 2016 a 2021 e avaliadas segundo a metodologia apresentada na Farmacopeia Brasileira 6^a edição (BRASIL, 2019) para análise de condutividade e segundo o *Standard Methods for the*

Examination of Water and Wastewater, 23ª edição (APHA, 2017) para análise dos parâmetros microbiológicos.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Historicamente as farmácias magistrais já existem há anos. Porém, no Brasil ressurgiu fortemente no final da década de 80, devido à incorporação das indústrias farmacêuticas na década de 50. Desde então as farmácias magistrais vêm conquistando espaço no mercado brasileiro de medicamentos, possuindo uma grande representatividade nesse setor (BONFÍLIO *et al.*, 2010). Segundo dados da Associação Nacional de Farmacêuticos Magistrais (ANFARMAG, 2020) – em parceria com o Instituto Brasileiro de Planejamento e Tributação (IBPT), no ano de 2020 o país possuía 8.057 farmácias de manipulação registradas, sendo que entre os anos de 2014 a 2019 foi verificado um aumento de 14,5% no número de farmácias magistrais.

A maior procura por medicamentos manipulados levou a uma preocupação em relação à qualidade dos mesmos (BONFÍLIO *et al.*, 2010). Assim, o órgão responsável por garantir a qualidade e segurança dos medicamentos, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), instituiu a primeira regulamentação específica, Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 33/2000 (BRASIL, 2000), que dispunha sobre as boas práticas de manipulação em farmácias magistrais.

Após terem sido relatados casos de intoxicação de pacientes que fizeram uso de medicamentos manipulados, foram realizadas mudanças junto a legislação para estabelecimento de critérios específicos para a manipulação magistral de substâncias de baixo índice terapêutico (MAGNELLI *et al.*, 2010). Assim, foi elaborada a RDC nº 354/2003 (BRASIL, 2003) voltada para medicamentos que apresentavam essas características. Ainda com o passar dos anos foram observadas algumas falhas na RDC nº 33/2000 (BRASIL, 2000) e, como maneira de solucionar essas falhas, foi realizada a consulta pública nº 3, com intenção de estabelecer critérios mais rígidos para a manipulação de medicamentos no Brasil. Dessa maneira, foi criada a RDC nº 214/2006 (BRASIL, 2006), que logo foi revogada pela RDC nº 67/2007 (BRASIL, 2007) e que dispõe sobre as boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para o uso humano em farmácias. Esta RDC foi alterada pela RDC nº

24/2008, RDC nº 49/2008, RDC nº 87/2008 e por último pela RDC nº 21/2009 que altera o item 2.7, do anexo III da RDC 67/2007.

Todas essas legislações demonstram a importância que as farmácias magistrais ganharam ao longo dos anos e retratam o grande papel em relação ao contexto da Política Nacional de Medicamentos (PNM) que tem como objetivo garantir a promoção do uso racional e acesso a população aos medicamentos essenciais.

A água é um dos insumos mais utilizados nas farmácias magistrais e deve seguir os padrões de potabilidade para a realização da limpeza e de outras atividades que não envolvam preparações farmacêuticas. Já a água utilizada como componente das formulações é denominada “água para uso farmacêutico” e, segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição podem ser denominadas como: água purificada, água para injetáveis e água ultrapurificada (BRASIL, 2019).

A purificação da água é necessária devido à presença de contaminantes orgânicos e inorgânicos oriundos do seu trajeto desde o meio ambiente até o momento da distribuição pelas companhias de abastecimento (BRASIL, 2014). Além disso, as substâncias dissolvidas na água não purificada podem interferir na formulação e reduzir, por exemplo, a solubilidade e estabilidade do fármaco (AULTON; TAYLOR, 2016). Assim, é preciso manter um controle rígido de contaminação microbiológica, físico-química ou biológica no momento da distribuição e do armazenamento pós-purificação, pois estes são considerados pontos críticos na garantia da qualidade da água purificada (BRASIL, 2013).

A água purificada é empregada principalmente como excipiente na preparação de medicamentos que não necessitem apresentar esterilidade e apirogenicidade (AULTON; TAYLOR, 2016). Também é utilizada na limpeza de equipamentos, preparo de reagentes, diluições, entre outras aplicações (BRASIL, 2019). Ela é produzida a partir da água potável por meio de destilação, troca iônica ou osmose reversa (AULTON; TAYLOR, 2016).

A água para injetáveis é utilizada na elaboração de produtos e princípios ativos de uso parenteral, assim como na manipulação de produtos estéreis, como os colírios. Além disso, também é utilizada na limpeza de equipamentos e componentes que entram em contato com os produtos estéreis durante a produção (BRASIL, 2019).

Já a água ultrapurificada apresenta o maior nível de pureza (BRASIL, 2019a) e não deve conter endotoxinas detectáveis. Este nível de pureza torna a água ultrapurificada adequada a ser utilizada em técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa, reação em cadeia da polimerase, imuno-histoquímica, entre outras técnicas que exigem a menor interferência possível de solventes e reagentes (LABWATER, 2021).

Todos estes tipos de água devem obedecer aos seus parâmetros de qualidade específicos (BRASIL, 2019). A água mais utilizada em farmácias magistrais é a água purificada, portanto, os parâmetros relacionados a este tipo serão descritos em mais detalhes adiante.

Em farmácias magistrais a água purificada é obtida, mais comumente, por meio de osmose reversa ou destilação. No processo de destilação a água é aquecida até que seja evaporada e condensada, saindo do sistema como água purificada. Já a técnica de osmose reversa utiliza-se de membranas filtrantes, a qual retém partículas, íons e microrganismos presentes na água proveniente da rede geral de distribuição. Nessa técnica a água passa por uma membrana semipermeável e migra do meio mais concentrado (água potável) para o meio mais diluído (água purificada) por meio de uma pressão aplicada ao sistema (MOURA *et al.*, 2008).

Recomenda-se que a água receba um pré-tratamento antes de passar pelo processo de osmose reversa com a finalidade de retirar partículas e agentes oxidantes, diminuindo a formação de biofilmes durante a obtenção da água purificada (PEREIRA, 2020).

A purificação da água por osmose reversa é mais vantajosa em comparação a destilação por diminuir o desperdício de água e reduzir o consumo de energia. O equipamento utilizado na osmose reversa é o purificador e deve funcionar continuamente por longos períodos, evitando-se a ineficiência e desgaste que normalmente ocorre ao ligar e desligar o equipamento com frequência (BRASIL, 2013).

Segundo a RDC nº 17/2010, com a finalidade de evitar contaminantes químicos e microbiológicos, a água purificada deve atender as especificações fornecidas em farmacopeias aceitas pela ANVISA (BRASIL, 2010). Nesse caso, as especificações

devem estar de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição, em que os parâmetros analisados devem ser condutividade, contagem de bactérias heterotróficas, presença/ausência de *Pseudomonas aeruginosa* e coliformes (BRASIL, 2019).

A condutividade é um parâmetro que indica a capacidade da água de propagar corrente elétrica devido a presença de compostos dissolvidos que se dissociam em cátions e ânions em função do pH e da temperatura (BRASIL, 2014; BRASIL, 2019; FRANCO *et al.*, 2021). Sabe-se que quanto maior a quantidade de íons na solução, maior será a condutividade (BRASIL, 2014). Para a água purificada que não deve conter substâncias adicionadas o padrão de referência farmacopeico é de no máximo 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C.

O parâmetro contagem de bactérias heterotróficas refere-se aos microrganismos que utilizam o carbono como fonte de obtenção de nutrientes, sendo eles as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* spp., dentre outras (ROSANA HOGAHA LEITE MACHADO *et al.*, 2021). Porém, sua presença excessiva na água é um indicativo de falta de desinfecção da mesma (BORTOLOTTI *et al.*, 2018). No caso da água purificada, o valor máximo permitido é de 100 Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/mL (BRASIL, 2019).

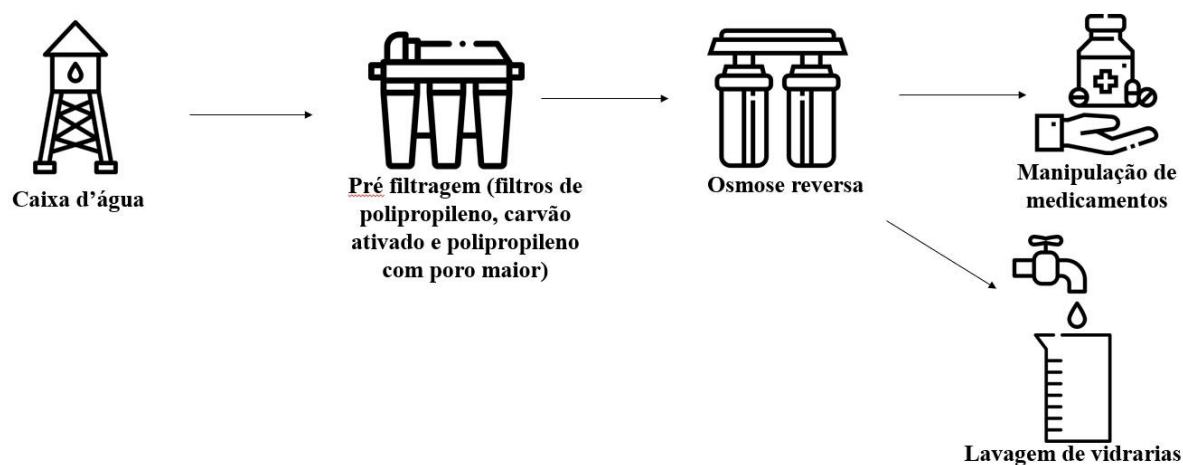
Os coliformes são divididos em dois grupos: coliformes totais e termotolerantes. Os coliformes totais são os bacilos gram-negativos, com capacidade de se multiplicarem na presença de sais biliares ou de agentes tensoativos fermentadores de lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5$ °C (24-48 horas) em meios contendo sais biliares como agentes seletivos. Além disso, são aeróbios ou anaeróbios facultativos, não produzem esporos e podem exercer atividade enzimática (BRASIL, 2014). Esse grupo de coliformes contém bactérias dos gêneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, dentre outros. Já o grupo de coliformes termotolerantes, são fermentadores de lactose a $44,5 \pm 0,2$ °C (24 horas), tendo *Escherichia coli* como a principal bactéria representante do grupo. Sabe-se que para a água purificada, a especificação segundo a Farmacopeia Brasileira, é a ausência de coliformes totais em 100 ml de amostra.

Por último, *Pseudomonas aeruginosa* são bacilos gram-negativos, aeróbios obrigatórios, que oxidam a glicose (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014). São capazes de sobreviver em pH extremos e a ambientes com escassez de nutrientes. Além disso, *P. aeruginosa* é formadora de biofilmes, podendo ser encontrados em muco de pulmões de pessoas com fibrose cística, bem como em ferimentos crônicos, queimaduras, infecções do trato urinário e aderidas aos cateteres, ou seja, é um patógeno oportunista que pode causar diversos danos aos pacientes (JIANG *et al.*, 2021). Por isso, esse microrganismo deve estar ausente em 100 mL de água purificada.

METODOLOGIA DA PESQUISA

Durante os seis anos de pesquisa (2016-2021) 49 amostras de água purificada, obtidas de sistema de osmose reversa (Figura 1), foram analisadas seguindo as especificações da legislação.

Figura 1. Esquema de distribuição de água em uma farmácia magistral de Juiz de Fora – MG.



Fonte: Os autores (2021).

A condutividade e o pH foram aferidos de acordo com a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 6ª ed. (BRASIL, 2019). Já nos testes microbiológicos de contagem de *aeróbios* mesófilos e verificação de presença/ausência de *P. aeruginosa* e coliformes totais seguiram a metodologia estabelecida pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017).

ANÁLISE DE DADOS

Ao longo dos seis anos de estudo, 36,7% das amostras de água purificada apresentaram algum tipo de não conformidade. Na Tabela 1 é possível observar quais os principais parâmetros estavam em desacordo com o preconizado pela legislação.

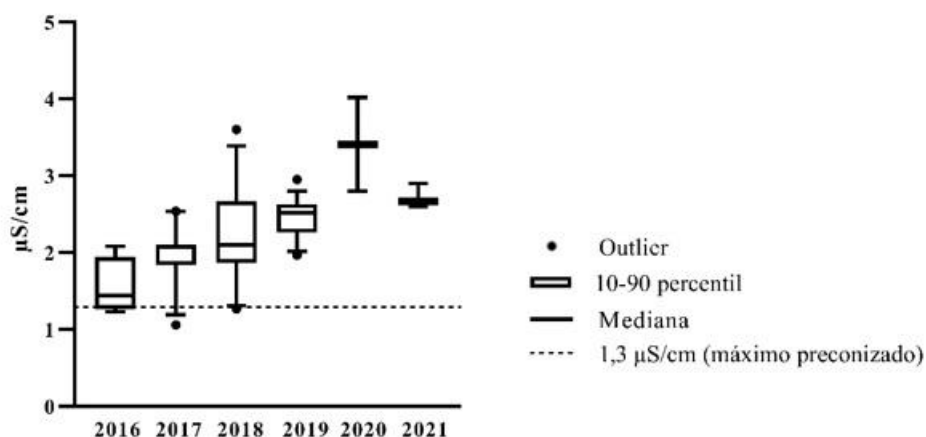
Tabela 1. Porcentagem de amostras que apresentaram não conformidades entre os anos 2016 e 2021 em uma farmácia magistral de Juiz de Fora – MG.

Ponto de Coleta	Ano (nº de amostra)	Não conformidades (%)	Parâmetros não conformes
Saída da Osmose Reversa	2021 (03)	100	Condutividade
	2020 (02)	50,0	Condutividade
	2019 (15)	53,3	Condutividade
	2018 (12)	25,0	Condutividade
	2017 (11)	27,3	Condutividade; <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	2016 (06)	0,0	-
Total de amostras (2016-2021)	49	36,7	

Fonte: Os autores (2021)

Verificou-se que a condutividade foi o principal parâmetro não conforme ao longo dos anos. Praticamente todas as amostras de água purificadas avaliadas apresentaram valores de condutividade acima do preconizado (máximo 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C) (Gráfico 1).

Gráfico 01. Variação da condutividade da água purificada obtida pelo sistema de osmose reversa em uma farmácia magistral Juiz de Fora - MG, 2016-2021.



Fonte: Os autores (2021)

Segundo o recomendado pela Farmacopeia Brasileira 6ª edição a análise da condutividade da água poderá ser realizada em até três etapas. Na etapa 01, deve-se realizar a análise direta da condutividade e o valor de referência máximo é de 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Valores acima deverão prosseguir para a etapa 02, que consiste na análise da condutividade após a agitação vigorosa da água, sendo o valor de referência máximo de 2,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Caso o resultado obtido continue sendo maior que o referência, deve-se realizar a etapa 03 em até cinco minutos após a realização da etapa 02. Para isso, adiciona-se uma solução saturada de cloreto de potássio (0,3 ml para 100 ml de amostra) e determina-se o pH com precisão de 0,1 unidade. Caso o pH da amostra apresente-se diferente da faixa de 5 a 7 ou que a condutividade apresentada seja maior que o valor de referência estabelecido para o pH encontrado, a amostra estará não conforme (BRASIL, 2019).

Os principais fatores relacionados a não conformidade da condutividade normalmente estão ligados a ineficiência do sistema de purificação e abastecimento da água (FRISCHKORN; NETO, 2009). No estudo realizado por Lacerda *et al.* (2015), verificou-se não haver uma redução dos valores de condutividade mesmo após o uso do equipamento desmineralizador, tendo sido observado posteriormente a presença de incrustações na membrana do equipamento.

Além desses fatores, a condutividade também pode apresentar-se alterada devido à presença de moléculas dissociadas e íons, como amônio e cloreto

(MARTINS, 2013). A presença desses íons na água indica que a retirada dos sais dissolvidos foi ineficiente pelo sistema de purificação utilizado (MORENO; TOZO; SALGADO, 2011).

No presente estudo, a presença do patógeno *P. aeruginosa* foi outro parâmetro que apresentou-se não conforme no ano de 2017, indicando por exemplo, uma possível formação de biofilme ou falhas no sistema de produção ou distribuição da água.

Os biofilmes são agregados de células que aderem-se as superfícies, multiplicando-se e produzindo uma camada viscosa, que os protegem da ação de sanitizantes, antimicrobianos, condições adversas de temperatura, dentre outros fatores (SHARMA; MISBA; KHAN, 2019).

Além disso, os biofilmes de *P. aeruginosa* apresentam como característica a capacidade de interagir e conviver com outros microrganismos via mecanismo *quorum sensing*. Essa característica, sob a perspectiva clínica, pode ser responsável por desencadear infecções de múltiplas espécies aos pacientes, podendo agravar o estado de saúde dos mesmos (CENDRA; TORRENTS, 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos experimentos realizados durante os seis anos de estudo, conclui-se que é necessário que os profissionais responsáveis pelo sistema de purificação por osmose reversa estejam sempre atentos quanto aos fatores relacionados a limpeza, sanitização e manutenção do equipamento, em especial dos compartimentos do sistema de filtração que envolvem a remoção de íons.

Além disso, por meio do presente estudo foi possível demonstrar a importância da realização do controle de qualidade da água purificada, principalmente daquela utilizada em estabelecimentos de saúde, como farmácias magistrais, a fim de preservar a saúde dos consumidores de medicamentos e produtos manipulados do estabelecimento.

AGRADECIMENTOS

Os ícones vidro de medição, filtragem, medicamento foram produzidos por Freepik; o ícone tanque de água foi produzido por DinosoftLabs; o ícone água foi produzido por Eucalyp; o ícone torneira foi produzido por Good Ware. Todos esses ícones foram disponibilizados pelos autores anteriormente citados em <https://www.flaticon.com/br/>

REFERÊNCIAS

AULTON, Michael E.; TAYLOR, Kevin M. G.. **Aulton delineamento de formas farmacêuticas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 1713 p.

ANFARMAG. **Panorama setorial 2020**: dados socioeconômicos das farmácias de manipulação. Dados socioeconômicos das farmácias de manipulação. 2020.

Disponível em:

https://d335luupugsy2.cloudfront.net/cms/files/50472/1601907611Anfarmag_PANORAMA_SETORIAL_2020.pdf. Acesso em: 04 set. 2021.

APHA, American Public Health Association. **Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23. ed. Washington: Apha, 2017. 1546 p.

BONFILIO, Rudy *et al.* Farmácia magistral: sua importância e seu perfil de qualidade. **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, v. 34, n. 3, p. 653-664, set. 2010. BORTOLOTTI, K. DA C. S. *et al.* Qualidade microbiológica de águas naturais quanto ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos.

Engenharia Sanitaria e Ambiental, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 717–725, 2018.

BRASIL. Bioquímica. **Água para análise química instrumental**: O que é? Quais os tipos? Qual é sua importância? 2019a. Disponível em:

<https://bioquimicabrasil.com/2019/02/14/agua-quimica-instrumental/>. Acesso em: 02 set. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 73, p. 94, 19 abr. 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 21, de 20 de maio de 2009. Altera o item 2.7, do anexo III, da Resolução - RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 95, p. 53, 21 mai. 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 214, de 12 de dezembro de 2006. Aprovar o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias e seus Anexos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 241, p. 65, 18 dez. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 24, de 03 de abril de 2008. Prorrogar por 90(noventa) dias, a partir da data de publicação desta

Resolução de Diretoria Colegiada, o prazo para atendimento 7.3.13; 9.2.2 e 9.2.2 e 9.2.2.1 do anexo I e o item 2.16 do anexo III da resolução -RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007, publicada no DOU de 09 de outubro de 2007. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 65, p. 55, 04 abr. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 33, de 19 de abril de 2000. Aprovar o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos em farmácias e seus Anexos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 78, p. 29, 19 abr. 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 354, de 18 de dezembro de 2003. A manipulação de produtos farmacêuticos, em todas as formas farmacêuticas de uso interno, que contenham substâncias de baixo índice terapêutico, definidas no Anexo I, só será permitida aos estabelecimentos farmacêuticos que cumprirem as condições especificadas nesta Resolução e seus anexos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 248, p. 56, 22 dez. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 49, de 16 de julho de 2008. Prorrogar por 90 (noventa) dias, a partir da data de publicação desta Resolução de Diretoria Colegiada, o prazo para atendimento 7.3.13; 9.2.2 e 9.2.2 e 9.2.2.1 do anexo I e o item 2.16 do anexo III da resolução -RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007, publicada no DOU nº 195, Seção 1, pág. 29. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 136, p. 54, 17 jul. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 67, de 12 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 195, p. 29, 09 out. 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 87, de 21 de novembro de 2008. Altera o regulamento técnico sobre as boas práticas de manipulação em farmácia. exp. 007192087. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 228, p. 58, 24 nov. 2008.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 6a Edição - Volume 1. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, v. 1, p. 874, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde, F. N. DE S. Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em etas. **Fundação Nacional de Saúde- FUNASA**, v. 1 ed., p. 112, 2014.

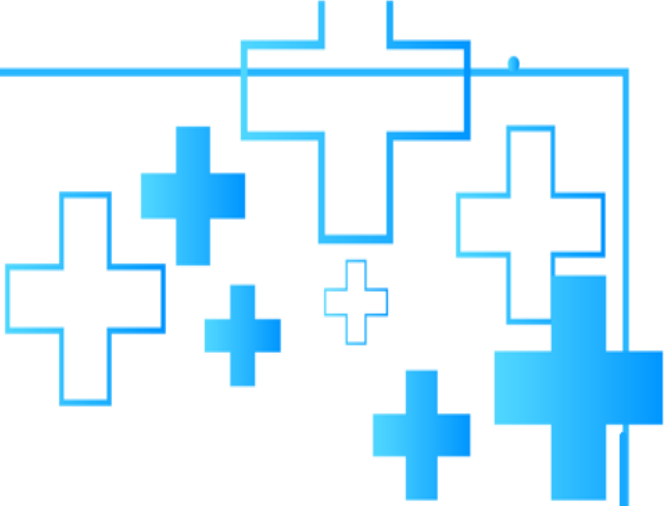
BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Qualidade para Sistemas de Purificação de Água para Uso Farmacêutico** (Versão 1.1). p. 28, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Qualidade para Sistemas de Purificação de Água para Uso Farmacêutico** (Versão 1.1). p. 28, 2013.

CENDRA, M. DEL M.; TORRENTS, E. Pseudomonas aeruginosa biofilms and their partners in crime. **Biotechnology Advances**, v. 49, n. March, p. 107734, 2021.

FRANCO, M. L. et al. Proposta de dispositivo de monitoramento da qualidade da água de baixo custo. **Revista ComInG - Communications and Innovations Gazette**, v. 5, n. 1, p. 44–55, 2021.

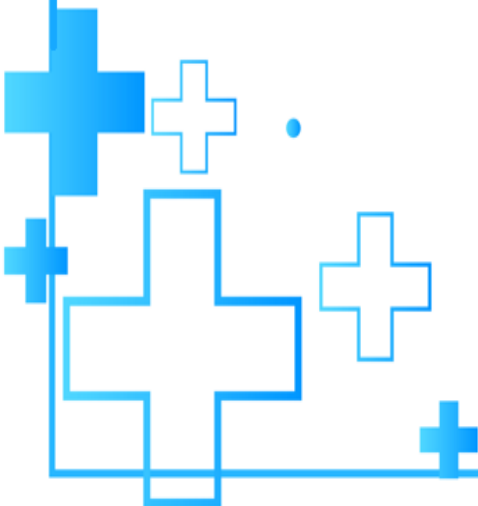
- FRISCHKORN, H.; NETO, J. L. DA R. Osmose reversa: limpeza química em membranas de dessalinizadores do Ceará. **Revista Tecnologia**, Fortaleza, v. 30, n. 1, p. 89–96, 2009.
- JIANG, Zhaowei *et al.* Searching for the Secret of Stickiness: how biofilms adhere to surfaces. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 12, 2021.
- MARTINS, Hélio. **Água purificada**. S.L: 2013. 9 p. Revista Técnica do Farmacêutico. Disponível em: http://www.anfarmag.com.br/files/artigo-tecnico/20130726_094238_56951.pdf. Acesso em: 03 set. 2021.
- LABWATER, Elga. **Água Ultrapura**. 2021. Disponível em: <https://br.elgalabwater.com/ultrapure-water>. Acesso em: 02 set. 2021.
- LACERDA, A. B. *et al.* A condutividade da água como indicador de eficiência do processo de eletrodialise. **Inovamundi**, 2015.
- MAGNELLI, R. F. *et al.* Problemas reincidentes na manipulação de fármacos de baixo índice terapêutico. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 7, n. 79, p. 6-11, jun. 2010.
- MORENO, A. H.; TOZO, G. C. G.; SALGADO, H. R. N. Avaliação da qualidade da água purificada em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 69–75, 2011.
- MOURA, Johnson Pontes de *et al.* Aplicações do processo de osmose reversa para o aproveitamento de água salobra do semi árido nordestino. **Revista Águas Subterrâneas**, São Paulo, n.p, set. 2008.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Microbiologia Médica 7ª edição. **Microbiologia**, p. 1808, 2014.
- PEREIRA, Hellen Paula de Oliveira. **Avaliação e Implantação de método físico-químico para o controle de qualidade da água purificada da FARMAM**. 2020. 57 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade Maria Milza Curso de Bacharelado em Farmácia, Governador Mangabeira, 2020.
- ROSANA HOGAHA LEITE MACHADO *et al.* Água Mineral Comercializada No Brasil: Caracterização, Consumo E Qualidade Microbiológica. **Arquivos do Mudi**, v. 25, n. 1, p. 12–25, 2021.
- SHARMA, Divakar; MISBA, Lama; KHAN, Asad U.. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, [S.L.], v. 8, n. 1, 2019.



Capítulo 4

ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTI- INFLAMATÓRIA DAS FOLHAS DE PLINIA CAULIFLORA (DC.) KAUSEL (JABUTICABA)

**Priscila de Lima Paula
Ângelo Márcio Leite Denadai
Rodrigo Luiz Fabri**



ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DAS FOLHAS DE *PLINIA CAULIFLORA* (DC.) KAUSEL (JABUTICABA)

Priscila de Lima Paula¹

Doutoranda pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo PPGCF da UFJF. Graduada em Farmácia, com ênfase em Indústria de Medicamentos e Cosméticos, pela Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Tem experiência na área de Produtos Naturais Bioativos e Nanotecnologia. Atua como pesquisadora realizando experimentos de extração, elucidação e caracterização de produtos naturais; encapsulamento molecular de substâncias bioativas; caracterização de complexos supramoleculares nanoestruturados; e ensaios biológicos in vitro e in vivo.

Ângelo Márcio Leite Denadai²

Possui graduação em Química Industrial pela Universidade Vale do Rio Doce, Mestrado em Agroquímica pela Universidade Federal de Viçosa e Doutorado em Química pela Universidade Federal de Minas Gerais. Tem experiência na área de Química, com ênfases em Físico-Química e Química Inorgânica, atuando principalmente nos seguintes ramos: Nanotecnologia, Sistemas Coloidais, Encapsulamento Molecular e Propriedade Intelectual. É bolsista de produtividade do CNPq em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora. Foi Diretor do Instituto de Ciências da Vida da UFJF Campus Governador Valadares (2016-2021) e Diretor Geral do Campus Avançado da UFJF em Governador Valadares (2021-2025).

Rodrigo Luiz Fabri³

Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas pela UFJF. Tem experiências nas áreas de química e atividades biológicas de produtos naturais.

¹ Mestre em Ciências Farmacêuticas pela UFJF. plppriscila23@gmail.com

² Doutor em Química pela UFMG. angelomld@gmail.com

³ Doutor em Ciências Biológicas pela UFJF. rodrigo.fabri@ufjf.edu.br

Resumo:

A busca por novas moléculas ou suas combinações com potencial anti-inflamatório tem sido crescente, principalmente com objetivo de contornar os efeitos adversos já conhecidos dos medicamentos convencionais. Nas últimas décadas, os produtos naturais bioativos tem sido uma alternativa eficaz, segura e sustentável para substituir e/ou apoiar os tratamentos de diversas enfermidades. A *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, popularmente conhecida como jabuticaba, é comumente utilizada na medicina tradicional para o tratamento da diarreia, irritação da pele e inflamação intestinal. Logo, o objetivo desse trabalho é identificar os principais compostos bioativos do extrato etanólico das folhas (EEF) de *Plinia cauliflora* e avaliar as propriedades antioxidante e anti-inflamatória. As folhas, secas a 40 °C, foram pulverizadas e maceradas em etanol, até a completa exaustão, seguida da evaporação do solvente e concentração do extrato. Para o doseamento de fenóis totais, flavonoides e taninos, EEF apresentou alto teor de flavonoides e teores significativos para fenóis totais e taninos. A propriedade antioxidante foi determinada pelos ensaios de sequestro do radical DPPH; inibição do sistema β -caroteno/ácido linoleico e da formação de MDA, onde verificou-se que EEF possui uma atividade promissora. A viabilidade celular foi avaliada usando o ensaio MTT em linhagem de macrófagos peritoneal em que todas as concentrações apresentaram proliferação celular superior a 70%, mostrando segurança de acordo com a ISO10993-5 (2009). Além disso, EEF foi eficaz nos testes *in vitro* e *in vivo* da atividade anti-inflamatória, com redução do óxido nítrico (NO) e inibição do edema de orelha em torno de 95 e 80%, respectivamente. Considerando que extratos de plantas, em sua grande maioria, tem um valor comercial inferior aos anti-inflamatórios convencionais, além de apresentar baixos efeitos adversos e atividades biológicas promissoras com significância estatística, representa uma grande vantagem em relação aos anti-inflamatórios comercialmente disponíveis. No entanto, mais estudos são necessários para compreender os resultados encontrados e confirmar a correlação estrutura/atividade farmacológica.

Palavras-chave: *Plinia cauliflora*. Jabuticaba. Anti-inflamatório. Óxido nítrico. Edema de orelha.

Abstract:

The search for new molecules with anti-inflammatory potential has increased, mainly aiming to circumvent the known adverse effects of conventional drugs. In recent decades, bioactive natural products have been shown to be an effective, safe, and sustainable alternative to replace and/or assist in the treatment of some diseases. *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, popularly known as jaboticaba, is commonly used in traditional medicine for diarrhea treatment, skin irritation, and intestinal inflammation. Therefore, the aim of this work is to identify the main bioactive compounds of the ethanol extract of leaves (EEL) from *Plinia cauliflora* and evaluate the antioxidant and anti-inflammatory properties. The leaves, dried at 40 °C, were pulverized and macerated with ethanol, until complete exhaustion, followed by solvent evaporation and concentration of the extract. For the determination of total phenols, flavonoids, and tannins, the extract presented high content of flavonoids and significant levels for total phenols and tannins. Antioxidant property was determined by the DPPH assay, β -carotene/ linoleic acid system, and by the formation of MDA, where EEL showed

promising activity. Cell viability was evaluated by MTT assay in peritoneal macrophages, in which all concentrations showed cell proliferation greater than 70%, showing safety according to ISO10993-5 (2009). Furthermore, EEL was effective in in vitro and in vivo tests of anti-inflammatory activity, with a reduction in nitric oxide (NO) and inhibition of ear edema around 95 and 80%, respectively. Considering that most plant extracts have a lower commercial value than conventional anti-inflammatory drugs, in addition to presenting low adverse effects and promising biological activities with statistical significance, it represents a great advantage over commercially available anti-inflammatory drugs. However, further studies are necessary to comprehend the results and confirm the pharmacological structure/activity correlation.

Keywords: *Plinia cauliflora*. Jaboticaba. Anti-inflammatory. Nitric Oxide. Ear Edema.

INTRODUÇÃO

No Brasil observa-se um crescimento na utilização de fitoterápicos pela população, e basicamente, dois fatores poderiam explicar este aumento: o primeiro seria os avanços ocorridos na área científica, que permitiram o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes; o segundo é a crescente tendência de busca, pela população, por terapias menos agressivas e menos onerosas, destinadas ao atendimento primário à saúde (HASENCLEVER *et al.*, 2017).

Somado a isso, o Brasil possui a maior biodiversidade do Planeta, com mais de 55 mil espécies de plantas ou 22% do total mundial e 43.738 espécies vegetais conhecidas (MMA, 2014). Essa porcentagem coloca o nosso país em destaque diante do mundo, atraindo tanto interesses econômicos quanto botânicos, farmacológicos e turísticos. À frente disso, a *Plinia cauliflora*, espécie oriunda da família Myrtaceae e popularmente conhecida como jaboticaba, é nativa da Mata Atlântica do Brasil e possui um centro secundário de disseminação no Paraguai e na Argentina (IDEMIR *et al.*, 2010). Produz frutos amplamente consumidos em todo território nacional tanto na sua forma *in natura*, bem como na forma de licores, vinhos, geleias e doces (FORTES *et al.*, 2011; ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2012).

Na literatura, é relatado que a jaboticaba tem capacidade de reduzir o processo oxidativo (REYNERTSON *et al.*, 2008), a hiperglicemia associada a resistência à insulina (DRAGANO *et al.*, 2013) e a dislipidemia (ARAÚJO *et al.*, 2014). Além disso, a espécie tem comprovado efeito hipotensor e vasodilatador dependentes do endotélio vascular, efeitos estes mediados pela via do óxido nítrico (LOBO DE ANDRADE *et al.*, 2015). Tais descobertas despertaram o interesse dos pesquisadores

acerca dos compostos bioativos, pois há uma busca constante por bons candidatos a fármacos que apresentam baixo potencial toxicológico e alta eficácia terapêutica (VALLI *et al.*, 2018; VALLE, 2018).

A maioria das atividades biológicas relatadas da jabuticaba é sobre seu fruto inteiro ou da sua casca que, devido a sua característica adstringente, é popularmente conhecido para o tratamento da diarreia, irritação da pele e inflamação intestinal (REYNERTSON *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2009; LEITE-LEGATTI *et al.*, 2012). Embora Agra *et al.* (2008) tenha mostrado em seu levantamento de dados que a decocção das folhas e ramos de jabuticaba é utilizada pela população da região Nordeste do Brasil para o tratamento da diarreia e disenteria, e o xarope para tratar tosse e bronquite, pouco é relatado na literatura sobre as atividades biológicas das folhas dessa árvore. Logo, o objetivo desse trabalho foi avaliar as atividades antioxidante e anti-inflamatória do extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação do material vegetal

As folhas foram coletadas em setembro de 2018, na faculdade de Educação Física, do Campus Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, nas coordenadas 19°52'30,8" S; 43°58'31,7" O e 820 metros de altitude. Uma amostra da planta inteira contendo folhas, ramos, frutos e flores foi utilizada na preparação da exsicata (BHCB 174029) e identificada como *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel (Myrtaceae) (SISGEN/Brasil A032F41) pelo professor Dr. Alexandre Salino, Curador do Herbário BHCB (UFMG).

Preparo do extrato vegetal

Cerca de dois quilos de folhas *P. cauliflora* foram coletados e submetidos à secagem em estufa a temperatura de 40 °C por 48 horas. As folhas foram pulverizadas em moinho de facas com malha MESH 20 até se obter um pó de granulometria 0,84 mm. Logo após, procedeu-se a extração por maceração estática utilizando etanol como fase líquida, a temperatura ambiente, até exaustão completa do material vegetal. Para a obtenção do extrato etanólico bruto removeu-se o solvente

em um evaporador rotatório de marca BUCHI Labortechnik AG (V-700), a pressão reduzida e temperatura do banho-maria de 45-55 °C. O extrato etanólico das folhas (EEF) foi armazenado em frasco de vidro com tampa, sob refrigeração a 5 °C até a realização dos experimentos.

Doseamento de flavonoides, fenóis totais e taninos

O conteúdo de flavonoides foi determinado pelo método descrito por Miliauskas *et al.* (2004), com modificações. Preparou-se uma solução estoque de EEF a 1 mg/mL em etanol (EtOH), onde 0,2 mL foi transferido para tubos de ensaio e, posteriormente, adicionou-se 4,6 mL de EtOH, 1 gota de ácido acético glacial e 0,2 mL da solução etanólica de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 2%, obtendo-se uma solução final de 5 mL por tubo. O branco da amostra foi preparado substituindo a solução de AlCl_3 por EtOH. Após 40 min de incubação e ao abrigo da luz, as absorvâncias foram registradas em espectrofotômetro UV-Vis a 415 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicatas e a média $\pm$ desvio padrão foi utilizada para o cálculo do teor de flavonoides. O conteúdo total de flavonoides foi expresso em $\mu\text{g}/\text{mg}$ de extrato vegetal, em equivalentes de rutina (padrão referência).

A determinação de fenóis totais e taninos foi realizada por meio de espectroscopia na região do visível adaptando os métodos de Folin-Ciocalteu (DOWD, 1959; FOLIN, 1927) e da monografia do Barbatimão da 6ª ed. da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2019). Preparou-se uma solução estoque de extrato a 1 mg/mL em metanol (MeOH). Em microplaca de 96 poços foram adicionados 120 μL do reagente Folin Ciocalteu a 20%, 30 μL da amostra e 100 μL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 4%. Para o branco da amostra foi substituído a solução reagente por MeOH. Decorridos 30 min de incubação ao abrigo da luz, a absorvância foi medida em espectrofotômetro UV-Vis a 770 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata e a média $\pm$ desvio padrão foi utilizada para o cálculo do teor de fenóis. O conteúdo total de fenóis foi expresso em mg/g de extrato vegetal, em equivalentes de ácido tânico (padrão referência).

Para a quantificação de taninos foi preparada uma solução estoque na concentração de 1 mg/mL em metanol a um volume de 10 mL. Adicionou a solução 100 mg de gelatina e promoveu a agitação mecânica durante 60 minutos. Em seguida,

as amostras foram centrifugadas e posteriormente filtradas em papel de filtro. A solução filtrada foi utilizada para análise de fenóis não adsorvidos na gelatina, pelo método de Folin-Ciocalteu. O conteúdo total de taninos foi expresso pela diferença entre fenóis totais e fenóis não adsorvidos na gelatina em $\mu\text{g}/\text{mg}$ de extrato vegetal, em equivalentes de ácido tânico (padrão referência).

Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH

A atividade sequestrante do radical DPPH foi determinada pelo método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Em uma microplaca de 96 poços, transferiu-se 100 μL de uma solução a 1 mg/mL do extrato solúvel em metanol (MeOH). Diluições sucessivas com 50 μL de MeOH foram realizadas e, em seguida, adicionou-se 150 μL de solução reagente de DPPH a 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em MeOH, obtendo-se concentrações entre 250 a 0,49 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A placa foi incubada ao abrigo da luz por 30 minutos. A absorvância foi mensurada em espectrofotômetro UV-Vis a 517 nm. O branco da amostra foi preparado substituindo o DPPH por 150 μL de MeOH. Para o controle negativo procedeu-se a leitura da absorvância com 150 μL de DPPH e 50 μL de MeOH. O ensaio também foi realizado com os controles positivos rotina e quercetina. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão da concentração inibitória de 50% (CI_{50}) em $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Atividade antioxidante pelo método de inibição da peroxidação lipídica: sistema β -caroteno/ácido linoleico

A inibição da peroxidação lipídica foi avaliada pelo método β -caroteno/ácido linoleico descrito por Melo e Mancini Filho (1989) com algumas modificações. Foi preparado uma solução estoque a 1 mg/mL do extrato solúvel em metanol (MeOH). Procedeu-se diluições sucessivas para obter concentrações entre 1000 e 31,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A emulsão contendo β -caroteno e ácido linoleico (30 μL de ácido linoleico, 265 μL de Tween 40, 500 μL de diclorometano e 100 μL da solução β -caroteno a 10 mg/mL em DCM, 30 mL de água destilada saturada) foi ajustada entre os valores de 0,6 e 0,7 em espectrofotômetro UV-Vis a 470 nm.

Em microplaca de 96 poços foram adicionados 250 µL de emulsão e 10 µL de amostra, obtendo-se concentrações finais entre 38,46 e 1,20 µg/mL. O controle negativo foi realizado com 250 µL da emulsão e 10 µL de MeOH. A placa foi incubada a 45 °C, para acelerar as reações de oxidação e iniciar a descoloração do β -caroteno. As leituras das absorvâncias foram obtidas no tempo zero e em intervalos de 15 min durante 120 min, em espectrofotômetro UV-Vis a 470 nm. O ensaio também foi realizado com os controles positivos rutina e quercetina. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos em média ± desvio padrão de porcentagem de inibição (%I), calculada em relação ao decaimento da absorvância do controle negativo (Equação 1). Avaliou-se também a curva de oxidação do β -caroteno para as amostras, utilizando o cálculo de tangente para encontrar os valores de F1 (capacidade de bloqueio da formação de peróxidos) entre 15 e 45 min após o início da reação e F2 (capacidade de inibir os produtos formados durante a decomposição dos peróxidos) entre 75 e 90 min após início da reação (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

$$\begin{aligned} \text{tg} &= \frac{\text{Abs}_{(15')} - \text{Abs}_{(45')}}{45 - 15} & \text{tg} &= \frac{\text{Abs}_{(75')} - \text{Abs}_{(90')}}{90 - 75} \\ \text{F1} &= \frac{\text{tg } A_{\text{am}}}{\text{tg } A_{\text{cn}}} & \text{F2} &= \frac{\text{tg } A_{\text{am}}}{\text{tg } A_{\text{cn}}} \\ \%I &= \frac{\text{Abs}_{\text{cn}} - \text{Abs}_{\text{am}}}{\text{Abs}_{\text{cn}}} \times 100 \end{aligned} \quad \text{Equação 1}$$

Onde, Abs_{cn}: absorvância mensurada para o controle negativo; Abs_{am}: absorvância mensurada para as amostras; %I: porcentagem de inibição da lipoperoxidação; tg: tangente.

Atividade antioxidante pelo método de inibição da peroxidação lipídica: doseamento de malondialdeído

A determinação da peroxidação lipídica pelo doseamento de malondialdeído (MDA) foi baseada no método descrito por Osawa *et al.* (2005) com algumas modificações. Preparou-se soluções de extrato a 5,0; 10 e 20 mg/mL em metanol. Para a produção do homogenato de cada concentração, foi adicionado em um béquer 25 g de carne moída, 17 mL de água destilada e amostra solúvel. Os homogenatos

foram aquecidos até o aparecimento da coloração “amarronzada” (carne cozida). Em seguida, o volume de água foi ajustado q.s.p. 100 mL e procedeu-se a homogeneização com aparelho triturador manual, obtendo-se ao final as concentrações de 10, 20 e 40 µg/mL. O ensaio também foi realizado com o controle positivo quercetina. Os homogenatos foram armazenados em frascos âmbar vedados sob refrigeração a 5 °C por 7 dias.

Para a quantificação de MDA, foi adicionado em tubos de ensaio 0,5 g de homogenato, 50 µL de BHT, 2,5 mL de ácido fosfórico a 1% e 1,25 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA). As soluções foram aquecidas por 15 minutos em banho-maria a 100 °C e, em seguida, submetidas ao banho de gelo por 10 minutos. Após o resfriamento, adicionou-se 3 mL de butanol em cada tubo e centrifugou a 4000 rpm por 5 minutos. Alíquotas de 200 µL do sobrenadante foram adicionadas a microplaca de 96 poços e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro UV-Vis a 535 nm. Uma curva padrão de MDA foi preparada. Como controle negativo, foi adicionado apenas metanol (veículo) na preparação do homogenato (sem amostra). As leituras das absorvâncias foram realizadas nos dias 0, 1, 3, 5 e 7.

Ensaio de viabilidade celular pelo método de redução metabólica do MTT

Os macrófagos foram obtidos da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c previamente inoculados com meio tioglicolato a 3% (Sigma Chemical Co; St. Louis, MO, EUA). A linhagem de macrófagos foi utilizada para ensaio de viabilidade celular na concentração de 2×10^6 células/mL em placas de cultura de 96 poços em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de FBS inativado, a 37 °C e atmosfera com 5% de CO₂. Após 24 horas, os macrófagos aderentes foram incubados com o extrato em uma diluição seriada (18,75 a 300 mg/mL) por 48 horas a 37 °C, com 5% de CO₂. Macrófagos não tratados foram usados como controle negativo. A viabilidade celular foi determinada usando o ensaio colorimétrico de brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio (MTT) que é baseado na redução do sal de tetrazólio por desidrogenases mitocondriais (MOSMANN, 1983). O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (n ° 007/2018).

Atividade anti-inflamatória *in vitro*: redução da concentração de óxido nítrico

A produção de óxido nítrico (NO) foi determinada nos sobrenadantes de cultura de macrófagos peritoneal após incubação por 48 h na presença do extrato (18,75 a 300 mg/mL) e estimulados com LPS a 1 mg/mL e INF-g a 1 ng/mL. O ensaio foi realizado conforme descrito por Green *et al.* (1982). Em uma microplaca de 96 poços foram adicionados 50 mL dos sobrenadantes de cultura de células e 50 mL de reagente de Griess: 1% de sulfanilamida em 2,5% de H₃PO₄ e 0,1% de dicloreto de N-(1-naftil)-etilenodiamina (NEED) em 2,5% de H₃PO₄ (v/v). Foi realizada o branco do experimento e o teor de nitrito (NO₂⁻) foi quantificado por extrapolação de uma curva padrão de nitrito de sódio (NaNO₂). Todos os ensaios foram feitos em triplicata. As absorbâncias foram medidas em 540 nm usando um leitor de microplaca. Os resultados foram expressos em mM de NO. O controle negativo foi mensurado em células não tratadas e estimuladas com LPS e INF-g e células estimuladas e tratadas apenas com DMSO a 0,5%.

Atividade anti-inflamatória *in vivo*: inibição do edema de orelha

Para os ensaios biológicos foram utilizados camundongos Swiss pesando entre 25 a 30 g, machos, com 45 dias de idade, provenientes do Centro de Biologia da Reprodução (CBR) da UFJF. Os animais foram alojados em gaiolas e mantidos sob condições controladas de temperatura (22 °C) e iluminação (ciclo de claro/escuro de 12 horas) com livre acesso a água e ração. Os protocolos utilizados para experimentação animal foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFJF (nº 006/2019 e 007/2019).

A avaliação da atividade anti-inflamatória *in vivo* foi realizada através do modelo de edema de orelha descrito por Schiantarelli *et al.* (1982), com adaptações. Os animais foram divididos em 6 grupos de 6 animais cada: animais sem estímulo e sem tratamento (Basal); animais estimulados com o agente flogístico sem tratamento (Controle negativo); animais estimulados e tratados com dexametasona a 0,1 mg/orelha solúvel em acetona (Controle positivo); e animais estimulados e tratados com o extrato nas concentrações de 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha solúvel em acetona. Foi aplicado topicamente 20 µL de uma solução do óleo de Cróton a 2,5% (v/v) em

acetona no pavilhão auricular direito e o mesmo volume de acetona (veículo) no pavilhão auricular esquerdo de cada animal. Em seguida, os animais receberam o tratamento tópico com 20 µL de cada amostra. Após desafio de 6 horas, os animais foram eutanasiados e com o auxílio de um *punch* metálico, discos idênticos de 10 mm de diâmetro foram obtidos de ambas as orelhas (direita e esquerda) de cada animal. Os discos foram pesados em balança analítica e os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão da diferença de peso entre as orelhas esquerda e direita do mesmo animal.

Análise histopatológica

Os fragmentos de cada orelha foram preservados em formol a 10% até o início da análise histológica. As biópsias foram desidratadas, emblocadas em parafina e, com auxílio de um micrótomo, foram realizados cortes transversais, os quais foram corados com hematoxilina-eosina (HE). Foi utilizado o microscópio de marca Olympus BX51 e as fotomicrografias representativas de cada grupo foram obtidas no aumento de 10x utilizando o software CellSens Standard.

Análise estatística

Os dados são apresentados como média e desvio padrão. A análise estatística foi realizada através de ANOVA seguido do teste de Bonferroni, por meio do programa GraphPrism 5.0. As diferenças foram consideradas significantes com $P < 0,05$ (95% intervalo de confiança).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teores de fenóis totais, flavonoides e taninos

A análise dos teores de fenóis totais, flavonoides e taninos de EEF foi realizada, pois estes compostos orgânicos são frequentemente associados a alta atividade antioxidante e anti-inflamatória devido a capacidade de eliminar os radicais livres que são produzidos no organismo humano.

EEF apresentou alto teor de fenóis totais. Além disso, o teor de flavonoides foi relativamente superior ao teor de taninos (Tabela 1). Logo, sugere-se que o conteúdo de flavonoides seja superior nas folhas em relação aos taninos. Chavasco *et al.* (2014) identificaram flavonoides e taninos nas folhas de *P. cauliflora*. Souza-Moreira *et al.* (2010) verificaram a presença de fenóis totais, flavonoides e taninos nas veias medianas, veias menores e no parênquima das folhas de *P. cauliflora*. Essas análises permitiram confirmar a presença das principais classes de metabólitos especiais relatados na literatura.

Tabela 1 - Teores de fenóis totais, flavonoides e taninos no extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF)

Análise fitoquímica	EEF (µg/mg)
Fenóis Totais	163,77 ± 0,76
Flavonoides	72,52 ± 0,72
Taninos	27,12 ± 2,03

Atividade Antioxidante

No ensaio de DPPH é avaliada a habilidade de sequestrar radicais livres de um composto antioxidante que está intimamente associado com a capacidade dessa substância em doar átomos de hidrogênio (YANG *et al.*, 2008). A molécula DPPH é caracterizada como um radical livre estável devido à conjugação dos elétrons desemparelhados por toda a molécula. Essa deslocalização confere a esta molécula uma coloração violeta, capaz de produzir uma banda de absorção com máxima próximo de $\lambda = 520$ nm. Na presença de uma substância doadora de hidrogênio, esse radical é reduzido à difenil-picril-hidrazina (DPPH-H), o qual possui coloração amarelada e menor intensidade de absorção (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006; KEDARE; SINGH, 2011).

Sabe-se que, quanto maior for o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua atividade antioxidante e menor é o valor da concentração inibitória de 50% (CI₅₀), que é a quantidade necessária da amostra para inibir metade da ação oxidante do DPPH. Portanto, EEF mostrou um resultado bastante promissor com CI₅₀ de 1,45 ± 0,02 µg/mL (Tabela 2). O que se sabe sobre a capacidade antioxidante das folhas é que

Souza-Moreira *et al.* (2010) avaliaram diferentes extratos polares das folhas de *P. cauliflora* e observaram uma inibição acima de 90% na concentração de 250 µg/mL, corroborando com nossos achados.

Tabela 2- Avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF) através dos métodos de inibição do radical DPPH e inibição do sistema β -caroteno/ácido linoleico. ^a Diferença estatística em relação ao controle positivo rutina ($P<0,05$). ^b Diferença estatística em relação ao controle positivo quercetina ($P<0,05$). ANOVA seguido de teste de Bonferroni.

Amostras	DPPH Cl ₅₀ (µg/mL)	β -caroteno/ácido linoleico (38,46 µg/mL)		
		Inibição (%)	F1	F2
EEF	1,45 ± 0,02 ^{a,b}	71,47 ± 5,64 ^a	0,21 ± 0,008 ^{a,b}	0,26 ± 0,15 ^{a,b}
Rutina	0,54 ± 0,37	25,2 ± 0,9	0,59 ± 0,009	1,63 ± 0,32
Quercetina	0,33 ± 0,12	64,43 ± 2,40	0,57 ± 0,07	0,70 ± 0,11

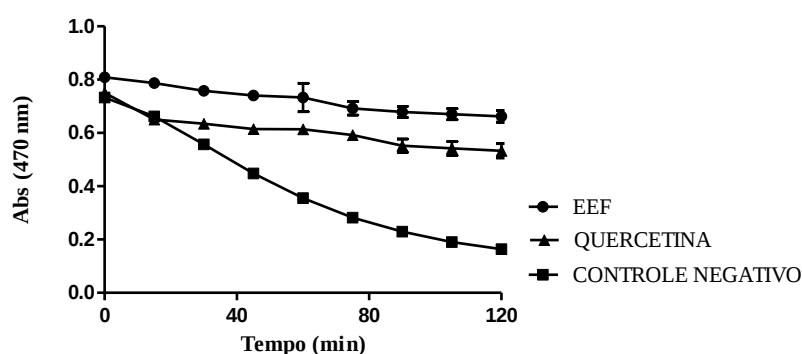
A inibição da peroxidação lipídica foi avaliada pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico, o qual é um método colorimétrico, desenvolvido em comprimento de onda de 470 nm e baseia-se na descoloração da emulsão preparada com β -caroteno e ácido linoleico. Este fenômeno ocorre em função das estruturas radicalares formadas pela oxidação lipídica do ácido linoleico, que atacam as duplas ligações do β -caroteno, perdendo seu cromóforo, resultando na descoloração do pigmento alaranjado. A presença de compostos antioxidantes no sistema inibi a oxidação do ácido linoleico (peroxidação lipídica) impedindo a formação dos radicais livres durante esse processo e, conseqüentemente, preservando a coloração do β -caroteno (ALVES *et al.*, 2010; SUCUPIRA *et al.*, 2012).

A porcentagem de inibição de EEF (71,47 ± 5,64 %), relativa à maior concentração (38,46 µg/mL), foi superior estatisticamente ao controle positivo rutina (25,20 ± 0,90 %) ($P<0,05$) e similar à quercetina (64,43 ± 2,40 %) ($P>0,05$) (Tabela 3). Esse resultado mostra que os compostos orgânicos encontrados em ambas no extrato possuem significativa capacidade antioxidante.

Além disso, a partir da curva de oxidação do β -caroteno (Figura 1) também se avaliou a eficiência antioxidante através dos parâmetros F1 e F2. Segundo

Nascimento *et al.* (2010), para um desempenho antioxidante satisfatório, os valores de F1 e F2 devem ser menores que 1 e mais próximos de 0. Logo, nota-se que EEF foi capaz de bloquear a formação de radicais peróxidos tanto na fase de propagação (F1) quanto na fase terminal da peroxidação lipídica (F2), com diferença significativa em relação à rutina e quercetina ($P<0,05$).

Figura 1 - Perfil de decaimento da absorvância do β -caroteno, avaliada em 470 nm, mostrando a preservação de sua coloração ao longo de 120 minutos de reação na presença do extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF)

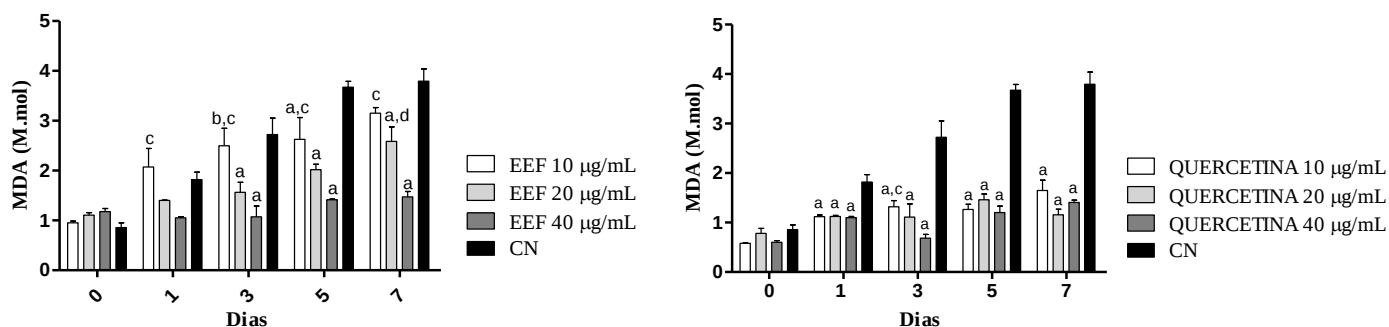


Durante o processo de peroxidação lipídica, os radicais livres produzidos levam a formação de radicais lipídicos, que na presença de oxigênio molecular formam o radical lipídico peroxil ($\text{LOO}^\cdot$). Esses processos podem favorecer a produção de aldeídos, substâncias reativas capazes de gerar danos celulares (YADAV; RAMANA, 2013). Dentre eles, o malondialdeído (MDA) é uma molécula bastante utilizada como biomarcador da peroxidação lipídica (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014). Portanto, a peroxidação lipídica também foi avaliada pelo ensaio de doseamento de MDA, que se baseia na complexação dessa substância com o ácido tiobarbitúrico (TBA), produzindo uma coloração avermelhada.

Neste ensaio, uma amostra com potencial antioxidante significativo precisa inibir a produção de malondialdeído, formada durante a peroxidação lipídica da carne. Conforme observado na Figura 2, EEF apresentou potencial inibição a partir do terceiro dia de tratamento de forma significativa ($P<0,05$).

Figura 2 - Redução da produção de malondialdeído na presença do extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF). CN - Controle negativo. ^a Diferença

estatística em relação ao CN ($P<0,05$). ^b Diferença estatística entre as concentrações 10 e 20 $\mu\text{g/mL}$ ($P<0,05$). ^c Diferença estatística entre as concentrações 10 e 40 $\mu\text{g/mL}$ ($P<0,05$). ^d Diferença estatística entre as concentrações 20 e 40 $\mu\text{g/mL}$ ($P<0,05$). ANOVA seguido de teste de Bonferroni.

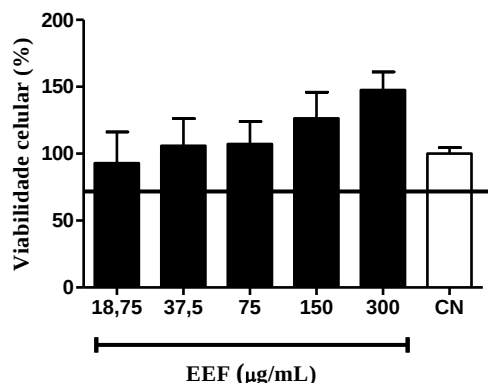


Viabilidade celular e atividade anti-inflamatória *in vitro*

A descoberta de novas substâncias bioativas que possuem potencial atividade anti-inflamatória e que não apresentam ou tenham baixa toxicidade às células do organismo humano é de grande relevância. Portanto, para investigar essa atividade foi avaliada a viabilidade celular das amostras em linhagem de macrófagos peritoneal, através do ensaio de redução do MTT, que possibilita analisar a sobrevivência celular. O MTT é reduzido à formazan por todas as células metabolicamente ativas vivas, mas não por células mortas ou eritrócitos (MOSMANN, 1983).

O percentual de viabilidade aceitável é determinado de acordo com a ISO10993-5 (2009), o qual estabelece que na investigação de citotoxicidade de substâncias *in vitro* a viabilidade celular não deve ser reduzida para valores inferiores a 70%. Portanto, pode-se observar que todas as concentrações testadas são seguras para serem usadas em estudos subsequentes (Figura 3).

Figura 3 - Viabilidade celular do extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF) em linhagem de macrófagos peritoneal

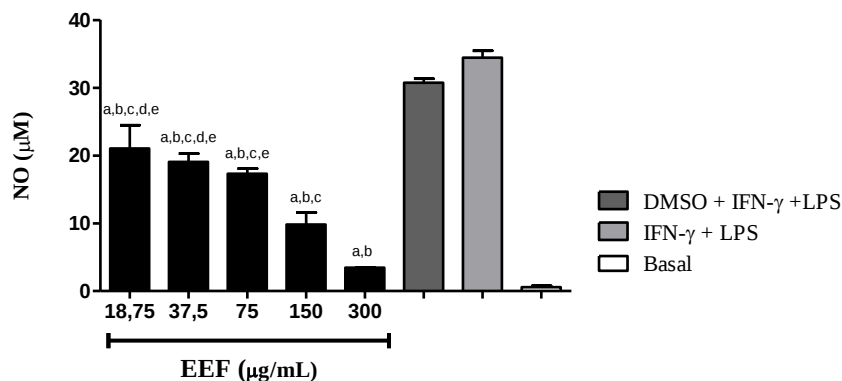


A produção de radicais livres está estreitamente relacionada ao processo inflamatório, visto que são produzidas por células do sistema imune que possuem participação ativa no surgimento da inflamação. O óxido nítrico (NO) é uma molécula importante no processo inflamatório. Este radical é capaz de ativar as enzimas ciclo-oxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2), que aumentam os níveis de prostaglandinas, agravando ainda mais o processo inflamatório. Os macrófagos M1 (classicamente ativado) adquirem esse perfil em resposta a moléculas pró-inflamatórias presentes no organismo e após polarização, tornam-se células com grande capacidade de produção e liberação de citocinas inflamatórias, EROs e NO (FANG *et al.*, 2015).

Simultaneamente ao ensaio de viabilidade celular, foi avaliada a atividade anti-inflamatória *in vitro* pela dosagem indireta de NO em sobrenadante de macrófagos peritoneal, que foram tratados com EEF nas mesmas concentrações do teste de viabilidade celular (Figura 4). Observa-se que todas as concentrações foram capazes de reduzir significativamente ($P < 0,05$) a produção de NO. EEF reduziu mais de 90, 70 e 50 % nas doses de 300, 150 e 75 µg/mL, respectivamente.

Figura 4 - Redução da produção de óxido de nítrico (NO) na presença do extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF) em linhagem de macrófagos peritoneal. ^a Diferença estatística em relação as células estimuladas com IFN- γ + LPS e tratadas com DMSO ($P < 0,05$). ^b Diferença estatística em relação as células não tratadas e estimuladas com IFN- γ + LPS ($P < 0,05$). ^c Diferença estatística em relação as células não estimuladas e não tratadas (Basal) ($P < 0,05$). ^d Diferença

estatística em relação a concentração de 150 µg/mL ($P < 0,05$). ^e Diferença estatística em relação a concentração de 300 µg/mL ($P < 0,05$). ANOVA seguindo teste de Bonferroni.



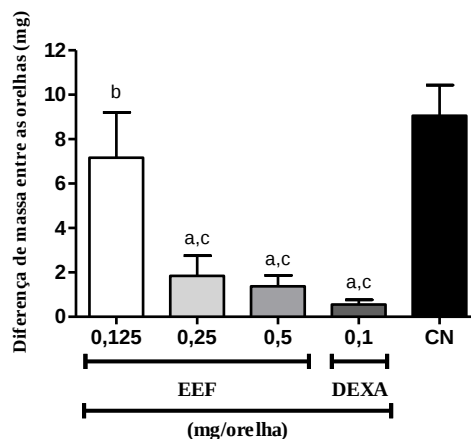
Atividade anti-inflamatória *in vivo*

O modelo de edema de orelha induzido pelo óleo de Cróton permite avaliar a atividade anti-inflamatória em nível de pele, de extratos vegetais, quando administrados topicamente ou mesmo de maneira sistêmica (GÁBOR, 2003; PINTO *et al.*, 2012). O óleo de Cróton, utilizado nesse estudo, contém o 12-o-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) e outros ésteres de forbol, responsáveis por seu efeito irritante. O TPA é ativador da proteína quinase C (PKC) que, por sua vez, ativa proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK) e enzima fosfolipase A₂ (PLA₂), a qual favorece a liberação do fator de ativação plaquetária (PAF) e do ácido araquidônico (AA). Esses mecanismos induzem o aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, migração leucocitária, liberação de histamina e serotonina, e produção de eicosanoides sintetizados pelas enzimas ciclo-oxigenase (COX) e 5-lipoxigenase (5-LPOX) (SARAIVA *et al.*, 2011; PINTO *et al.*, 2012).

A aplicação tópica do óleo de Cróton na orelha dos camundongos sem tratamento (CN) promoveu um aumento significativo da massa da orelha e, quando tratadas com dexametasona (Controle positivo) e extrato observou-se reduções significativas da massa da orelha para cada concentração testada (Figura 5).

Figura 5 - Atividade anti-inflamatória *in vivo* após 6 horas de tratamento. Diferença de massa entre as orelhas tratadas com extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF) e dexametasona (DEXA). CN - Controle negativo (veículo). ^a

Diferença estatística em relação ao controle negativo (CN) ($P<0,05$). ^b Diferença estatística em relação a dexametasona ($P<0,05$). ^c Diferença estatística em relação a concentração de 0,125 mg/orelha ($P<0,05$). ANOVA seguindo teste de Bonferroni.



O efeito anti-inflamatório do extrato foi bastante expressivo, uma vez que as concentrações de 0,25 mg/orelha 0,5 mg/orelha reduziram o edema em aproximadamente 80%, com mesma eficiência do controle positivo dexametasona ($P>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito anti-inflamatório tópico extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF). ^a Diferença estatística em relação a dexametasona ($P<0,05$). ^b Diferença estatística em relação a concentração de 0,125 mg/orelha ($P<0,05$).

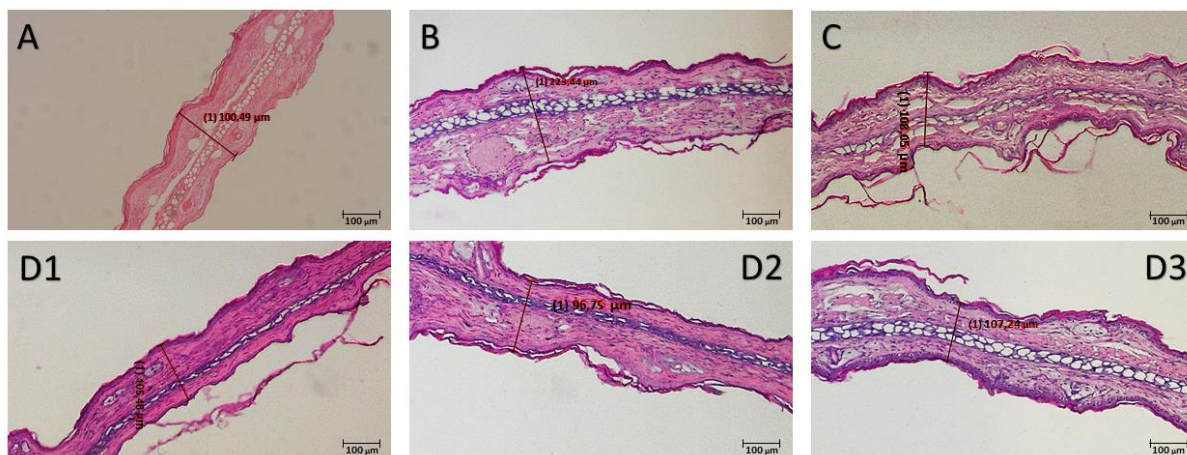
ANOVA seguido de teste de Bonferroni.

Grupo	Concentração nominal de extrato (mg/mL)	Massa do edema (mg)	% Inibição do edema
CN	-	9,05 ± 2,77	0
Dexametasona	5,00	0,55 ± 0,42	93,9
EEF	6,25	6,71 ± 2,95	25,8 ^a
	12,5	1,85 ± 1,80	79,5 ^b
	25,0	1,37 ± 0,97	84,8 ^b

A partir das análises histológicas do tecido da orelha, foi possível confirmar a redução do edema. As fotomicrografias revelaram que as orelhas edemaciadas no grupo não tratado e estimulado com óleo de Cróton (Fig. 6B, CN) mostraram um aumento significativo na espessura da orelha em comparação a orelha sem estímulo

e não tratada (Fig. 6A, Basal). A presença do TPA provocou um edema expressivo, acompanhado pela ruptura do tecido conjuntivo, com desorganização das fibras da matriz extracelular (PINTO *et al.*, 2012). No entanto, a dexametasona (Fig. 6C) produziu um efeito anti-inflamatório pronunciado, com redução acentuada na espessura da orelha e infiltração leucocitária, além da integridade das fibras da matriz extracelular e tecido conjuntivo.

Figura 6 - Fotomicrografias de cortes transversais das orelhas coletadas após 6 horas de tratamento com extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF) e dexametasona. Lâminas coradas com hematoxilina-eosina, em aumento de 10x e escala de 100 μ m. (A) grupo não estimulado e não tratado (Basal); (B) grupo não tratado e estimulado com óleo de Cróton (CN); (C) grupo estimulado e tratado com dexametasona; (D1) grupo estimulado e tratado com EEF 0,125 mg/orelha; (D2) grupo estimulado e tratado com EEF 0,25 mg/orelha; (D3) grupo estimulado e tratado com EEF 0,5 mg/orelha.



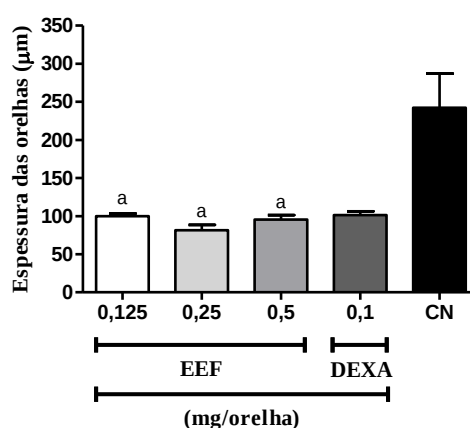
Analizando ainda a intensidade do edema, bem como a integridade das orelhas nas imagens acima, observa-se que em todas as concentrações de EEF os fragmentos estão mais íntegros e com menor espessura em comparação ao CN.

A área central do corte histológico é caracterizada pela presença de edema em proporções mais significativas em relação à base e ponta. Isso se deve à maior vascularização da região e, portanto, maior extravasamento de líquido e infiltração leucocitária. Aqui todas as concentrações dos extratos mostraram uma diferença significativa em relação ao grupo tratado com o veículo ($P < 0,05$). A redução da

espessura da orelha pelo extrato foi maior ou igual a 60%, mostrando que essas concentrações foram eficazes e equivalentes à dexametasona ($P>0,05$) (Figura 7).

Figura 7 - Espessura da região central dos cortes histológicos após aplicação de óleo de Cróton e tratamento com extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF) e dexametasona (DEXA). ^a Diferença estatística em relação ao CN ($P<0,05$).

ANOVA seguido de teste de Bonferroni



Apesar da eficácia dos glicocorticoides na terapia da inflamação, como a própria dexametasona, uma série de efeitos adversos associados a esses fármacos são muito comuns e bem documentados, sobretudo no uso prolongado. Alternativas para contornar tais efeitos estão sendo intensivamente pesquisados por pesquisadores, dentre eles o uso de produtos naturais bioativos tem ganhado importância, devido ao seu baixo potencial toxicológico e alta eficácia terapêutica (VALLE, 2018). Portanto, um resultado anti-inflamatório tópico acima de 80%, como demonstrado para EEF, com significância estatística, representa uma vantagem importante em relação aos anti-inflamatórios atualmente disponíveis.

CONCLUSÃO

Através do doseamento de fenóis totais, flavonoides e taninos, foi possível verificar que o EEF apresentou alto teor de fenóis e teor de flavonoides superior ao de taninos. Tal achado foi confirmado pela identificação de substâncias dessas classes de metabólitos por meio da técnica de HPLC-MS-Q-TOF. O extrato mostrou atividade antioxidante promissora para todas as vias de oxidação testadas. A viabilidade celular

acima de 70%, em células de macrófagos peritoneal, mostrou que o extrato é seguro para ser testado em ensaios *in vivo*. Nos testes de atividade anti-inflamatória *in vitro* e *in vivo*, EEF revelou resultados promissores, com redução do óxido nítrico e inibição do edema de orelha em torno de 95 e 80 %, respectivamente. Esses resultados abrem novas perspectivas para o tratamento do processo inflamatório e no combate de doenças relacionadas a produção de radicais livres, como os cânceres, a própria inflamação e até o envelhecimento precoce. No entanto, mais estudos são necessários para investigar mecanismos de ação das substâncias bioativas e confirmar a correlação estrutura/atividade farmacológica.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal Science Food Agriculture**, v. 92, n. 8, p. 1679-1687, 2012.
- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region northeast of Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, p. 472-508, 2008.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira – Monografias Plantas Medicinais**. 6ª ed. Brasília, v. 2, PM017-00, 2019.
- ARAÚJO, C. R.; ESTEVES, E. A.; DESSIMONI-PINTO, N. A.; BATISTA, A. G. *Myrciaria cauliflora* peel flour had a hypolipidemic effect in rats fed a moderately high-fat diet. **Journal Medice Food**, v. 17, n. 2, p. 262-267, 2014.
- AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, p. 1-31, 2014.
- BAILÃO, E.; DEVILLA, I.; DA CONCEIÇÃO, E.; BORGES, L. Bioactive compounds found in Brazilian cerrado fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 23760-23783, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CHAVASCO, J. M.; PRADO E FELIPHE, B. H.; CERDEIRA, C. D.; LEANDRO, F. D.; COELHO, L. F.; *et al.* Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from southern Minas Gerais cerrado. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 56, n. 1, p. 13- 20, 2014.

DRAGANO, N. R.; MARQUES, A. Y.; CINTRA, D. E.; SOLON, C.; MORARI, J.; *et al.* Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. *British Journal of Nutrition*, v. 110, n. 3, p. 447-55, 2013.

DOWD, L. E. Spectrophotometric determination of quercetin. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 7, p. 1184-1187, 1959.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH•. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

FANG, L.; CHANG, H. M.; CHENG, J. C.; LEUNG, P. C; SUN, Y. P. Nitric Oxide and cGMP Induce COX-2 Expression and PGE2 Production in Human Granulosa Cells Through CREB Signaling Pathway. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 100, n. 2, p. 262-269, 2015.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, v. 73, p. 627, 1927.

FORTES, G. A.; NAVES, S. S.; GODOI, F. F.; DUARTE, A. R.; FERRI, P. H.; SANTOS, S.C. Assessment of a maturity index in jaboticaba fruit by the evaluation of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity. *American Journal of Food Technology*, v. 6, n. 11, p. 974-984, 2011.

FIDELISA, M.; SANTOSA, J. S.; ESCHERA, G. B.; ROCHAB, R. S.; CRUZB, A. G.; CRUZC, T. M.; *et al.* Polyphenols of jaboticaba [*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O.Berg] seeds incorporated in a yogurt model exert antioxidant activity and modulate gut microbiota of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Food Chemistry*, v. 334, n. 127565, p. 1-7, 2020.

GÁBOR, M. Models of acute inflammation in the ear. *In* WINYAR, P. G.; WILLOUGH, D. A. **Inflammation protocols**, New Jersey: Human Press, 2003. p. 129-131.

GREEN, L. C., WAGNER, D. A., GLOGOWSKI, J., SKIPPER, P. L., WISHNOK, J. S., TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*, n. 126, p. 131-138, 1982.

HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; COSTA, C. R.; CUNHA, G.; VIEIRA, D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 22, n. 8, p. 2559-2569, 2017.

IDEMIR, C.; MOESES, A. D.; SIMONE, A. Z. Jabuticabeiras. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, n. 2 p. 343-656, 2010.

ISO, E. N. 10993-5. Biological Evaluation of Medical Devices. Part 5: **Tests for In Vitro Cytotoxicity**. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2009.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412–422, 2011.

LEITE-LEGATTI, A. V.; BATISTA, A. G.; DRAGANO, N. R.; MARQUES, A. C.; MALTA, L. G. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 596-603, 2012.

LIMA, Annete de Jesus Boari. **Caracterização e Atividade Antioxidante da Jaboticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**. 2009. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

LINK, A.; BALAGUER, F.; GOEL, A. Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. **Biochemical Pharmacology**, v. 80, p. 1771-1792, 2010.

LOBO DE ANDRADE, D. M.; REIS, C. F.; CASTRO, P. F.; BORGES, L. L.; AMARAL, N. O.; TORRES, I. M.; *et al.* Vasorelaxant and Hypotensive Effects of Jaboticaba Fruit (*Myrciaria cauliflora*) Extract in Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-8, 2015.

MELO, M. S.; MANCINI FILHO, J. Antioxidantes naturais do fruto do dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq). **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 25, n. 2, p.147-157, 1989.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN-BEER, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and plant extracts. **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 231-237, 2004.

MMA. Ministério do Meio Ambiente (2014). Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/mma-em-numeros/biodiversidade-flora>> Acesso em 16/12/2018.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NASCIMENTO, R. J.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 209-16, 2010.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

PALOZI, R. A.; GUARNIER, L. P.; ROMÃO, P. V.; NOCCHI, S. R.; DOS SANTOS, C. C.; *et al.* Pharmacological safety of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel in rabbits. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 616-624, 2019.

PLAZA, M.; BATISTA, A. G.; CAZARIN, C. B.; SANDAHL, M.; TURNER, C.; ÖSTMAN, E.; JÚNIOR, M. R. Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. **Food Chemistry**, v. 211, p. 185–197, 2016.

PINTO, Nícolas de Castro Campos. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas das folhas de *Pereskia aculeata* Miller (CACTACEAE)**. 2012. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2012.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, A. M.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, M. J. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1228-1230, 2006.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, vol. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

SARAIVA, R. A.; ARARUNA, M. K.; OLIVEIRA, R. C.; MENEZES, K. D.; LEITE, G.O.; *et al.* Topical anti-inflammatory effects of *Caryocar cariaceum* Wittm. (Caryocaraceae) fruit fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 504-510, 2011.

SCHIANTARELLI, P.; CADEL, S.; ACERBI, D.; PAVESI, L. Anti-inflammatory activity and Bioavailability of percutaneous piroxicam. **Arzneimittel Forschung/Drug Research**, v. 32, p. 230-235, 1982.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; MOREIRA, R. R.; SACRAMENTO, L. V.; PIETRO, R. C. Histochemical, phytochemical and biological screening of *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, Myrtaceae, leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p. 48-53, 2010.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SEVERI, J. A.; SANTOS, E.; SILVA, V. Y.; VILEGAS, W.; *et al.* Chemical and antidiarrheal studies of *Plinia cauliflora*. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, p. 1590-1596, 2011.

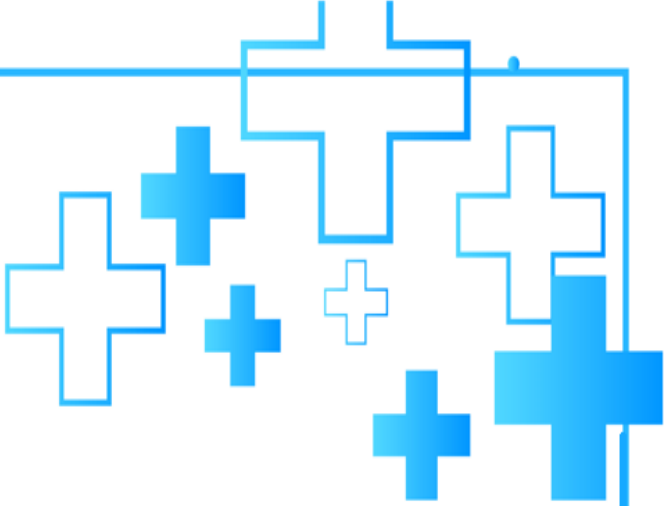
SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, p. 263-269, 2012.

VALLE, A. L. Current methodologies in assessing the toxicity of natural products. **International Journal Phytocosmetics and Natural Ingredients**, v. 5, n. 3, 2018.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 763-778, 2018.

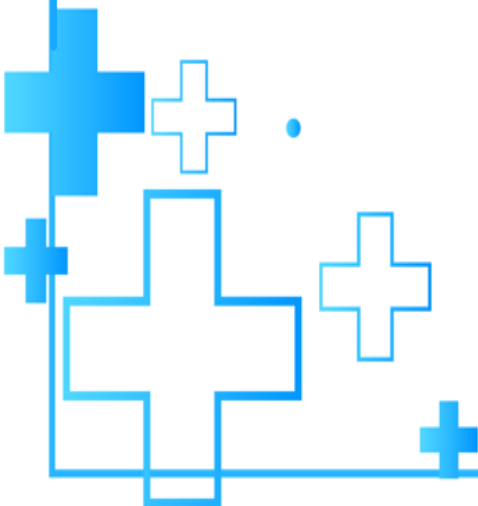
YADAV, U. C.; RAMANA, K. V. Regulation of NF- κ B-Induced Inflammatory Signaling by Lipid Peroxidation-Derived Aldehydes. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-11, 2013.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. *In vitro* antioxidant properties of rutin. **LWT- Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1060-1066, 2008.



Biografias

CURRÍCULOS DOS AUTORES



Ângelo Márcio Leite Denadai

Possui graduação em Química Industrial pela Universidade Vale do Rio Doce, Mestrado em Agroquímica pela Universidade Federal de Viçosa e Doutorado em Química pela Universidade Federal de Minas Gerais. Tem experiência na área de Química, com ênfases em Físico-Química e Química Inorgânica, atuando principalmente nos seguintes ramos: Nanotecnologia, Sistemas Coloidais, Encapsulamento Molecular e Propriedade Intelectual. É bolsista de produtividade do CNPq em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora. Foi Diretor do Instituto de Ciências da Vida da UFJF Campus Governador Valadares (2016-2021) e Diretor Geral do Campus Avançado da UFJF em Governador Valadares (2021-2025).

Árina Oliveira Reis da Paixão

Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora.

Dafne Dayse Bezerra Macedo

Farmacêutica pela Universidade Federal da Paraíba-UFPB e Residente em Atenção ao Câncer e Cuidados Paliativos pela Asces-Unita.

Daniel Tenório da Silva

Professor Dr. da Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF.

Elaine da Silva Leite

Farmacêutica pela Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF e Residente em Atenção ao Câncer e Cuidados Paliativos pela Asces-Unita.

Felipe Gomes da Costa Oliveira

Técnico Administrativo em Educação na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Géssica de Souza Sena

Farmacêutica pela Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF.

Igor José de Souza Marques

Farmacêutico pela Asces-Unita e Residente em Atenção ao Câncer e Cuidados Paliativos pela Asces-Unita.

Janiny Maria Araújo Garcia

Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora.

Jessyca Wanessa Soares Araujo Silva

Farmacêutica pela Asces-Unita e Residente em Atenção ao Câncer e Cuidados Paliativos pela Asces-Unita.

Jhuly Aurora Assunção Gouvêa

Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora.

Joel Alexandre Meira

Químico.

Juliana de Carvalho da Costa

Professora na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Kátia Aparecida Nunes da Silva

Graduanda em Farmácia na Universidade Federal de Juiz de Fora.

Lais Alves Marques

Mestre pela Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF.

Priscila de Lima Paula

Doutoranda pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo PPGCF da UFJF. Graduada em Farmácia, com ênfase em Indústria de Medicamentos e Cosméticos, pela Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Tem experiência na área de Produtos Naturais Bioativos e Nanotecnologia. Atua como pesquisadora realizando experimentos de extração, elucidação e caracterização de produtos naturais; encapsulamento molecular de substâncias bioativas; caracterização de complexos supramoleculares nanoestruturados; e ensaios biológicos in vitro e in vivo.

Rodrigo Luiz Fabri

Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas pela UFJF. Tem experiências nas áreas de química e atividades biológicas de produtos naturais.

Rogério Luis Bortoluzzi

Gerente cervejeiro.

Thiago Martins Pais

Farmacêutico.

Vanessa Temponi de Melo

Técnica Administrativa em Educação na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Jader Luís da Silveira

(Organizador)

Possui Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG, MBA Executivo em Saúde pela Universidade Candido Mendes - UCAM, Especialização em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Candido Mendes - UCAM, Especialização em Uso Educacional da Internet pela Universidade Federal de Lavras - UFLA, Especialização em Gestão de Instituições Federais de Educação Superior na Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Especialização em Docência com Ênfase na Educação Básica pelo Instituto Federal Minas Gerais - IFMG e Especialização em Docência com Ênfase na Educação Inclusiva, pelo Instituto Federal Minas Gerais - IFMG.

Fundador e Membro do Conselho Editorial da Revista MultiAtual e Revista Real Conhecer. Tem experiência como Professor no Ensino Fundamental, Médio e Técnico na Rede Estadual de Ensino, além de Tutor a Distância nos cursos de formação continuada e Pós-graduação no IFMG. É Fundador e Diretor Geral do Grupo MultiAtual Educacional.



ISBN 978-658997609-7




Editora
MultiAtual