

ISSN 2675-276X



Volume 1, Número 2
Agosto de 2020

Health and Biosciences

Agosto de 2020

Volume 1, Número 2

Editor-Chefe

Marco Antônio Andrade de Souza (UFES, São Mateus, ES, Brasil)

Editores Associados

Adriana Nunes Moraes Partelli (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Ana Paula Costa Velten (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Anelise Andrade de Souza (FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG, Brasil)
Débora Barreto Teresa Gradella (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Diego Guimarães Florêncio Pujoni (UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil)
Elisa Mitsuko Aoyama (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Fabiana Vieira Lima (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Flávia Dayrell França (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Gracielle Ferreira Andrade (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Hudson Alves Pinto (UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil)
Karina Carvalho Mancini (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Marcelo Antônio Oliveira (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Marco Antônio Andrade de Souza (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Paola Rocha Gonçalves (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Ricardo Andrade Barata (UFVJM, Diamantina, MG, Brasil)
Sandro Eugênio Pereira Gazzinelli (COLÉGIO MILITAR, Belo Horizonte, MG, Brasil)
Valquíria Camin de Bortoli (UFES, São Mateus, ES, Brasil)

Universidade Federal do Espírito Santo

Reitor: Paulo Sérgio Vargas

Vice Reitor: Roney Pignaton da Silva

Centro Universitário Norte do Espírito Santo

Diretor: Luiz Antônio Favero Filho

Vice Diretora: Ana Beatriz Neves Brito

Departamento de Ciências da Saúde

Chefe: Débora Barreto Teresa Gradella

Subchefe: Susana Bubach

Projeto Gráfico e Diagramação

Marco Antônio Andrade de Souza

Capa

Karina Carvalho Mancini

Acesso na internet

<https://periodicos.ufes.br/healthandbiosciences>

Endereço para correspondência

Centro Universitário Norte do Espírito Santo
Rodovia Governador Mário Covas, Km 60, s/n
Bairro Litorâneo, CEP 29.932-540
São Mateus, ES, Brasil
Fone: (27) 3312-1544
E-mail: healthandbiosciences@ufes.br

Health and Biosciences - HB

Departamento de Ciências da Saúde, Centro Universitário Norte do Espírito Santo,
v.1, n.2 (Agosto, 2020). São Mateus: DCS/CEUNES (2020)

Quadrimestral - ISSN 2675-276X (online)

1. Ciências Farmacêuticas. 2. Ciências Biológicas. 3. Ciências da Saúde. 4. Ensino.

SUMÁRIO

Editorial.....	4
Desenvolvimento dos primeiros sinais clínicos de alterações da gordura corporal em pessoas vivendo com HIV: Revisão integrativa da literatura	
<i>Guimarães et al.</i>	5
The Distribution and Analysis of Spatial Autocorrelation of Fruit Fly on Red Chili Cultivation in Cirebon, West Java, Indonesia	
<i>Anisa & Syamsudin</i>	17
Associação entre as características sociodemográficas e sintomas da COVID-19 em pacientes residentes do Espírito Santo, Brasil.....	
<i>Calieri et al.</i>	32
Knowledge about cleaning and maintenance of household water reservoirs in one of the oldest municipalities of Brazil.....	
<i>Nunes et al.</i>	52
Análise parasitológica de frutas consumidas com casca, comercializadas em supermercados de uma cidade do sudeste do Brasil	63
<i>Fiorido & Souza</i>	
Tratamento do fibro edema geloide no glúteo com a utilização da radiofrequência e endermoterapia	
<i>Gonçalves et al.</i>	77
Impacto Toxicológico de Metais Pesados: Uma Análise de Efeitos Bioquímicos e Celulares.....	
<i>Moschem & Gonçalves</i>	88
Estudos de docking molecular da interação de Bis-purinas com acetilcolinesterase para o tratamento da Doença de Alzheimer	
<i>Velloso et al.</i>	101

Editorial

Bem-vindos ao segundo número da Health and Biosciences!!!

Seguindo a trajetória desse periódico que se iniciou em 22 de abril de 2020, data comemorativa do descobrimento do Brasil, o Health and Biosciences apresenta, nesse segundo número, manuscritos sobre vírus, enteroparasitos, qualidade de água, impactos toxicológicos de metais pesados, insetos e cultivo de frutas, tratamentos estéticos e moléculas químicas no tratamento de doenças humanas.

Os convidamos para uma viagem, conosco, no universo da literatura científica e esperamos encontrá-los por aqui.

Marco Antônio Andrade de Souza

**Desenvolvimento dos primeiros sinais clínicos de alterações da gordura corporal
em pessoas vivendo com HIV: Revisão integrativa da literatura**

Development of the first clinical signs of changes in body fat in people living with HIV: Integrative
literature review

*Nathalia Sernizon Guimarães¹, Milena Maria Moreira Guimarães², Anny Caroline Messias³,
Gabriela Fonseca Lopes³, Anelise Andrade de Souza⁴, Sônia Maria de Figueiredo⁵*

¹Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Nutrição, Programa de Pós-Graduação
em Saúde e Nutrição, Escola de Nutrição, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil

²Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Clínica Médica-Endocrinologia,
Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

³Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Nutrição, Programa de Pós-Graduação
em Saúde e Nutrição, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil

⁴Instituto René Rachou, Fiocruz Minas, Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva,
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

⁵Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Alimentos, Escola de Nutrição,
Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil

Autor para correspondência: Sônia Maria de Figueiredo

Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Alimentos

Campus Morro do Cruzeiro, s/n, Bauxita, CEP 35400-000, Ouro Preto, Minas Gerais,
Brasil

Tel: +55 31 98896 4089

Email: smfigue@gmail.com

Submetido em 27/06/2020

Aceito em 7/07/2020

RESUMO

A lipodistrofia é um dos diversos problemas metabólicos associados à infecção pelo Human Immunodeficiency Virus (HIV). Vem sendo associada ao estigma social, ao abandono da terapia antirretroviral (TARV) e ao consequente aumento da morbimortalidade. O objetivo deste trabalho foi responder a pergunta norteadora “Qual a incidência da lipodistrofia e o tempo médio dos primeiros sinais clínicos em pessoas vivendo com o HIV?” através da revisão integrativa realizada na Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Literatura Internacional em Ciências da Saúde (PubMed) e com a utilização dos seguintes descritores: Lipodystrophy, HIV-Associated Lipodystrophy Syndrome, Body Fat Distribution, Intra-Abdominal Fat, Abdominal Fat, Subcutaneous Fat, Fat Body, Adipose Tissue, Adiposity, Incidence, Epidemiology, HIV, AIDS. Após o crivo metodológico, sete estudos foram selecionados entre os anos de 2002 e 2014. Na síntese dos resultados encontrados, constatou-se que, após 12 meses de TARV, 19,7% dos pacientes avaliados pelos estudos apresentaram lipoatrofia e 27,25% apresentaram lipohipertrofia. A incidência da lipodistrofia mista foi avaliada por apenas um dos estudos, com taxa de incidência de 13 a cada 100 indivíduos avaliados. Segundo os estudos encontrados por esta revisão, os primeiros sinais da lipodistrofia podem aparecer no período de 1 ano de avaliação clínica após exposição a TARV. Estes dados sugerem que a redistribuição de gordura pode ser uma condição aguda associada à infecção pelo HIV.

Palavras-chave: Síndrome Lipodistrófica Associada ao HIV. Distribuição de Gordura Corporal. Composição Corporal. Sinais e Sintomas. Nutrição.

ABSTRACT

Component of several metabolic issues associated with the Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection, the lipodystrophy has been associated with a social stigma, the antiretroviral therapy abandonment, and the increase of morbimortality. The aim of this review was to respond to the leading question: “What is the incidence of lipodystrophy, and the mean time for the first clinical symptoms in people living with HIV?” The integrative review was performed in Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Health Science International Literature (PubMed), using the descriptors: Lipodystrophy, HIV-Associated Lipodystrophy Syndrome, Body Fat Distribution, Intra-Abdominal Fat, Abdominal Fat, Subcutaneous Fat, Fat Body, Adipose Tissue, Adiposity, Incidence, Epidemiology, HIV, AIDS. Subsequently to the methodological sieve, seven studies were selected between the years 2002 and 2014. Synthesizing the results, it was found that, after 12 months of antiretroviral treatment, 19.7% of the assessed patients presented lipoatrophy, and 27.25% lipohypertrophy. In one of the studies, which evaluated mixed lipodystrophy, the incidence was 13 out of 100 individuals. According to the studies found in this review, the primary lipodystrophy signs may appear in the first year after the antiretroviral treatment exposure. These data suggest that the fat redistribution may be associated with an acute condition of HIV infection.

Keywords: HIV- Associated Lipodystroph Syndrome. Body Fat Distribution. Body Composition. Signs and Symptoms. Nutrition.

INTRODUÇÃO

Segundo as estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), 30 a cada 100 mil habitantes se infectaram pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), em todo o mundo (WHO, 2019; UNAIDS, 2020), provocando inúmeros problemas metabólicos.

Alterações na composição de gordura são desfechos frequentemente observados em pessoas vivendo com HIV quando comparados à população geral (STANLEY & GRINSPOON, 2012; KIBIRIGE & SSEKITOLEKO, 2013; SANTOS et al., 2019). O termo Síndrome Lipodistrófica associada ao HIV (SLHIV) foi mencionado primeiramente por CARR et al. (1998) como sendo alterações da distribuição da gordura corporal, que podem provocar inúmeras modificações no metabolismo destes indivíduos.

Além das mudanças no perfil metabólico como dislipidemias, síndrome metabólica e *diabetes mellitus* do tipo 2, a SLHIV pode estar associada ao estigma social e abandono do tratamento pela terapia antirretroviral (TARV) (COLLINS et al., 2000; POWER et al., 2003; VALENTE et al., 2005; SIGNORINI et al., 2012; BERALDO et al., 2017). Estes fatores influenciam no aumento dos processos de morbimortalidade associados à infecção pelo HIV (COLLINS et al., 2000; BLANCH et al., 2002; POWER et al., 2003; DAI et al., 2019; GRAND et al., 2020).

Visto que a lipodistrofia pode estar relacionada a mudanças do perfil metabólico, ao estigma social e ao abandono da TARV, este artigo tem por objetivo revisar a literatura e responder a pergunta-central: “Qual a incidência da lipodistrofia e o tempo médio dos primeiros sinais clínicos em pessoas vivendo com HIV?”.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura realizada nas bases de dados Literatura Internacional em Ciências da Saúde (PubMed) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). A definição das palavras-chave (descritores/unitermos) foi realizada mediante consulta às bases de descritores *Medical Subject Headings* (MeSH) e Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). As palavras-chave foram pareadas entre dois grupos utilizando os seguintes operadores booleanos de pesquisa: “AND” e “OR”.

Dois autores extraíram os dados de forma independente. As discrepâncias foram identificadas e avaliadas por um terceiro autor. Os critérios de elegibilidade englobaram: (i) estudos transversais, longitudinais, caso-controle e ensaios clínicos que caracterizaram a

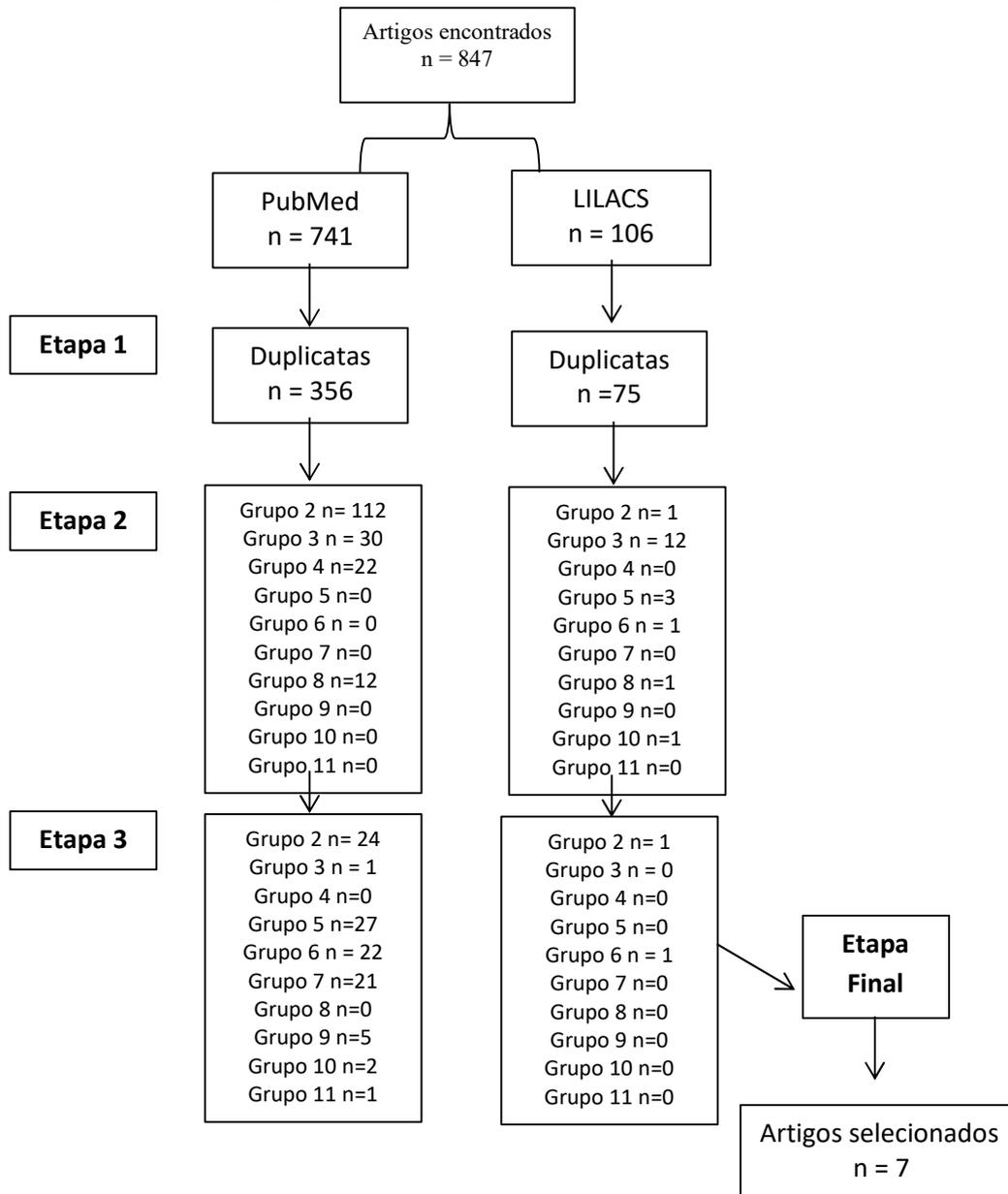
lipodistrofia; (ii) estudos que avaliaram a incidência de lipodistrofia; (iii) estudos realizados com pessoas vivendo com HIV de ambos os sexos e com faixa etária compreendida entre 18 e 60 anos. Os critérios de exclusão foram classificados em grupos: (i) Grupo 1 - artigos em duplicata; (ii) Grupo 2 - estudo de revisão; (iii) Grupo 3 - pesquisas realizadas com indivíduos fora da faixa etária estabelecida (<18 ou >60 anos); (iv) Grupo 4 - guias, diretrizes ou recomendações; (v) Grupo 5 - estudos que não caracterizaram a lipodistrofia; (vi) Grupo 6 - estudos realizados com indivíduos lipodistróficos; (vii) Grupo 7 - estudos que não avaliaram a incidência de lipodistrofia; (viii) Grupo 8 - estudos que avaliaram somente lipoatrofia facial; (ix) Grupo 9 - estudos realizados com amostra de pessoas vivendo com HIV muito específicas, por exemplo, usuários de drogas ilícitas ou atletas; (x) Grupo 10 - temática não condizente ao objetivo desta revisão; (xi) Grupo 11 - série de casos ou relatos de caso. Não houve restrição quanto ao idioma ou ano de publicação dos estudos.

RESULTADOS

O pareamento de descritores resultou em 847 artigos. A primeira etapa consistiu na exclusão de 431 estudos duplicados. Após a aplicação dos critérios de inclusão pela leitura de títulos e resumos, 308 artigos foram descartados. Na etapa de análise textual, 104 estudos foram excluídos por apresentarem informações insuficientes. Após o crivo metodológico sete estudos foram incluídos (Figura 1).

Quanto ao desenho de estudo, seis pesquisas eram coortes (HEALTH et al., 2002a; HEALTH et al., 2002b; MALLON et al., 2003; JACOBSON et al., 2005; WALMSLEY et al., 2008; DRAGOVIC et al., 2014) e uma estudo transversal (JOLY et al., 2002) (Tabela 1). O cálculo amostral não foi demonstrado pelos estudos selecionados. Dos seis estudos (JOLY et al., 2002; HEALTH et al., 2002a; HEALTH et al., 2002b; MALLON et al., 2003; WALMSLEY et al., 2008; DRAGOVIC et al., 2014) que citaram a forma de alocação dos indivíduos, todos optaram pela amostragem por conveniência (Tabela 1).

Figura 1. Crivo metodológico



Nota: n: amostra; LILACS: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde; PubMed: Literatura Internacional em Ciências da Saúde; SCIELO - Scientific Electronic Library Online. Etapa 1 - Remoção de duplicatas por leitura de títulos; Etapa 2 - Aplicação dos demais critérios de exclusão por leitura de títulos; Etapa 3 - Aplicação dos critérios de exclusão por leitura de resumos; Etapa final - Aplicação dos critérios de exclusão por análise textual. Grupo 1 - artigos em duplicata; Grupo 2 - estudo de revisão narrativa ou sistemática; Grupo 3 - pesquisas realizadas com indivíduos fora da faixa etária de 18-60 anos; Grupo 4 - guias, diretrizes ou recomendações; Grupo 5 - estudos que não citaram a definição de lipodistrofia avaliada; Grupo 6 - estudos realizados com indivíduos que já possuíam lipodistrofia; Grupo 7 - estudos que não avaliaram medidas de risco; Grupo 8 - estudos que avaliaram somente a lipoatrofia facial; Grupo 9 - estudos realizados com amostra de PVHA muito específicas, por exemplo, usuários de drogas ilícitas; Grupo 10 - temática não atribuída ao objetivo desta revisão e Grupo 11- estudo de série de casos ou relato de caso.

Tabela 1. Síntese dos artigos selecionados na presente revisão integrativa, 2020.

Autor, ano de publicação, local do estudo	Delineamento Amostral/ Cálculo Amostral	Amostra (N, sexo, faixa etária)	Mensuração da LD	Incidência da LD
Dragovic et al., 2014 (Belgrado, Sérvia)	Coorte (9 anos) Conveniência/S.I.	N= 840 ♂ (72,4%) Mediana = 43,5 (22-58)	<i>Clinico</i> : exame físico como descrito nas diretrizes da Sociedade Europeia Clínica AIDS	50% apresentaram em sete anos de uso da TARV e 100% apresentaram em 10 anos de uso da TARV
Heath et al., 2002 (Vancouver, Canadá)	Coorte (12 meses) Conveniência/S.I.	N= 366 ♂ (89,0%) Média = 38	<i>Auto-relato</i>	29% por lipohipertrofia 23% por lipoatrofia 9% colesterol ou TG aumentado 13% mista
Heath et al., 2002 (Vancouver, Canadá)	Coorte (6 anos) Conveniência/S.I.	N= 745 ♂ (94,0%) ♀ (6,0%) Mediana = 42 (37-49)	<i>Auto-relato</i>	20,8% por lipohipertrofia '6,0% buffalo-hump' 27,2% por lipoatrofia 32,9% por lipodistrofia
Jacobson et al., 2005 (Boston, EUA)	Coorte (12 meses) S.I./S.I.	N= 452 ♂ (67,9%) Mediana: ♂ 44(39-48) ♀ 41 (36-46)	<i>Clinico</i> : antropometria (lipoatrofia DCT < percentil 10, de acordo com o sexo e a idade do paciente (♂ < 6 mm ♀ < 14 mm); RCQ para avaliar excesso de gordura - RCQ ♂ > 0,95 ♀ > 0,85; lipodistrofia mista quando DCT < percentil 10 + RCQ ♂ > 0,95 ♀ > 0,85	Incidência acumulada: 22% por lipoatrofia 23% por lipohipertrofia
Joly et al., 2002 (Paris, França)	Subestudo Transversal de um ensaio clínico (30 meses) Conveniência/S.I.	N= 110 ♂ (81,2%) * Mediana (D4t/3TC/IDV): 38 (32-42) (ZDV/3TC/IDV): 39 (34-39)	<i>Auto-relato + Exame clínico</i> : exame físico	Lipoatrofia de membros inferiores: d4T (49%); ZDV (22%); Atrofia de nádegas d4T(47%); ZDV(20%) Venomegalia d4T (57%); ZDV(24%)
Mallon et al., 2002 (Darlinghurst)	Coorte (96 meses) Conveniência/ S.I.	N= 40 ♂ (100,0%) Mediana: 39 (30,3-48,8)	<i>Clinico</i> : DXA, antropometria (CA), exames bioquímicos (CT, LDL-c, TG, glicose)	24 semanas de TARV lipoatrofia: 13,6%
Walmsley et al., 2008 (Toronto) ¹⁷	Coorte (36 meses) Conveniência/ S.I.	N= 68 ♂ (85,0%) Mediana: 38,7 (35,2-44,6)	<i>Clinico</i> : antropometria (IMC, CC, CQ, CB, DCB, DCT, DCSE, DCSI), DXA e fotografia	Lipoatrofia por membros: 7%; %GC 14% Lipohipertrofia por membros: 36%; %GC 16%

Nota: et al. - colaboradores; SI - sem informação; ♂ - homens; ♀ - mulheres; 3TC - lamivudina; AZT - zidovudina; CA - circunferência abdominal; CB - circunferência do braço; CC - circunferência da cintura; CQ - circunferência do quadril; Ct - colesterol total; d4T - estavudina; DCB - dobra cutânea bicipital; DCSE - dobra cutânea subescapular; DCSI - dobra cutânea supra-iliaca; DCT - dobra cutânea tricípital; ddl - Didanosina; DP - desvio-padrão; DXA - absorciometria por raio-X de dupla energia; FR - Fator de Risco; HDL-c - colesterol HDL; IMC - Índice de Massa Corporal; IP - inibidor de protease; LDL-c - colesterol LDL; NA - não aplicável; RCQ - relação cintura-quadril; RTV- ritonavir; Sem. - semana; SQV- saquinavir; TARV - terapia antirretroviral; TG - triglicerídeos; ZDV - zidovudina.

Dos 2.621 voluntários avaliados, 2.128 (81,2%) eram homens. A faixa etária observada foi de 22 a 58 anos (Tabela 1). Três pesquisas avaliaram a lipodistrofia em relação ao auto-relato do paciente (JOLY et al., 2002; HEALTH et al., 2002a; HEALTH et al., 2002b), quatro avaliaram por exame clínico (MALLON et al., 2003; JACOBSON et al., 2005; WALMSLEY et al., 2008; DRAGOVIC et al., 2014) e apenas uma pesquisa considerou a combinação entre o auto-relato do paciente e o exame clínico (JOLY et al., 2002). Dos estudos que avaliaram a lipodistrofia por meio do exame clínico exclusivo ou combinação entre o auto-relato e o exame clínico (n=5), dois utilizaram parâmetros antropométricos associados a absorciometria por raio-X de dupla energia (DXA) (MALLON et al., 2003; WALMSLEY et al., 2008), um apenas antropometria (JACOBSON et al., 2005), um exame bioquímico (MALLON et al., 2003), e um por fotografia (WALMSLEY et al., 2008). Um estudo analisou a lipodistrofia segundo as diretrizes da Sociedade Europeia Clínica da AIDS (DRAGOVIC et al., 2014). A avaliação exclusiva por auto-relato do paciente foi utilizada em dois estudos (HEALTH et al., 2002a; HEALTH et al., 2002b).

O tempo de aparecimento dos sinais clínicos de lipodistrofia igual a 12 meses, após exposição ao TARV, foi avaliado por quatro pesquisas. De acordo com estes estudos, em média 19,7% dos pacientes apresentaram lipoatrofia e 27,25% apresentaram lipohipertrofia. A incidência da lipodistrofia mista foi avaliada por apenas um dos estudos, em que foi demonstrado taxa de incidência anual igual a 13% (HEATH et al., 2002a; HEATH et al., 2002b; JACOBSON et al., 2005; JOLY et al., 2002; MALLON et al., 2003).

Ao avaliar períodos de tempo mais extensos, Mallon et al. (2003) demonstraram que, após dois anos de TARV, 13,6% dos pacientes poderiam apresentar perda de gordura (lipoatrofia). Joly et al. (2002) demonstraram que em 30 meses, 49% dos pacientes em uso de estavudina e 22% dos pacientes em uso de zidovudina apresentaram lipoatrofia. Dragovic et al. (2014) concluíram que são necessários sete anos para o desenvolvimento dos primeiros sinais clínicos da lipodistrofia em 50% dos pacientes, acometendo a totalidade da amostra em 10 anos de uso da medicação.

DISCUSSÃO

Os mecanismos relacionados à lipodistrofia associada ao HIV envolvem alterações induzidas pela própria infecção pelo HIV e alterações metabólicas desencadeadas por certas classes de medicamentos anti-retrovirais (GUZMAN & VIJAYAN, 2020). Estudos recentes discutem que a diferença no conceito de casos novos de lipodistrofia e o tempo de aparecimento

dos primeiros casos estão associados à ausência de um consenso desta condição clínica em pessoas vivendo com HIV (JUSTINA et al., 2014; LANA et al., 2014; GRAND et al., 2020). Entretanto, nesta revisão, foi constatado que todos os estudos revisados consideram a lipodistrofia como redistribuição de gordura corporal caracterizada por perda de gordura periférica (face, nádegas, braços e pernas) e/ou aumento da gordura visceral abdominal, hipertrofia mamária e alargamento da gordura dorso-cervical. Associado à esta observação, chama-se a atenção para os variados diagnósticos de lipodistrofia utilizados pelos diferentes estudos. Apenas três pesquisas utilizaram o densitometria por emissão de raios x de dupla energia (DXA) para avaliar os distúrbios da distribuição de gordura corporal, método literariamente aceito como padrão-ouro de avaliação da composição corporal em pessoas vivendo com HIV (MAZESS et al., 1990; WANG et al., 1992; SANTOS et al., 2019). Com base nestas informações, sugere-se que, possivelmente a diversificação do critério diagnóstico de lipodistrofia não está associado à falta de padronização na definição do termo/conceito mas, sim, ao método pelo qual a lipodistrofia é avaliada.

As alterações dislipidêmicas, como parte do critério diagnóstico de lipodistrofia, expressas pelos níveis séricos de colesterol total ou triglicérides, foram avaliadas somente em um estudo. Segundo Dutra et al. (2008), o metabolismo alterado do colesterol-total, LDL, HDL, VLDL e triglicérides está diretamente associado à distribuição anormal de gordura corporal, sendo necessário avaliar a dislipidemia como componente da lipodistrofia.

Nenhum dos estudos avaliados apresentou o cálculo amostral. A amostragem por conveniência foi utilizada por todos os estudos, o que demonstra uma limitação importante na análise crítica dos resultados. Sabe-se que a realização do cálculo da amostra é uma etapa necessária para se garantir a validade externa do estudo, ou seja, a extensão com que os resultados possam ser generalizáveis ou aplicáveis a uma população-alvo específica e evitar o viés de seleção da amostra (ENG et al., 2003; GORDIS, 2010; NOORDZIJ et al., 2011). Associado a este fato, à ausência de informações referentes aos hábitos de vida dos participantes (prática de atividade física e consumo alimentar) e ausência da investigação do tempo de infecção pelo HIV, fatores associados ao desenvolvimento da lipodistrofia, podem justificar a variação das taxas de incidência encontrados (JACOBSON et al., 2005).

Em quatro estudos avaliados, observou-se que os primeiros sinais da lipodistrofia apareceram nos primeiros doze meses de acompanhamento dos pacientes participantes, sugerindo que a lipodistrofia pode ser considerada uma condição aguda associada à infecção pelo HIV e, quanto mais precocemente diagnosticada pode diminuir o risco de diversas complicações metabólicas (VALENTE et al., 2005; SIGNORINI et al., 2012; DAI et al., 2019;

GRAND et al., 2020). Ressalta-se a ausência da avaliação da dislipidemia como componente da SLHIV (anteriormente questionada nesta discussão) no cálculo de incidência da lipodistrofia, visto que a maioria dos estudos incluídos não avaliaram alterações bioquímicas do metabolismo dos lipídeos, o que pode subestimar o tempo médio de ocorrência do evento.

Apesar da definição clara da lipodistrofia como a redistribuição de gordura corporal caracterizada por perda de gordura periférica (face, nádegas, braços e pernas) e/ou aumento da gordura visceral abdominal, hipertrofia mamária e alargamento da gordura dorso-cervical, o método de avaliação destas alterações morfológicas de gordura corporal ainda é literariamente controverso e influenciou os achados desta revisão.

CONCLUSÃO

Concluimos que os primeiros sinais da lipodistrofia podem aparecer após um ano de avaliação clínica. Este dado pode nos sugerir que a redistribuição de gordura corporal possa ser uma condição aguda associada à infecção pelo HIV. Sugerimos que clínicos, infectologistas e nutricionistas possam avaliar a lipodistrofia em pessoas vivendo com HIV com objetivo do diagnóstico precoce para efetivar intervenções primárias de saúde como o incentivo à prática de atividades físicas e reeducação alimentar e, desta forma, diminuir o risco de diversas complicações metabólicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLANCH J, ROUSAUD A, MARTINEZ E, DE LAZZARI E, PERI JM, MILINKOVIC A. Impact of lipodystrophy on the quality of life of HIV-1-infected patients. *JAIDS* 31: 404-407, 2002.
2. BERALDO RA, SANTOS AP, GUIMARÃES MP, VASSIMON HS, PAULA FJA, MACHADO DRL, FOSS-FREITAS MC, NAVARRO AM. Body fat redistribution and changes in lipid and glucose metabolism in people living with HIV/aids. *Rev Bras Epidemiol* 20(3): 526-536, 2017.
3. CARR A, SAMARAS K, CHISHOLM DJ, COOPER DA. Abnormal fat distribution and use of protease inhibitors. *Lancet* 351(9117): 1736-1737, 1998.
4. COLLINS E, WAGNER C, WALMSLEY S. Psychosocial impact of the lipodystrophy syndrome in HIV infection. *AIDS* 10(9): 546-550, 2000.

5. DAI L, LIU A, ZHANG H, WU H, ZHANG T, SU B, SHAO Y, LI J, YE J, SCOTT SR, MAHAJAN SD, SCHWARTZ SA, YU H, SUN L. Impact of Lopinavir/Ritonavir and Efavirenz-Based Antiretroviral Therapy on the Lipid Profile of Chinese HIV/AIDS Treatment-Naïve Patients in Beijing: A Retrospective Study”. *Curr HIV Res* 17(5): 324-334, 2019.
6. DRAGOVIC G, DANILOVIC D, DIMIC A, JEVTOVIC D. Lipodystrophy induced by combination antiretroviral therapy in HIV/AIDS patients: A Belgrade cohort study. *Vojnosanit Pregl* 71(8): 746-750, 2014.
7. DUTRA CDT, LIBONATI RMF. Abordagem metabólica e nutricional da lipodistrofia em uso da terapia anti-retroviral. *Rev Nutr Campinas* 21(4): 439-446, 2008.
8. ENG J. Sample Size Estimation: How Many Individuals Should Be Studied? *Radiology* 227(2): 309-13, 2003.
9. GORDIS L. Epidemiologia. 4.ed., Rio de Janeiro: Revinter, 2010, p.85-108.
10. GRAND M, BIA D, DIAZ A. Cardiovascular Risk Assessment in People Living With HIV: A Systematic Review and Meta-Analysis of Real-Life Data. *Current HIV Research* 18(1): 5-18, 2020.
11. GUZMAN N, VIJAYAN V. HIV-associated Lipodystrophy In: Stat Pearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing, 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493183/>. Accessed on May 12, 2020.
12. HEATH KV, HOGG RS, SINGER J, CHAN KJ, O'SHAUGHNESSY MV, MONTANER JS. Antiretroviral Treatment Patterns and Incident HIV-Associated Morphologic and Lipid Abnormalities in a Population-Based Cohort. *JAIDS* 30(4): 440-447, 2002a.
13. HEATH KV, CHAN KJ, SINGER J, O'SHAUGHNESSY MV, MONTANER JSG, HOGG RS. Incidence of morphological and lipid abnormalities: gender and treatment differentials after initiation of first antiretroviral therapy. *Intern J Epidemiol* 31(5): 1016-1020, 2002b.
14. JACOBSON DL, KNOX T, SPIEGELMAN D, SKINNER S, GORBACH S, WANKE C. Prevalence of, Evolution of, and Risk Factors for Fat Atrophy and Fat Deposition in a Cohort of HIV-Infected Men and Women. *Clin Infect Dis* 40(12): 1837-1845, 2005.
15. JOLY V, FLANDRE P, MEIFFREDY V, LETURQUE N, HAREL M, ABOULKER JP. Increased risk of lipodystrophy under stavudine in HIV-1-infected patients: results of a substudy from a comparative trial. *AIDS* 16(18): 2447-2454, 2002.

16. JUSTINA LBD, TREVISOL DS, TREVISOL FS. Prevalence of HIV-Associated Lipodystrophy in Brazil: A Systematic Review of the Literature. *J AIDS Clin Res* 5(9): 1-6, 2014.
17. KIBIRIGE D, SSEKITOLEKO R. Endocrine and metabolic abnormalities among HIV-infected patients: A current review. *Int J STD AIDS* 24(8): 603-611, 2013.
18. LANA LGC, JUNQUEIRA DRG, PERINI E, PÁDUA CM. Lipodystrophy among patients with HIV infection on antiretroviral therapy: a systematic review protocol. *BMJ Open* 4(3): 15, 2014.
19. MALLON PWG, MILLER J, COOPER DA, CARR A. Prospective evaluation of the effects of antiretroviral therapy on body composition in HIV-1-infected men starting therapy. *AIDS* 17(7): 971-979, 2003.
20. MAZESS RB, BARDEN HS, BISEK JP, HANSON J. Dual-energy X-ray absorptiometry for total body and regional bone mineral and soft-tissue composition. *Am J Clin Nutr* 51(6): 1106-1112, 1990.
21. NOORDZIJ M, DEKKER FW, ZOCCALI C, JAGER KJ. Sample Size Calculations. *Nephron Clin Pract* 118, 319-323, 2011.
22. POWER R, TATE HL, MCGILL SM, TAYLOR C. A qualitative study of the psychosocial implications of lipodystrophy syndrome on HIV positive individuals. *Sex Transm Dis* 79(2): 137-41, 2003.
23. SANTOS APD, MACHADO DRL, SCHWINGEL A, CHODZKO-ZAJKO WJ, ALVES TC, ABDALLA PP, VENTURINI ACR, BOLLELA VR, NAVARRO AM. Anthropometric cutoff points to identify lipodystrophy characteristics in people living with HIV/AIDS: an observational study. *Nutr Hosp* 36(6): 1315-1323, 2019.
24. SIGNORINI DJH, MONTEIRO MC, ANDRADE MDE F, SIGNORINI DH, EYER-SILVA WDE A. What should we know about metabolic syndrome and lipodystrophy in AIDS? *Rev Assoc Med Bras* 58(1): 70-75, 2012.
25. STANLEY TL, GRINSPOON SK. Body composition and metabolic changes in HIV infected patients. *J Infect Dis* 205(Suppl 3): 383-390, 2012.
26. UNAIDS. The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. 2019. Global AIDS Monitoring 2020. Available from:

https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-aidsmonitoring_en.pdf.

Accessed on May 25, 2020.

27. VALENTE AMM, REIS AF, MACHADO DM, SUCCI RCM, CHACRA AR. Alterações metabólicas da síndrome lipodistrófica do HIV. *Arq Bras Endocrinol Metab* 49(6): 871-81, 2005.
28. WALMSLEY S, CHEUNG AM, FANTUS G, GOUGH K, SMAILL F, AZAD A, DIONG CA, RABOUD J. A Prospective Study of Body Fat Redistribution, Lipid, and Glucose Parameters in HIV-Infected Patients Initiating Combination Antiretroviral Therapy. *HIV Clin Trials* 9(5): 314-323, 2008.
29. WANG ZM, PIERSON JR RN, HEYMSFIELD SB. The five live method: a new approach to organizing body composition research. *Am J Clin Nutr* 56(1): 19-28, 1992.
30. WHO. World Health Organization. HIV/AIDS. Overview. Geneva: World Health Organization 2019. Available from: https://www.who.int/health-topics/hivaids/#tab=tab_1. Accessed on Jun 20, 2020.

The Distribution and Analysis of Spatial Autocorrelation of Fruit Fly on Red Chili Cultivation in Cirebon, West Java, Indonesia

Hida Arliani Nur Anisa¹, Tati Suryati Syamsudin²

¹Politeknik TEDC, Cimahi, Indonesia

²Bandung Institute of Technology, Bandung, Indonesia

Corresponding author: Hida Arliani Nur Anisa

Politeknik TEDC, Jl. Pesantren Km. 2, Cimahi, Indonesia

Phone: (022) 6645951

Email: hidaarlianin@gmail.com

Received: June 27, 2020

Accepted: July 7, 2020

ABSTRACT

The information of fruit fly spatial distribution and its correlation with the environment is a key to their population control including sampling and an effective analysis procedure as a basis for population estimation. This study aims to analyze spatial dispersion and autocorrelation of fruit fly on red chili cultivation in Cirebon. The distribution of fruit fly from attractant Metil Eugenol trap and cue lure analyzed by using various dispersion index and regression models namely: ratio (s^2/x), |d| Elliot value, Llyod index, Green coefficient, Morisita dispersion index, k dispersion parameter, Iwao regression analysis, and Taylor regression analysis. The analysis result of various dispersion index and regression models such as ratio value (s^2/x) > 1, value |d|>1, value $x^*>1$, coefficient $GI > 0-1$, and value $(1/k)>0$ shows that fruit fly population at both locations have clumped dispersion pattern. This is supported by the result of Taylor and Iwao regression analysis with slope value > 1 showing clumped dispersion pattern. Further analysis for fruit fly use Morisita dispersion index revealing clumped dispersion pattern for *Bactrocera papayae* and *Bactrocera cucurbitae*; *Bactrocera carambolae* has homogenous dispersion pattern that tends to clump; *Bactrocera tau* and *Bactrocera albistrigata* has homogenous dispersion pattern. Spatial autocorrelation analysis based on Moran index value interpretation is $I > -0,05$ with p-value < 0,05 showing positive spatial autocorrelation between the traps that are located close together (0-10 m) and even far apart (70-75 m and 80-85 m).

Keywords: *Bactrocera* sp. Dispersion Index. Moran Index. Spatial Autocorrelation. Dispersion Pattern.

INTRODUCTION

Information about the presence of types of fruit flies in an area needs to be known and reported as an anticipatory step to conduct *Bactrocera* species fruit fly control on fruit and vegetables cultivation. This is urgent because certain fruit fly species has preference towards specific type of host (HASYIM; MURYATI; DE KOGEL, 2006). Moreover, by finding out the data about the types of fruit flies in an area along with its distribution will facilitate the use of attractants for control in the field because the use of attractants can be adjusted to the population of many fruit flies found in an area.

The understanding of fruit fly bioecology is no less important in *Bactrocera* species of fruit fly control program. Two considerable scopes that have to be aware of in ecology concept are the distribution and abundance of organisms along with one of its important aspects, namely spatial distribution. Understanding the spatial distribution associated with insects become urgent as it is a result of interactions between one type of individual with their habitat. Having knowledge of fruit fly dispersion pattern enables us to get a better comprehension in determining the correlation between fruit fly and their environment as the basis of an effective sampling program and analytical procedure. It aims to establish an integrated population estimation and population control of fruit flies along with providing basic information to determine the dynamics of spatial distribution of organism and a population model development (SOEMARGONO et al., 2011). In addition, spatial dispersion patterns, insects' movement patterns, analysis of insects' population dynamics, variety and time of population change are essential elements in the development of integrated pest management.

According to Morris et al. (1992) and Taylor; Woiwod; Perry (1978, 1980) the dispersion patterns of most insect population is spatially aggregated (aggregated or clumped). However, the aggregation level varies between insect species and populations. General approach conducted to find out characteristic of certain insect spatial distribution is the approach based on variance and sample averages (MAHENDRA, 2011)). Hence, this study will also analyze dispersion patterns by using geostatistics method that provides information on correlation between sample points separated by a certain distance using spatial autocorrelation analysis. The purpose of this analysis is to obtain an understanding of dispersion patterns and the close relationship between locations of fruit fly traps will be obtained through autocorrelation analysis.

METHODOLOGY

This research used quantitative research design to analyse significant spatial autocorrelation at a distance of 0-20 m for *B. papayae* and 0-20 m as well as 30-40 m for *B. Carambolae*. Quantitative research is a research pointed out on data measurements by statistical, mathematical, or numerical analysis of data collected through polls, questionnaires, and surveys, or by manipulating pre-existing statistical data using computational techniques (MUIJS, 2011)

The sample of this analysis was conducted in red chili cultivation in Cirebon, Indonesia. The tools needed in sampling and identification of fruit fly in field consist of trapped bottles equipped with attractants, sample bottles, surgical instruments, microscope slide glass, cover glass, microscope stereo, microscope inverted and Program Tool A. The ingredients used are attractants metil eugenol, attractants cue lure, alcohol. Fruit flies in Red chili cultivation trapped by metil eugenol, and fruit flies attracted by cue-lure traps.

After the interpretation of Moran index values being carried out through Microsoft Excel as the additional program, further analysis then being conducted namely spatial autocorrelation analysis (hypothesis test whether there is autocorrelation or not) in order to see how significant or matter the value of Moran index. This analysis also functions to see whether Moran index value at certain distances show significant spatial autocorrelation or not. Hypothesis test done in this analysis is as follows:

Ho: there is no spatial autocorrelation (insignificant autocorrelation)

H1: there is spatial autocorrelation (significant autocorrelation)

Making decision whether there is autocorrelation based on p-value score, namely the smallest significance so that the observed test statistic value is still significant. If $p\text{-value} > \alpha$ then Ho accepted, which means there is no spatial autocorrelation (not significant) at that distance. Otherwise, if $p\text{-value} < \alpha$ then Ho rejected. Significance level (α) used is 5%.

Research Procedure

Collection and Identification of fruit fly

The collection of fruit flies caught using bottle traps with attractant like methyl eugenol and cue lure. The identification of fruit flies *Bactrocera* sp. conducted by determining fruit fly species belong to complex *Bactrocera dorsalis* member and which is not based on the observation of morphology characters, namely color patterns on the wings, thorax, and abdomen refer to identification key of (DREW & HANCOCK, 1994). More

identification used measurement of genital organs of male (aedeagus) and female (aculeus). According to Iwaizumi, Kaneda, Iwahasi (1997) The measurement of genital organs of male and female fruit flies carried out by making microscope slide of genital organ. Male genital organ (aedeagus) and female (aculeus) obtained through abdominal surgery that has been preserved in 70% alcohol.

Determination of fruit fly dispersion patterns

The spatial distribution of fruit flies examined by using some dispersion parameteres namely through the ratio of variance and average (s^2/x). The use of variance and average ratio is to determine distribution trends by looking at the dispersion index. This is the simplest and the most fundamental way (MYERS et al. 1978). This ratio is able to show the types of dispersion. Type of dispersion is random when ratio value = 1, type of dispersion is homogenous when ratio value < 1, and the dispersion is clumped when ratio value >1 (CHIARALUCE et al., 2018). In order to determine the significance of the 1 value, chi-square test done by using the following formula:

$$d = \sqrt{2\chi^2} - \sqrt{2(N-1) - 1} \quad (1)$$

$$\chi = \left(\frac{s^2}{x}\right)(N-1) \quad (2)$$

d is statistical test score and N is the total number of sample units. If the value is $|d| < 1,96$, so that the random dispersion type accepted. If the value of $d < -1,96$, the type of dispersion allegedly homogenous. Then if the value of $d > 1,96$, the type of dispersion is clumped (ELLIOTT, 1977).

Besides using variance and average ratio, the determination of dispersion index carried out by calculating Llyod index. The calculation of Lloyd index is important because it doesn't depend on sample size or the population average (HURLBERT, 1990). Llyod index calculated as ratio of crowding average (x^*) towards population average (x). Crowding average (x^*) calculated based on the formula (SOUTHWOOD, 1978) has described as follows: $x^* = x + \left(\frac{s^2}{x} - 1\right)$, where x is population average and s^2 is variance. If the value of Lloyd index equals one, it shows random dispersion. If the value is more than one, it shows clumped dispersion. Then if the value is less than one, it shows homogenous dispersion.

Morisita dispersion index (BROWER & ZAR, 1989) used as the confirmation in determining dispersion pattern of fruit fly species from the previous dispersion index. This Morisita index is relatively independent on the type of distribution, the number of sample and

average size (KAO, 1984). The calculation of Morisita dispersion index carried out by using the following formula:

$$ID = n \left(\frac{(\sum X^2) - N}{N(N-1)} \right) \quad (3)$$

With ID = Morisita dispersion index, n = number of sampling trap, N = the number of individual in n trap, and X = the number of individual in each trap. If ID has value < 1, it shows homogenous dispersion pattern, ID = 1 shows random dispersion pattern and ID > 1 shows clumped dispersion pattern.

The validation of that Morisita dispersion index value then tested through statistical test by using *chi-square* distribution with applicable equation as follows:

$$X^2 = \frac{n \sum_{i=1}^s x^2}{N} - N \quad (4)$$

The value of *chi-square* from the above calculation compared to *chi-square* value of statistical table by using confidence interval 95%. Testing criteria are if the value of $X^2_{\text{count}} < X^2_{\text{table}}$, then H_0 accepted (ID=1), which means there is no significant difference with random spread. If the of value $X^2_{\text{count}} > X^2_{\text{table}}$, then H_0 rejected (ID=1), which means there is significant difference with random spread.

Next, by using a basis of average values and variance, the calculation of dispersion index and other statistical tests carried out as a confirmation of distribution pattern of fruit fly population.

In order to measure aggregation level, some dispersion index such as Green Gl coefficient (Green, 1966), *Taylor's power law* (TAYLOR; WOIWOD; PERRY, 1978), Iwao regression (IWAO & KUNO, 1968), and parameter k for negative binomial, are commonly used. The measurement using other dispersion index need to be done because the measurement using only one dispersion index cannot be confirmed valid (MYERS et al., 1978). In the measurement of insects population dispersion index, it is better to use some dispersion index models before drawing conclusions about the dispersion patterns (SOEMARGONO et al., 2011).

Green Gl coefficient determined based on the following formula (GREEN, 1966):

$$Gl = \frac{\left(\frac{s^2}{x}\right) - 1}{\sum x - 1} \quad (5)$$

Where s^2 = variance, x = average number of *Bactrocera* in each trap, $\sum x$ = total number of

Bactrocera caught in the trap. Green coefficient shows random dispersion type when $G1 = 0$ and clumped dispersion type when $G1 \geq 0 - 1$.

The determination of dispersion index using *Taylor's power law* stated that variance (s^2) is directly proportional to *fractional power* of arithmetic mean where $s^2 = a x^b$. Coefficient a and b calculated based on regression model: $\log s^2 = \log a + b \log x$, where *slope* b is aggregation index showing random dispersion type if $b=1$, homogenous if $b < 1$, and clumped if the value of $b > 1$.

Iwao regression is a regression of *crowding* mean (x^*) on the average population with linear model: $x^* = \alpha + \beta x$, where x^* value gained from previous *crowding* mean formula. Value of α is a basis of index calculation and value of β gained from the result of b value from the previous Taylor regression. Dispersion parameter (k) for negative binomial determined through the following formula: $= \frac{(x^2 - \frac{s^2}{n})}{(s^2 - x)}$, which will correspond to a binomial negative distribution.

Spatial Analysis of Fruit Fly

The steps taken in this analysis section are to calculate Moran index value and carry out spatial autocorrelation analysis based on the Moran index value that is followed by significance hypothesis test based on *p-value* with 5% level of significance. Moran index value calculated using Microsoft Excel as an additional program. This program is able to calculate *Moran's I* (indeks Moran), *p-value Moran's I*, and present *Moran's I* value in graphical form (corelogram). This program was obtained from *Statistical Modelling Tools for Design and Analysis of Conservation Monitoring Data* with the name of the program *Tool A*.

Testing and Planning for Spatial Autocorrelation.

The use of Moran index in calculating special autocorrelation of attractants trap points for fruit flies carried out because the placement or setting of traps done systematically with the same distance of 5m away. The calculation of this Moran index is only conducted at sampling location on red chili cultivation, Pabedilan Wetan District, Cirebon.

RESULTS AND DISCUSSION

Collection and Identification of Fruit Fly

Based on the identification of fruit fly sample from metal eugenol trap in Cirebon, 3 species of fruit flies found as well as in the attractant cue lure trap (Table 1).

Table 1. The result of fruit fly identification caught from metil eugenol trap.

Location	Identification Result		
	Trap	Types of fruit flies	Total
Red chili cultivation, Pabedilan Wetan,Cirebon	Metil eugenol	<i>B. papayae</i>	682
		<i>B. carambolae</i>	128
		<i>B. cucurbitae</i>	16
	Cue lure	<i>B. cucurbitae</i>	858
		<i>B. tau</i>	33
		<i>B. albistrigata</i>	1

The *aedeagus* length of *B. carambolae* and *B. papayae* fruit fly (Table 2) as the result of identification from metil eugenol trap based on morphology character. It is done to support the identification result based on observation of morphology character conducted previously.

Table 2. The result of *aedeagus* measurement of fruit fly sampel from the trap.

Measurement	Aedeagus length (μm)	
	<i>B. carambolae</i>	<i>B. papayae</i>
Average	3248,6	3499,005
Deviation Standard	204,5	266,9

The data gained from the measurement result of 100 *aedeagus* samples for each fruit fly species *B. carambolae* and *B. papayae* (Table 2) compare to the study conducted by (IWAIZUMI et al., 1997; DURAHMAN, 1999; ARIEF, 2009) also refer to the identification key of (DREW & HANCOCK, 1994), it can be concluded that caught fruit flies by metil eugenol trap on red chili cultivation Cirebon are *B. papayae* dan *B. carambolae*.

According to Arief (2009), *B. papayae* has nearly 1,9 – 2,19 mm long aculeus with an average of $2,02 \pm 0,09$ mm, and has nearly 3219-3853 μm long aedeagus with an average of $3534,7 \pm 192,9$ μm . In line with the identification key of (DREW & HANCOCK, 1994), the aculeus length of *B. carambolae* is 1,4-1,6 mm. Further, study result of (DURAHMAN, 1999) shows that the size of *aedeagus B. carambolae* in the range of 2800-4200 μm with an

aedeagus average length of $3224,5283 \pm 204,153 \mu\text{m}$. The study conducted by (IWAIZUMI et al., 1997) explains that *B. carambolae* has $2,46 \pm 0,07 \text{ mm}$ long *aedeagus* and $1,40 \pm 0,07 \text{ mm}$ long *aculeus*, while *B. papayae* has $2,95 \pm 0,13$ long *aedeagus* as well as $1,99 \pm 0,09 \text{ mm}$ long *aculeus*.

Dispersion pattern of fruit fly Bactrocera sp.

Dispersion pattern of fruit fly determined by some index based on the comparison between average and variance. Dispersion index used are the calculation of d Elliot value, Llyod index (x^*), Green coefficient (GI). Besides, the analysis of Iwao regression and the analysis of Taylor regression along with dispersion k parameter (Table 3) are carried out as well.

Table 3. Dispersion parameter of fruit fly *Bactrocera sp.*

Location	Disperse Indeks Average						
	x	s ²	s ² /x	D	x*	GI	k
Cirebon	43,425	208,08	4,79	11,291	46,61	0,0518	129,61

The result of some spatial distribution parameter of fruit fly shows that they have clumped dispersion pattern. From the fruit fly collection through trap, the average ratio and variance shows the result is > 1 of 4,79. Even d Elliot value in most traps shows clumped result (d value $> 1,96$ shows clumped dispersion pattern). Green Coefficient (GI) obtained also has value of $> 0 - 1$ which stated that GI value of $> 0 - 1$ included in the clumped dispersion pattern (GREEN, 1966). From the calculation of $1/k$ value, $1/k > 0$ value was gained of 0,0073 that shows clumped dispersion pattern (ELLIOTT, 1977). Southwood (1978) also reported that $k > 8$ value show clumped type where the smaller the value of k, the greater indicates the clumped dispersion pattern. Elliott (1977) said that the stability of k value indirectly affects the level of population distribution of an insect that is relatively constant in a certain period in addition to the sample variance. The lack of this approach is that the lack of attention on the characteristics of sampling spatial location whereas in the spatial distribution analysis of insects population is strongly influenced by the characteristics of the sampling location.

The result of Taylor linear regression and Iwao regression also show clumped dispersion pattern of fruit fly. The value of *slope* gained for fruit fly is $b = 1,291$ and because

$b = 1,291 > 1$ based on the result of Taylor regression analysis (Figure 1), dispersion pattern of fruit fly belongs to the clumped type (TAYLOR; WOIWOD; PERRY, 1978).

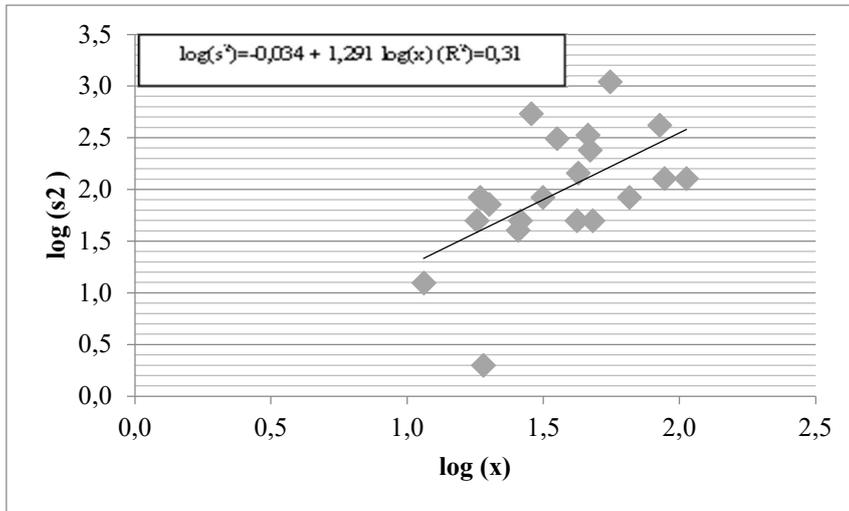


Figure 1. Taylor regression, $\log (s^2) = \log(a) + b \log(x)$ for fruit fly in Cirebon red chili cultivation.

The result of Iwao regression analysis shows the clumped population of fruit fly. The value of Iwao regression slope is $\beta = 1,003$ (Figure 2).

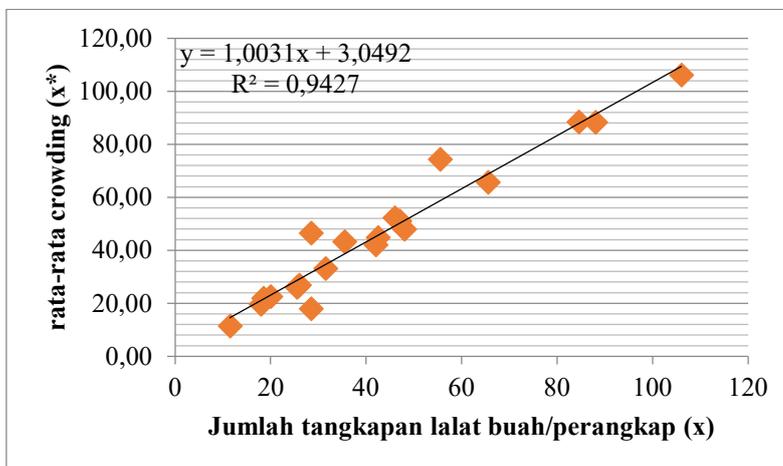


Figure 2. Iwao regression, $x^* = 3,049 + 1,003x$ ($R^2 = 0,94$) for fruit fly population in Cirebon red chili cultivation.

The result of Taylor regression analysis and Iwao regression analysis does show the same dispersion pattern. However, by noticing the value of R^2 , it can be concluded that the result of Iwao regression analysis is more in line with fruit fly population than the result of Taylor regression analysis. R^2 value of Iwao regression analysis ($R^2 = 0,94$ and $R^2 = 0,98$)

(Figure 2) is higher than the value R^2 of Taylor regression analysis ($R^2 = 0,31$ dan $R^2 = 0,77$) (Figure 1). In addition, Iwao regression analysis presents a more prevalent data of distribution along the trendline lines than Taylor regression analysis.

Besides using various dispersion index based on the comparison between variance and average, the determination of each fruit fly species dispersion pattern of fruit carried out through the calculation of Morisita dispersion index with the result of clumped and homogenous dispersion pattern (Table 4). This Morisita index is relatively independent towards the type of distribution, the number of sample and the average size (KAO, 1984). It is also used as a confirmation of fruit fly species dispersion pattern from the calculation of previous dispersion index.

Table 4. Value of Morisita dispersion index in Cirebon red chili cultivation.

Species	ID	X^2_{count}	X^2_{table}	Dispersion
<i>B. papayae</i>	17.188	1127.473	30.144	Group
<i>B. carambolae</i>	0.736	8.269	30.144	Homogen
<i>B. cucurbitae</i>	12.528	66.001	30.144	Group
<i>B. tau</i>	0.081	88.312	30.144	Homogen
<i>B. albistrigata</i>	0.00	96.794	30.144	Homogen

The result of Morisita dispersion index continued with *chi-square* test showing fruit fly species namely *B. papayae* and *B. cucurbitae* having clumped dispersion pattern (ID Morisita > 1) and significantly different X^2_{count} (1127.473) > X^2_{table} (30.144) whereas *B. carambolae* has homogenous dispersion pattern (ID Morisita < 1) yet not significantly different X^2_{count} (8.269) < X^2_{table} (30.144). Thus, *B. carambolae* has homogenous dispersion pattern that tends to clump. *B. tau* and *B. albistrigata* has homogenous dispersion pattern (ID Morisita < 1),

Clumped dispersion pattern seen at *B. papayae* and *B. cucurbitae* in Cirebon red chili cultivation. This relates to the availability of hosts such as red chili for *B. papayae* and bitter melon for *B. cucurbitae* that is only in one particular stretch of land or cultivation area. Meanwhile, homogenous dispersion pattern on *B. albistrigata* same as *B. carambolae* in which has a host that tends to be evenly distributed because it is widely available outside the cultivation area of trapping specifically in each house of many residents with guava trees that are the main host for both type of fruit flies.

Spatial autocorrelation

In the previous section, we studied the spatial dispersion of fruit fly using an index based on variance and average ratio namely variance coefficient and sample variance without paying attention to the characteristic of spatial location where the sample was taken. Therefore, another spatial dispersion pattern analysis is also studied by looking at the dependence of spatially connected data using spatial autocorrelation analysis. This spatial autocorrelation analysis is used when there is a value of a particular variable at one location depending on the other location nearby. Correlation or relationship of data might be hidden if the investigation of the correlation between the two using simple analysis such as linear regression so that a more specific test needs to be carried out whether there is correlation among the installation points of fruit fly traps using spatial autocorrelation analysis. The method used to analyze spatial autocorrelation is by calculating Moran index value. Moran index compares geographical proximity in the form of deviations from the mean of the whole experiments. Moran index is used in counting spatial autocorrelation of fruit fly trap points because the placement or installation of traps is done systematically with the same distance of 5 m away.

Moran index value is calculated based on input in coordinates of each station and the value of the fruit flies caught in the trap, while the output is in the form of Moran index value for distance between pairs of points in a table and graphic (corelogram). The presentation of Moran index value can be seen in Figure 3.

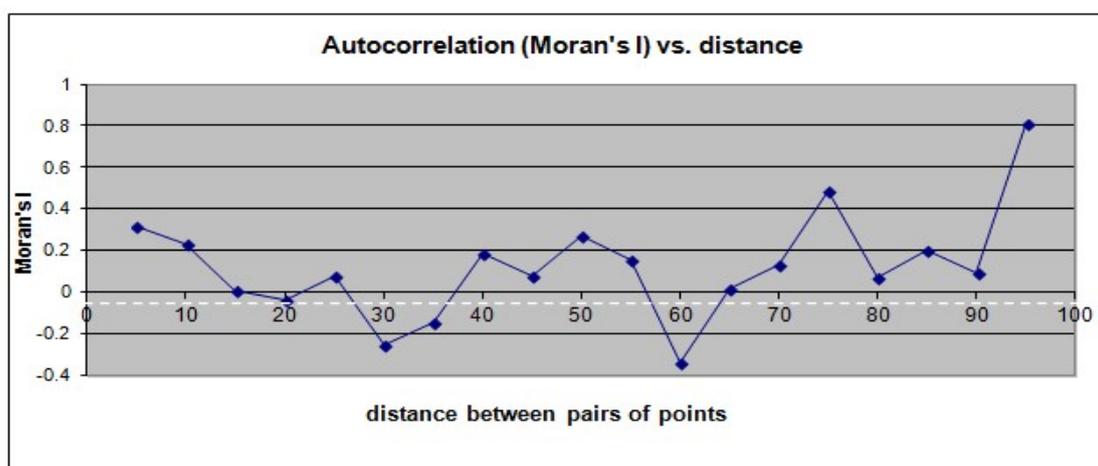


Figure 3. Moran index for each pair of distance in Cirebon chili red cultivation.

Based on Moran index value and the interpretation of Moran index, $I > -\frac{1}{(n-1)}$ ($I > -0,05$) for positive spatial autocorrelation and $I < -\frac{1}{(n-1)}$ ($I < -0,05$) for negative spatial autocorrelation where n is the number of traps ($n=20$). Thus, it can be concluded that in most range of trap installation points show positive spatial autocorrelation. It means the number of fruit flies caught at that range of distance, the value of interaction on the attractants tend to be the same or similar.

After hypothesis test being carried out, it is known that in the close range of 0-10 m the number of insects trapped in this range tends to be in the same or similar interactions. It is because in the range of distance shows positive spatial autocorrelation which means significant as well as for long distances over 70-75 m and 80—85 m. It shows significant positive spatial autocorrelation ($I > -0,05$, $p\text{-value} < 0,05$). In the range of 25-30 m and 35-40 m, significant negative spatial autocorrelation results were obtained, which means the number of fruit flies caught in the range of distance the interaction value on the attractants trap tends to be different. Furthermore, the calculation of $p\text{-value}$ to test significance level of Moran index value almost all showed insignificant spatial autocorrelation at 5% level of significance ($p\text{-value} > 0,05$; H_0 accepted). The small number of trapped fruit flies usually results in insignificant spatial patterns. This comes from the inability of statistics to see spatial pattern based on the small number of catch (PAPADOPOULOS; KATSOYANNOS; NESTLE, 2003).

Corelogram profile and Moran index value in natural population show that positive autocorrelation found at relatively short or close pairing distances, while negative correlation found at relatively long distances (PAPADOPOULOS; KATSOYANNOS; NESTLE, 2003). In fact, the result of the study obtained does not match the natural population corelogram profile. This is perhaps due to environmental changes that form spatial pattern. One of environmental changes is the border effect such as in Cirebon red chili cultivation whose area is bordered by other plants such as bitter melon, corn and beans. The study area of Cirebon red chili cultivation is not too large (1000 m^2), the border effect in this area might cause the minimization of planting environment to form spatial pattern of fruit flies. Moreover, the red chili planting environment is quite homogenous in terms of vegetation composition. (In 1000 m^2 the area is only planted with red chili), allowing fruit fly population to be in similar environment. As the result, positive spatial autocorrelation result obtained even at a considerable distance (produce a circular gradient) (PAPADOPOULOS; KATSOYANNOS; NESTLE, 2003).

CONCLUSION

The dispersion pattern of fruit fly generally based on variety of dispersion index showing the clumped dispersion pattern. Dispersion pattern for each type of fruit flies based on Morisita dispersion index showing clumped dispersion pattern for *B. Papayae* and *B. cucurbitae* while *B. carambolae* has homogenous dispersion pattern that tends to clump. *B. tau*, and *B. albistrigata* has homogenous dispersion pattern. The dispersion pattern based on spatial autocorrelation analysis for *B. papayae* is homogenous while *B. carambolae* show clumped dispersion pattern. The correlation between trapping points of each type of fruit flies based on spatial autocorrelation show significant positive spatial autocorrelation at a distance of 0-20 m for *B. papayae* and 0-20 m as well as 30-40 m for *B. carambolae*. Through these results it can be ascertained that fruit flies have certain dispersion patterns that affect the location of the trap installation points. Through spatial autocorrelation analysis data explain that the installation of traps need to pay attention to the range of installation points because of the number of fruit flies trapped in the distance range the interaction value to the practical trap tends to be the same or different depending on the distance of the trap. This can be used as a basis for installing trap points on an agricultural or plantation land so that trap installation is more effective.

REFERENCES

1. ARIEF M. Identifikasi Lalat Buah (Diptera: Tephritidae) dan Kerusakan pada Buah cabai (*Capsicum annum*) di Kebun Balitsa Lembang. [skripsi]. Bandung. Program Studi Biologi ITB, 2009.
2. BROWER JE, ZAR JH. Field and laboratory methods for general ecology. Iowa: W. M. Brown Company, 1989, 288p.
3. CHIARALUCE E, VAGNETTI F, TOMBESI F, PAOLILLO M. The X-ray/UV ratio in active galactic nuclei: dispersion and variability. *A&A* 619(A95): 1-11, 2018.
4. DREW RAI, HANCOCK DL. The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies (Diptera: Tephritidae: Dacinae) in Asia. *Bull Entomol Res Suppl Series* 84(2): 1-68 1994.
5. DURAHMAN I. Ukuran Panjang Alat Genital (Penis dan Ovipositor) *Bactrocera carambolae* dan Hubungannya dengan Keberhasilan Pembentukan Pasangan Kawin.

Bandung Institute of Technology, 1999.

6. ELLIOTT JM. Some Methods for the Statistical Analysis of Samples of Benthic Invertebrates, Scientific Publication 25, Freshwater Biological Association, Ambleside, UK, 1977, 169p.
7. GREEN RH. Measurement of non-randomness in spatial distributions. *Res Popul Ecol* 8: 1-7, 1966.
8. HASYIM A, MURYATI, DE KOGEL WJ. Efektivitas Model Dan Ketinggian Perangkap Dalam Menangkap Hama Lalat Buah Jantan, *Bactrocera* Spp. *J Hort* 16(4): 314-320, 2006.
9. HURLBERT SH. Spatial Distribution of the Montane Unicorn. *Oikos* 58(3): 257-271, 1990.
10. IWAIZUMI R, KANEDA M, IWAHASHI O. Correlation of length of terminalia of males and females among nine species of *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) and differences among sympatric species of *B. dorsalis* complex. *Ann Entomol Soc of America* 90(5): 664-666, 1997.
11. IWAO S, KUNO E. Use of the regression of mean crowding on mean density for estimating sample size and the transformation of data for the analysis of variance. *Res Popul Ecol* 10, 210-214, 1968.
12. KAO S. *The Spatial Distribution of Insects*, Entomology Division Plant Protection Center, Taiwan, 1984. Available from: <https://www.tactri.gov.tw/Uploads/Item/79571833-7ab3-4480-b4b6-b744d3c544c8.pdf>. Accessed on June 25, 2020.
13. MAHENDRA S. Identifikasi dan Distribusi Spasial Populasi *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) pada Pertanaman Jeruk, Lembang. Bandung Institute of Technology, 2011.
14. MUIJS D. Introduction to Quantitative Research. In: *Doing Quantitative Research in Education with SPSS*, 2011, 264p.
15. MYERS AL, JOSSENS L, PRAUSNITZ JM., FRITZ W, SCHLÜNDER EU. Thermodynamics of multi-solute adsorption from dilute aqueous solutions. *Chem Eng Sci* 33(8): 1097-1106, 1978.
16. PAPADOPOULOS NT, KATSOYANNOS BI, NESTLE D. Spatial Autocorrelation Analysis of a *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) Adult Population in a Mixed

- Deciduous Fruit Orchard in Northern Greece. *Environ Entomol* 32(2): 319-326, 2003.
17. SOEMARGONO A, MURYATI M, HASYIM A, ISTIANTO M. Spatial Distribution Pattern of The Fruit Fly, *Bactrocera Dorsalis* Complex (Diptera: Tephritidae) in Mango Orchard. *Agrivita, J Agricul Sci* 33(3): 207-213, 2011.
 18. SOUTHWOOD DJ. Plasma waves in the magnetosphere. *Nature* 271, 309-316, 1978.
 19. TAYLOR LR, WOIWOD IP, PERRY JN. The Density-Dependence of Spatial Behaviour and the Rarity of Randomness. *J Anim Ecol* 47(2): 383-406, 1978.
 20. TAYLOR LR, WOIWOD IP, PERRY JN. Variance and the large-scale spatial stability of aphids, moths and birds. *J Anim Ecol* 49(3): 831-854, 1980.

**Associação entre as características sociodemográficas e sintomas da COVID-19 em
pacientes residentes do Espírito Santo, Brasil**

Association between the sociodemographic characteristics and COVID-19 symptoms in patients
resident in Espírito Santo state, Brazil

*Dominique Nápoli Caliari¹, Kamilly Martins Campos¹, Paula Siqueira dos Santos¹, Stéfany
Neves Louro¹, Thais Neves Curty¹, Thais Lomar Mendanha¹, Erika Cardoso dos Reis¹*

¹Instituto Federal do Espírito Santo, Coordenadoria de Engenharia Sanitária e Ambiental,
Vitória, Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Erika Cardoso dos Reis

Instituto Federal do Espírito Santo, Coordenadoria de Engenharia Sanitária e Ambiental

Avenida Vitória, 1729, Jucutuquara, CEP 29.040-780, Vitória, Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3028-6898

Email: erika.careis@gmail.com

Submetido em 03/07/2020

Aceito em 22/07/2020

RESUMO

A chegada de um novo vírus em circulação transformou o ano de 2020. O novo coronavírus, identificado como SARS-CoV-2, foi responsável pela infecção de milhares de pessoas e gerou centenas de mortes ao redor do mundo. No Brasil, a vigilância epidemiológica está construindo o Centro de Operações de Emergência em Saúde Pública para Infecção Humana pelo Novo Coronavírus à medida que a OMS consolida as informações recebidas dos países e de novas evidências técnicas e científicas que são publicadas. O estado do Espírito Santo (ES), registrou, até 01/06/2020, 13.960 casos confirmados de pessoas infectadas pelo SARS-CoV-2, tornando, deste modo, importante analisar os dados destes pacientes. O artigo tem como objetivo avaliar os sintomas apresentados no “painel COVID-19”, elaborado pela Secretaria Estadual de Saúde do ES, de forma a compreender mais o panorama e distribuição dos sintomas nos casos confirmados. Nesse sentido, foi realizado um estudo observacional, quantitativo, transversal e analisadas as informações sociodemográficas a fim de relacionar estes aspectos aos principais sintomas característicos da contaminação pelo vírus, sendo eles: febre, dificuldade respiratória, tosse, coriza, dor de garganta, diarreia e cefaleia. De acordo com as análises realizadas, a tosse, a febre e a cefaleia foram os sintomas mais registrados/informados pelos pacientes infectados. No sexo feminino, constatou-se que os sintomas mais comuns foram cefaleia, dor de garganta e coriza, enquanto, no sexo masculino, constatou-se como sintomas predominantes a febre, tosse e dificuldade respiratória.

Palavras-chave: COVID-19. SARS-CoV-2. Doença Infecçiosa. Vigilância Epidemiológica. Sintomas Clínicos.

ABSTRACT

The news of a new virus in circulation transformed the year 2020. The new coronavirus, identified as SARS-CoV-2, was responsible for the infection of thousands of people and generated hundreds of deaths around the world. In Brazil, epidemiological surveillance is building the Public Health Emergency Operations Center for Human Infection with the New Coronavirus, as WHO consolidates information received from countries and new technical and scientific evidence that is published. Until June 06, 2020, the state of Espírito Santo (ES) registered 13,960 confirmed cases of people infected with SARS-CoV-2, thus making it important to analyze the data of these patients. The article aims to evaluate the symptoms presented in the “COVID-19 panel”, prepared by the state health secretariat of ES, in order to better understand the panorama and the distribution of symptoms in confirmed cases. An observational, quantitative, cross-sectional study was carried out and analyzed as sociodemographic information in order to report these aspects to the main characteristic symptoms of virus contamination, which are: fever, difficulty breathing, cough, runny nose, sore throat, diarrhea and headache. According to the analyzes performed, cough, fever and headache were the symptoms most recorded/reported by infected patients. In females, it was found that the most common symptoms were headache, sore throat and runny nose, while in males, fever, cough and difficulty breathing were found to be the predominant symptoms.

Keywords: COVID-19. SARS-CoV-2. Communicable Diseases. Epidemiological Monitoring. Signs and Symptoms.

INTRODUÇÃO

O ano de 2020 iniciou-se com uma preocupação mundial com a informação de que havia surgido um novo vírus, denominado coronavírus zoonótico, que cruzou espécies para infectar populações humanas, começando pelas populações de Wuhan, na província de Hubei, na China. Em pouco tempo, o novo coronavírus, identificado como SARS-CoV-2, infectou milhares de pessoas e milhares de mortes foram registradas pelas autoridades sanitárias da China (SÁFADI et al., 2020) e em todo o mundo.

A doença provocada pelo novo coronavírus recebeu o nome de COVID-19 que significa COrona Vírus Disease (Doença do Coronavírus) enquanto “19” se refere a 2019, quando os primeiros casos foram divulgados publicamente pelo governo chinês, no final de dezembro (FIOCRUZ, 2020). Em pouco tempo, a COVID-19 despertou a atenção mundial em virtude do seu aparecimento em diversos países do mundo, com sérias implicações para a saúde pública (DO BÚ et al., 2020).

Em virtude da infecção humana pelo SARS-CoV-2, o Ministério da Saúde se pronunciou no dia 3 de fevereiro de 2020, declarando nesta data a doença como uma Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN). Em 22 de janeiro, o primeiro caso suspeito foi notificado no Brasil, atendendo à definição de caso (BRASIL, 2020).

Identificou-se, logo, que a transmissão de pessoa a pessoa acontece com maior frequência quando uma pessoa infectada com o vírus se expõe a outra não infectada. Assim, o contágio ocorre, principalmente, através de gotículas produzidas quando o infectado tosse ou espirra. Essas gotículas podem pousar na boca, nariz e olhos, ou até mesmo serem inaladas pelos pulmões das pessoas que se encontram próximas (NATIONAL CENTER FOR IMMUNIZATION AND RESPIRATORY DISEASES, 2020). Deste modo, as medidas de distanciamento social para redução da circulação e contato entre as pessoas têm se mostrado eficazes no controle e avanço da epidemia (AQUINO et al., 2020).

A epidemia de COVID-19 coloca em prova os sistemas de saúde nacionais, pois há uma demanda elevada de leitos de terapia intensiva e ventiladores mecânicos, o que indica consequências mais profundas nos países em desenvolvimento, os quais a qualidade e a disponibilidade de recursos é tipicamente menor. Logo, esses países terão consequências ainda mais profundas (WALKER et. al., 2020).

A vigilância epidemiológica de infecção humana pelo novo coronavírus no Brasil está sendo construída à medida que a OMS consolida as informações recebidas dos países e novas evidências técnicas e científicas são publicadas. Os gestores do Sistema Único de Saúde (SUS),

nos estados e municípios, tentam se preparar com a criação de novos leitos de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), para que possam atender as pessoas com sintomas mais graves da COVID-19 (BRASIL, 2020), mas, na prática, o atendimento destes casos ainda permanece sendo um desafio.

Foram registrados até o dia 01/06/2020, 502.913 casos confirmados de pessoas infectadas e 28.895 óbitos no Brasil (FIOCRUZ, 2020). No estado do Espírito Santo (ES), a epidemia cresce de forma acelerada e, na mesma data, foram registrados 13.690 casos confirmados de pessoas infectadas e 705 óbitos (ESPÍRITO SANTO, 2020).

Este cenário crescente da pandemia indica a importância de análise dos dados produzidos para uma ação efetiva do sistema de saúde através do fortalecimento da atuação da vigilância em saúde, a fim de evitar que mais pessoas sejam acometidas e transmitam a doença para outras pessoas.

Estudos têm sido realizados sobre a COVID-19, porém a maioria desses estudos tem como objetivo verificar os fatores associados à mortalidade e/ou hospitalização (PRICE-HARWOOD et al., 2020; RIVERA-IZQUIERDO et al., 2020). Não foram encontrados estudos que tenham avaliado a associação entre características sociodemográficas e os sintomas apresentados pelos doentes até o presente momento.

Diante disso, o artigo tem por finalidade avaliar os sintomas apresentados no painel COVID-19, elaborado pela Secretaria Estadual de Saúde do ES, de forma a compreender o panorama e distribuição dos sintomas nos casos confirmados.

METODOLOGIA

Trata-se de estudo observacional, quantitativo, transversal, que se apresenta como uma fotografia ou um recorte feito de uma dada população, buscando examinar a presença ou ausência da exposição e desfecho em um mesmo momento (HOCHMAN et al., 2005).

O estudo utilizou a base de dados disponível no canal oficial da Secretaria Estadual de Saúde (SESA) do Governo do Espírito Santo, “Painel COVID-19”, para divulgação de casos de coronavírus em âmbito estadual (ESPÍRITO SANTO, 2020).

O Painel COVID-19 é um sistema capixaba desenvolvido pelo governo do estado do Espírito Santo e é alimentado pelo Sistema eSUS/Vigilância em Saúde (eSUS/VS). O eSUS/VS foi desenvolvido em parceria com a Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) em substituição ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), do Ministério da Saúde.

Foram incluídos neste estudo todos os pacientes confirmados pela COVID-19 no ES, até o dia 01 de junho de 2020. A confirmação dos casos seguiu os critérios da Nota Técnica COVID-19 N° 29/2020 – GEVS/SESA/ES, conforme descrito no Painel COVID-19: 1. Caso confirmado por diagnóstico laboratorial: o resultado positivo RT-PCR em tempo real por protocolo validado; ou o teste sorológico validado positivo (teste rápido). 2. Caso confirmado por diagnóstico clínico-epidemiológico: caso suspeito com histórico de contato próximo ou domiciliar com caso confirmado laboratorialmente para COVID-19 (ESPÍRITO SANTO, 2020).

As variáveis do estudo foram oriundas do Sistema eSUS/VS que estão apresentadas no Painel da Secretária Estadual de Saúde.

Para a consolidação dos dados, foram excluídos os casos em que o sexo do paciente era identificado como indefinido (0,0219%), sendo, portanto, mantidos os casos do sexo feminino e masculino. Em relação aos municípios de residência, foram desconsiderados aqueles que não pertencem ao território do Espírito Santo (2,27%). Os municípios capixabas foram divididos pelas respectivas Regiões de Saúde, conforme o Plano Diretor de Regionalização de 2011 vigente: Central, Metropolitana, Norte e Sul (ESPÍRITO SANTO, 2011).

Além disso, foram utilizados na análise das informações dos pacientes os dados referentes à: município, faixa etária e sexo; a fim de vincular estes aspectos aos principais sintomas característicos da contaminação pelo vírus, sendo eles: febre, dificuldade respiratória, tosse, coriza, dor de garganta, diarreia e cefaleia. A base de dados do Painel COVID-19 apresenta a descrição apenas destes sete sintomas, com registros de "sim" ou "não" para a presença destes nos casos confirmados, impossibilitando a análise da ocorrência de outros sintomas.

A análise dos dados foi realizada no Microsoft Excel® versão 2016 e no *software* Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 20.0. O teste do Qui-quadrado (χ^2) foi empregado adotando um nível de significância de 5%.

O estudo foi realizado conforme os princípios éticos que constam na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, não sendo necessária a aprovação do trabalho no Comitê de Ética em Pesquisa devido à utilização de dados secundários.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de 29/02/2020, quando o Espírito Santo confirmou o primeiro caso, até 01/06/2020, foram registrados 13.690 casos confirmados da COVID-19. Após a exclusão de

registros incompletos e pacientes residentes de outros estados, a base de dados consolidada e analisada nesta pesquisa foi composta por dados de 13.376 pacientes.

Dentre os dados apresentados dos pacientes registrados alguns fatores sociodemográficos foram analisados, a fim de entender qual o perfil identificado no início da pandemia da doença no estado do Espírito Santo.

Com base nos dados apresentados na Tabela 1, pode-se constatar que a maior parte dos pacientes confirmados para a COVID-19 são do sexo feminino (54,0%) e observa-se uma maioria na faixa etária de adultos (64,9%), sendo os idosos representando 17,9% dos acometidos.

Tabela 1. Perfil sociodemográfico dos pacientes registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.

Variáveis	Pacientes	
	n	%
Sexo	Feminino	7229 54,0%
	Masculino	6147 46,0%
Região	Central	982 7,3%
	Metropolitana	10467 78,3%
	Norte	550 4,1%
	Sul	1377 10,3%
Faixas Etárias	Crianças (0 a 9 anos)	196 1,5%
	Jovens (10 a 19 anos)	304 2,3%
	Jovens Adultos (20 a 29 anos)	1809 13,5%
	Adultos (30 a 59 anos)	8677 64,9%
	Idosos (60 anos ou mais)	2390 17,9%
Raça	Amarela	743 5,6%
	Branca	4333 32,4%
	Indígena	16 0,1%
	Parda	4417 33,0%
	Preta	847 6,3%
	Não Declarado	3020 22,6%
Total de Pacientes		13376

O sexo feminino foi mais acometido pela doença em todas as faixas etárias analisadas, exceto no grupo dos idosos. Nas crianças (0 a 9 anos) foram responsáveis por 50,5% dos casos; nos adolescentes (10 a 19 anos) por 54,9%; nos jovens adultos (20 a 29 anos), 58,6%; adultos (30 a 59 anos), 54,4% e idosos (60 anos ou mais), 49,3% (dados não apresentados nas tabelas).

Dentre os pacientes que declararam raça, os pardos e pretos somam 39,4% dos pacientes representando a maior proporção dos doentes.

Em relação à região de residência, a maior proporção dos pacientes é da região metropolitana (78,25%) e a menor proporção da região norte (4,11%). Estes dados relacionam-se com o fato da região metropolitana concentrar a maior parte da população do estado.

De acordo com a Tabela 2, podemos observar que os três sintomas mais frequentes foram tosse (61,2%), febre (56,8%) e cefaleia (44,6%). A febre e a tosse foram sintomas frequentes em outros estudos, mas a cefaleia não tem sido muito relatada. Um estudo feito em Wuhan, na China, identificou que a febre foi o sintoma predominante, pois esteve presente em 98% dos casos, seguido por tosse (76%) e dispneia (dificuldade respiratória) (55%) (HUANG et al., 2020). Assim como no estudo de Iser et al. (2020) que, ao realizarem uma revisão narrativa dos principais sintomas em casos confirmados, verificaram que os sintomas mais frequentes são febre, tosse e dispneia, porém, também podem não estar presentes em alguns casos, o que dificulta a definição do caso. Sintomas como alteração de olfato ou paladar têm sido relatados dentre os casos leves, a dispneia foi frequente entre casos graves com a consequente evolução ao óbito. Não encontramos associação entre a quantidade dos sintomas apresentados e evolução da infecção para a cura ou óbito neste estudo (p -valor = 0,06).

É possível perceber que o aspecto sexo apresenta relevância no estudo, de modo que ocorre uma prevalência maior de todos sintomas característicos da COVID-19 no sexo feminino ($p < 0,05$) (Tabela 2), e esse padrão também pode ser observado através do Gráfico 1.

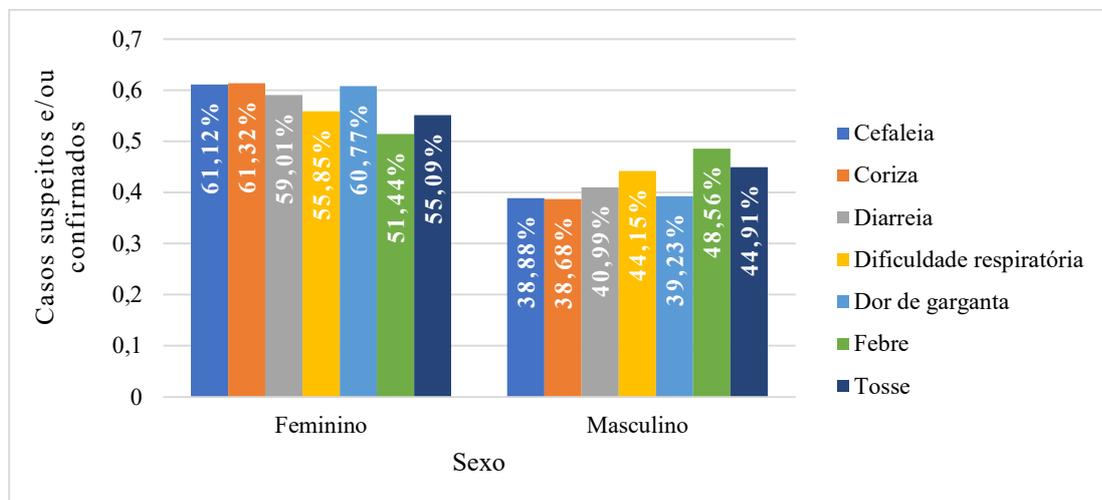
Segundo os estudos de Sierpiński et al. (2020), que pesquisaram a manifestação de alguns sintomas do coronavírus analisando separadamente o sexo feminino e masculino, foi observado uma proporção maior de COVID-19 dentre mulheres do que dentre homens. No estudo de Biadsee et al. (2020), também identificou-se que tosse e coriza foram significativamente mais comuns em mulheres do que em homens. Com isso, observa-se que em outros estudos também ocorre uma prevalência maior dos sintomas no sexo feminino.

No sexo feminino, os sintomas mais comuns foram cefaleia, dor de garganta e coriza e no sexo masculino foram febre, tosse e dificuldade respiratória (Gráfico 1).

Tabela 2. Associação entre os sintomas apresentados, sexo e região de saúde de residência dos pacientes registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.

Sintomas	Pacientes	Sexo		Região				
		Feminino	Masculino	Central	Metropolitana	Norte	Sul	
Febre	n	7595	3907	3688	574	5991	293	737
	(%)	56,8%	51,4%	48,6%	7,6%	78,9%	3,9%	9,7%
	p-valor	-	< 0,001		< 0,001			
Dificuldade Respiratória	n	3454	1929	1525	303	2615	159	377
	(%)	25,8%	55,8%	44,2%	8,8%	75,7%	4,6%	10,9%
	p-valor	-	0,018		< 0,001			
Tosse	n	8188	4511	3677	577	6492	356	763
	(%)	61,2%	55,1%	44,9%	7,0%	79,3%	4,3%	9,3%
	p-valor	-	0,003		< 0,001			
Coriza	n	4547	2788	1759	339	3535	218	455
	(%)	34,0%	61,3%	38,7%	7,5%	77,7%	4,8%	10,0%
	p-valor	-	< 0,001		< 0,001			
Dor de Garganta	n	3541	2152	1389	287	2631	217	406
	(%)	26,5%	60,8%	39,2%	8,1%	74,3%	6,1%	11,5%
	p-valor	-	< 0,001		< 0,001			
Diarreia	n	1732	1022	710	183	1209	104	236
	(%)	12,9%	59,0%	41,0%	10,6%	69,8%	6,0%	13,6%
	p-valor	-	< 0,001		< 0,001			
Cefaleia	n	5965	3646	2319	490	4548	300	627
	(%)	44,6%	61,1%	38,9%	8,2%	76,2%	5,0%	10,5%
	p-valor	-	< 0,001		< 0,001			

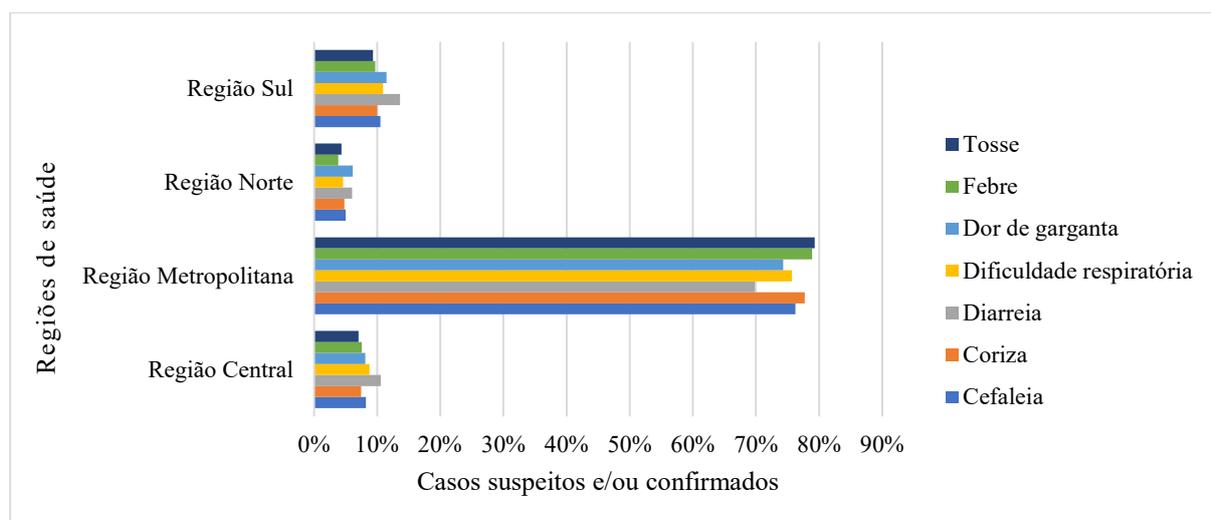
Gráfico 1. Frequência dos sintomas por sexo dos pacientes registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.



Em relação à prevalência dos sintomas nas quatro regiões de saúde, observa-se maior incidência de sintomas na região Metropolitana, que pode ser explicado pelo fato desta região englobar as cidades mais populosas do Espírito Santo, inclusive a capital, Vitória (Gráfico 2). Dentre os municípios agrupados nessa região, estão aqueles de grande porte (Cariacica, Fundão, Guarapari, Serra, Viana, Vila Velha e Vitória) (ESPÍRITO SANTO, 1995) e que contribuem para a maior densidade populacional desta região, representando 55,96% da população total (IBGE, 2020).

A manifestação dos sintomas em todas as regiões segue um padrão semelhante de distribuição, embora seja possível observar uma maior padronização nas regiões Central, Norte e Sul, as quais apresentam como principal sintoma a diarreia, seguido de dor de garganta e/ou dificuldade respiratória. Na região Metropolitana os principais sintomas são tosse, febre e cefaleia (Gráfico 2).

Gráfico 2. Frequência dos sintomas por região de saúde de residência dos pacientes registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.



Quanto a distribuição dos sintomas por grupos de faixa etária, é possível observar que em todas as faixas etárias a diarreia foi o sintoma com menor prevalência (Tabela 3).

Os infectados pelo novo coronavírus são subdivididos em assintomáticos, sintomas leves, moderados, graves e críticos, de modo que a faixa etária se mostra um fator de maior risco para o agravamento da doença, principalmente em idosos, o que não exclui pessoas saudáveis, jovens e atletas de evoluírem para casos graves (ALVES, 2020). A tabela 3 indica uma maior ocorrência de sintomas no grupo dos adultos, de 30 a 59 anos, o que pode decorrer do fato de serem maioria dentre os infectados. Neste grupo, os sintomas mais relatados/registrados foram: 70,49% para dor de garganta, 69,92% para cefaleia, 69,23% para diarreia e 68,42% para coriza.

Tabela 3. Associação entre os sintomas apresentados, faixa etária dos pacientes registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.

Sintomas	Faixas Etárias					
	Crianças (0 a 9 anos)	Jovens (10 a 19 anos)	Jovens Adultos (20 a 29 anos)	Adultos (30 a 59 anos)	Idosos (60 anos ou mais)	
Febre	n	90	148	975	4906	1476
	(%)	1,18%	1,95%	12,84%	64,60%	19,43%
	p-valor	< 0,001				
Dificuldade Respiratória	n	21	44	361	2119	909
	(%)	0,61%	1,27%	10,45%	61,35%	26,32%
	p-valor	< 0,001				
Tosse	n	87	131	1013	5365	1592
	(%)	1,06%	1,60%	12,37%	65,52%	19,44%
	p-valor	< 0,001				
Coriza	n	68	95	748	3111	525
	(%)	1,50%	2,09%	16,45%	68,42%	11,55%
	p-valor	< 0,001				
Dor de Garganta	n	26	82	564	2496	373
	(%)	0,73%	2,32%	15,93%	70,49%	10,53%
	p-valor	< 0,001				
Diarreia	n	20	33	213	1199	267
	(%)	1,2%	1,9%	12,3%	69,2%	15,4%
	p-valor	0,005				
Cefaleia	n	34	119	942	4171	699
	(%)	0,57%	1,99%	15,79%	69,92%	11,72%
	p-valor	< 0,001				

Segundo Guo et al. (2020), a maioria dos infectados têm idades entre 30 e 69 anos e idade média de 42 a 59 anos. Para os autores, os pacientes com menos de 10 anos representam menos de 1% do total de infectados, embora o grupo etário das crianças seja mais suscetível à doença, podendo evoluir para sua forma mais grave.

Nos estudos de Dolce Filho, Nechar e Ribeiro Filho (2020) foram selecionados 27 pacientes do Ceará, Rio de Janeiro e São Paulo, com idade média de 40 anos, no período de 22/03/2020 à 31/03/2020. Os autores observaram que os sintomas mais comuns eram dor de garganta, anosmia, anorexia, diarreia leve, dor abdominal, febre, fadiga, dores musculares, tosse seca e cefaleia. Estes resultados se assemelham aos apresentados nos Gráficos 3 a 6.

A quantidade e diversidade de sintomas é grande e podem ser relacionadas com questões de saúde individuais. Nesta perspectiva, a Associação de Medicina Intensiva Brasileira (2020), publicou um documento apontando que há uma grande dificuldade em reconhecer as

verdadeiras manifestações clínicas deste vírus, pois a maioria dos relatos são de pacientes infectados e que estão hospitalizados com pneumonia. O documento cita ainda que os sintomas mais frequentes são febre, tosse, mialgia/fadiga e dispneia.

Um estudo avaliou a prevalência de sintomas em adultos infectados pelo novo coronavírus em que esses apresentavam os estágios moderado ou severo da doença. Os sintomas mais prevalentes foram a febre (78%), seguido da tosse (57%) (GRANT et al., 2020). Assim, como nos estudos de Wang et al. (2020), em relação a manifestação de sintomas em crianças, observou-se que as principais ocorrências foram febre (48%) e tosse (39%), e 30% tiveram ambos sintomas; além da diarreia (7%) e náusea/vômito (6%). Do total, 35% das crianças apresentaram mais de um sintoma, enquanto 19% foram assintomáticas.

No estudo realizado por Luo et al. (2020), os resultados indicam a febre como o sintoma mais comum (83,33%), posteriormente a tosse (68,33%), falta de apetite (41,67%), fadiga (40%) e outros sintomas menos comuns como dificuldade respiratória (27,27%) e diarreia (16,36%). Ainda em relação a presença de sintomas em adultos (22 a 47 anos), segundo Kim et al. (2020), um estudo avaliando 172 indivíduos sintomáticos infectados com a forma leve da doença apresentaram como principal sintoma a tosse (69%), escarro (68%) e hiposmia (68%), onde a febre, geralmente considerada como o principal sintoma, foi identificada em apenas 11,6% dos pacientes avaliados.

Gráfico 3. Frequência dos sintomas em crianças (0 a 9 anos) registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.

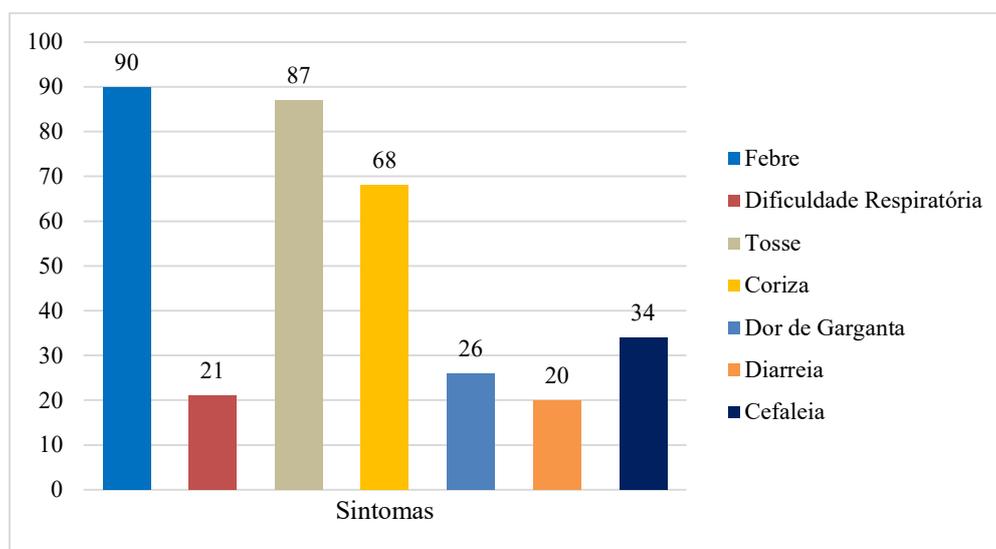


Gráfico 4. Frequência dos sintomas em jovens (10 a 19 anos) registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.

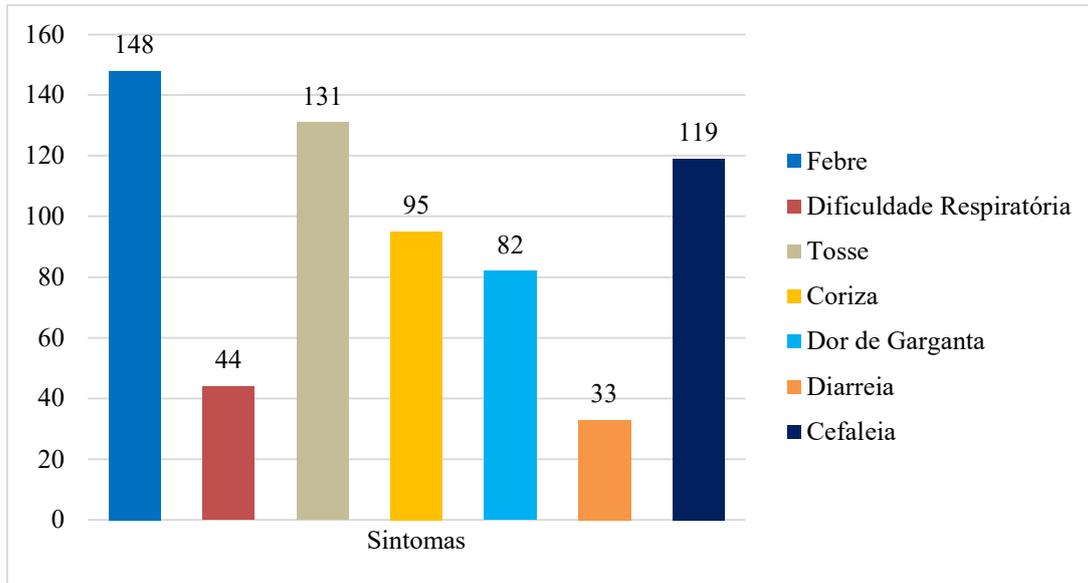


Gráfico 5. Frequência dos sintomas em adultos (20 a 29 anos) registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.

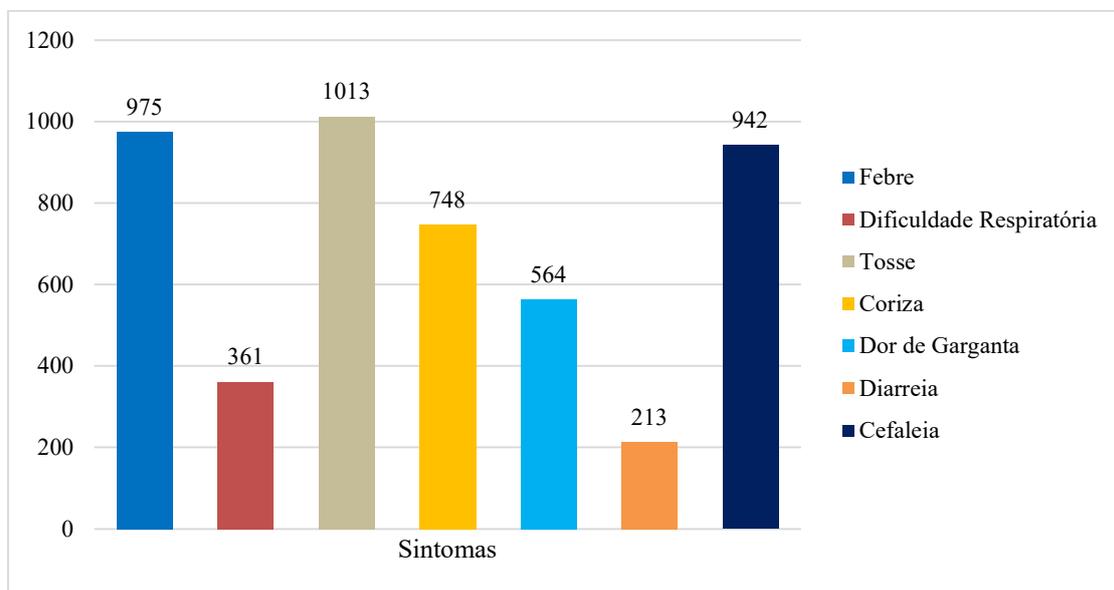
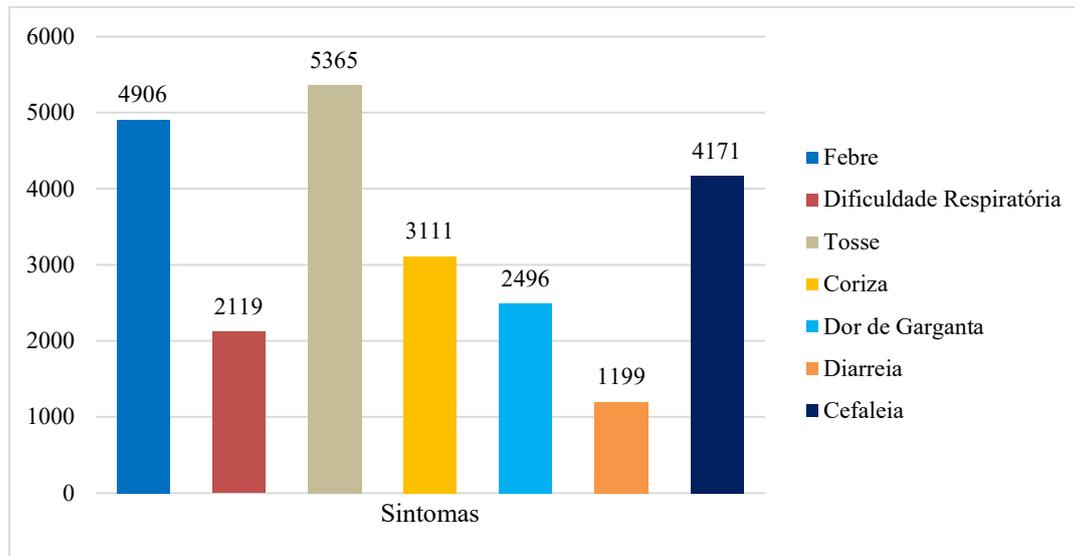
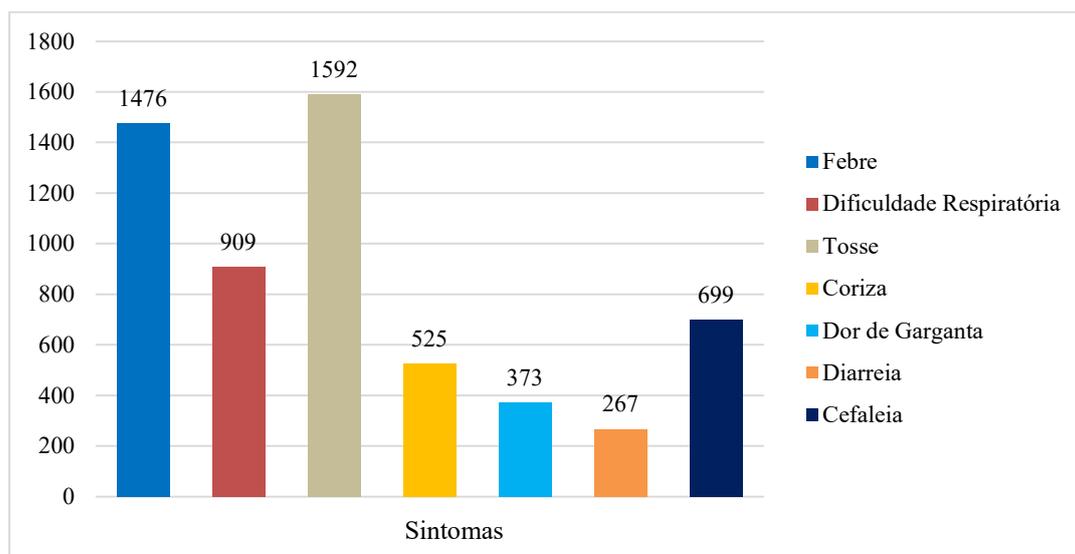


Gráfico 6. Frequência dos sintomas em adultos (30 a 59 anos) registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.



Para o caso do sintoma diarreia, apresentado no gráfico 7, sua significância destoante pode ser reflexo da distribuição absoluta, pois seus valores são os menores entre todos os demais sintomas. Dentre os sintomas gastrointestinais, a diarreia mostra-se como o mais comum nos pacientes infectados com o novo coronavírus (KUMAR et al., 2020; LEE; HUO; HUANG, 2020), porém em nosso estudo foi um sintoma pouco relatado.

Gráfico 7. Frequência dos sintomas em idosos (60 anos ou mais) registrados como casos confirmados da COVID-19 no Espírito Santo, 2020.



Apesar de não abordados neste trabalho, diversos estudos apresentam outros sintomas associados a contaminação do novo coronavírus, como por exemplo, as doenças oftalmológicas

(CHEN et al., 2020; HONG et al, 2020; SCALINCI & BATTAGLIOLA, 2020), os quais não foram inseridos nesta análise devido ausência na base de dados utilizada, de modo que a Secretaria Estadual de Saúde do ES não está contabilizando outros sintomas senão os citados neste estudo.

Há também relatos de outros sintomas, como os apresentados no estudo com pacientes em duas UTI realizado por Helms et al. (2020) em Estrasburgo, França. Os autores identificaram a presença de manifestações neurológicas naqueles que apresentavam a forma grave da infecção do coronavírus. As manifestações neurológicas têm sido pouco avaliadas, quando comparadas às manifestações respiratórias em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, e considerando que pacientes graves possuem maior risco de desenvolver sintomas neurológicos no decorrer dos estágios da doença, o comprometimento e danos causados podem ser maiores (GKLINOS, 2020).

Kumar et al. (2020), analisaram a ocorrência de manifestações gastrointestinais em pacientes infectados na forma severa e leve da doença, onde a diarreia foi o sintoma mais comum, e náusea, vômito, dor abdominal e sangramento são menos reportados. Os sintomas gastrointestinais, observados nas pessoas infectadas pelo novo coronavírus, oferecem maior risco de morte para esses pacientes e podem ocorrer na ausência de manifestações respiratórias, que são os sintomas mais relatados, além de poderem estar associados a presença de lesões hepáticas (LEE; HUO; HUANG, 2020).

Outras ocorrências observadas, são as limitações da capacidade olfativa e o paladar em alguns pacientes, podendo estes se apresentarem como os únicos sintomas da doença (HJELMESAETH & SKAARE, 2020). Helms et al. (2020), também identificou um maior risco de trombose em pacientes contaminados pela forma severa do SARS-CoV-2.

Este estudo tem como principal benefício a apresentação e análise dos sintomas apresentados pelas pessoas acometidas pela COVID-19, contribuindo para a compreensão do panorama e distribuição dos sintomas nos casos confirmados, embora, tenha algumas limitações, que são aquelas comuns no uso das bases de dados secundários, como a definição das variáveis definidas pelos sistemas de armazenamento e agregação dos dados.

CONCLUSÃO

Os sintomas apresentados pelos pacientes confirmados com a COVID-19 no Espírito Santo, relacionam-se com aqueles apresentados na literatura, mas sua distribuição difere entre as regiões de saúde mais e menos populosas. A distribuição dos casos assemelha-se com o

padrão etário da população, apresentando maior concentração entre adultos de 30 a 39 anos e na população do sexo feminino.

Várias literaturas apontaram a incidência de outros sintomas não relatados aqui, como manifestações neurológicas, oculares, gastrointestinais e limitação da capacidade olfativa e degustativa. No entanto, é preciso considerar que o Painel COVID-19 da Secretaria Estadual de Saúde apresenta a limitação da informação dos sete sintomas apresentados neste estudo. Fundamentado no que foi explorado e analisado acerca do tema e face ao cenário de pandemia e incertezas, é primordial futuras pesquisas envolvendo o prognóstico e sintomas ocasionados pelo novo coronavírus em diferentes contextos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVES JMR. DIVISÃO MÉDICA. Protocolo para manejo clínico, diagnóstico, avaliação e tratamento da COVID-19. UNIRIO - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. 2020. Available from: <http://www.unirio.br/arquivos/noticias/protocolo-covid-21-05-2020.pdf/view>. Accessed on June 29, 2020.
2. AQUINO EML, SILVEIRA IH, PESCARINI JM, AQUINO R, SOUZA-FILHO JA, ROCHA AS, FERREIRA A, VICTOR A, TEIXEIRA C, MACHADO DB, PAIXÃO E, ALVES FJO, PILECCO F, MENEZES G, GABRIELLI L, LEITE L, ALMEIDA MCC, ORTELAN N, FERNANDES QHRF, ORTIZ RJF, PALMEIRA RN, PINTO JUNIOR EP, ARAGÃO E, SOUZA LEPPF, NETTO MB, TEIXEIRA MG, BARRETO ML, ICHIHARA MY, LIMA RTRS. Medidas de distanciamento social no controle da pandemia de COVID-19: Potenciais impactos e desafios no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva* (25): 2423-2446, 2020. Available from: <https://doi.org/10.1590/1413-81232020256.1.10502020>. Accessed on July 2, 2020.
3. ASSOCIAÇÃO DE MEDICINA INTENSIVA BRASILEIRA. Recomendações da Associação de Medicina Intensiva Brasileira para a abordagem do COVID-19 em medicina intensiva, 2020. Available from: https://www.amib.org.br/fileadmin/user_upload/amib/2020/junho/10/Recomendacoes_AMIB-3a_atual.-10.06.pdf. Accessed on June 2, 2020.
4. BIADSEE A, BIADSEE A, KASSEM M, DAGAN O, MASARWA S, ORMIANER Z. Olfactory and Oral Manifestations of COVID-19: Sex-Related Symptoms-A Potential Pathway to Early Diagnosis. *AAO-HNS* 1-7, 2020.

5. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico n° 02/2020. Available from: <https://coronavirus.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Accessed on June 29, 2020.
6. BRASIL. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Módulo de Princípios Epidemiologia para o Controle de Enfermidades (MOPECE). Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/modulo_principios_epidemiologia_4.pdf. Accessed on July 24, 2020.
7. CHAVES T, BELLEI N. SARS-COV-2, o novo Coronavírus. *Rev Med* 99(1): 1-4, 2020.
8. CHEN L, DENG C, CHEN X, ZHANG X, CHEN B, YU H, QIN Y, XIAO K, ZHANG H, SUN X. Ocular manifestations and clinical characteristics of 535 cases of COVID-19 in Wuhan, China: a cross-sectional study. *Acta Ophthalmol* 1-9, 2020.
9. CRODA JHR, GARCIA LP. Resposta imediata da Vigilância em Saúde à epidemia da COVID-19. *Epidemiol. Serv. Saúde* 29(1): 2020. Available from: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742020000100021>. Accessed on June 28, 2020.
10. DO BÚ EA, ALEXANDRE MES, BEZERRA VAS, SÁ-SERAFIM RCN, COUTINHO MPL. Representações e ancoragens sociais do novo coronavírus e do tratamento da COVID-19 por brasileiros. *Estud Psicol (Campinas)* 37, 1-13, 2020.
11. DOLCE FILHO R, NECHAR C, RIVEIRO FILHO A. Estudo preliminar de sintomas e medicamento prevalentes do “Gênio Epidêmico” da pandemia de COVID-19 no Brasil. *Associação Paulista de Homeopatia*, 2020. Available from: <https://aph.org.br/estudo-preliminar-de-sintomas-e-medicamentos-prevalentes-do-genio-epidemico-da-pandemia-de-covid-19-no-brasil/>. Accessed on June 28, 2020.
12. ESPÍRITO SANTO. Lei Complementar n° 58, de 23 de fevereiro de 1995,1995.
13. ESPÍRITO SANTO. Painel COVID-19 Estado do Espírito Santo. Available from: <https://coronavirus.es.gov.br/painel-covid-19-es>. Accessed on June 01, 2020.
- 14.ESPÍRITO SANTO. Plano Diretor de Regionalização da Saúde-Espírito Santo 2011. Secretaria Estadual de Saúde. 2011. Available from: https://saude.es.gov.br/Media/sesa/SISPACTO/PDR-Plano%20Diretor%20de%20Regionaliza%C3%A7%C3%A3o_ES_2011.pdf. Accessed on June 25, 2020.
15. ESPÍRITO SANTO. Secretaria de Estado de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde.

- Boletim Epidemiológico n° 22/2020. Available from: https://saude.es.gov.br/Media/sesa/coronavirus/Boletins/Boletim%20Covid-19_05-1.pdf. Accessed on June 30, 2020.
16. ESPÍRITO SANTO. Secretaria de Estado da Saúde. NOTA TÉCNICA COVID-19 N° 29/2020 - GEVS/SESA/ES. Definição de Casos Operacionais e Critérios de Coleta. 30 de Abril de 2020. Available from: <https://coronavirus.es.gov.br/Media/Coronavirus/NotasTecnicas/NOTA%20T%C3%89CNICA%20COVID.19%20N.%2029.20%20Defini%C3%A7%C3%A3o%20de%20caso%20e%20crit%C3%A9rios%20de%20coleta.pdf>. Accessed on April 30, 2020.
 17. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. FIOCRUZ. Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (ICICT). MonitoraCovid-19. Rio de Janeiro, 2020. Available from: <https://bigdata-covid19.icict.fiocruz.br/>. Accessed on July 27, 2020.
 18. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. FIOCRUZ. Covid-19 – Perguntas e respostas: Por que a doença causada pelo novo vírus recebeu o nome de Covid-19? Available from: <https://portal.fiocruz.br/pergunta/por-que-doenca-causada-pelo-novo-virus-recebeu-o-nome-de-covid-19>. Accessed on July 01, 2020.
 19. GKLINOS P. Neurological manifestations of COVID-19: a review of what we know so far. *J Neurol* 26, 1-5, 2020.
 20. GRANT MC, GEOGHEGAN L, ARBYN M, MOHAMMED Z, MCGUINNESS L, CLARKE EL, WADE RG. The prevalence of symptoms in 24,410 adults infected by the novel coronavirus (SARSCoV-2; COVID-19): A systematic review and meta-analysis of 148 studies from 9 countries. *PLoS ONE* 15(6): 1-19, 2020.
 21. GUO G, YE L, PAN K, CHEN Y, XING D, YAN K, CHEN Z, DING N, LI W, HUANG H, ZHANG L, LI X, XUE X. New Insights of Emerging SARS-CoV-2: Epidemiology, Etiology, Clinical Features, Clinical Treatment, and Prevention. *Front Cell Develop Biol* 8, 1-22, 2020.
 22. HELMS J, KREMER S, MERDJI H, CLERE-JEHL R, SCHENCK M, KUMMERLEN C, COLLANGE O, BOULAY C, FAFI-KREMER S, OHANA M, ANHEIM. Neurologic Features in Severe SARS-CoV-2 Infection. *New England J Med* 382(23): 2268-2270, 2020.
 23. HELMS J, TACQUARD C, SEVERAC F, LEONARD-LORANT I, OHANA M,

- DELABRANCHEX, MERDJI H, CLERE-JEHL R, SCHENCK M, GANDET FF, FAFI-KREMER S, CASTELAIN V, SCHNEIDER F, GRUNEBAUM L, ANGLÉS-CANO E, SATTLER L, MERTES PM, MEZIANI F. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med* 46, 1089-1098, 2020.
24. HJELMESAETH J, SKAARE D. Loss of smell or taste as the only symptom of COVID-19. *J Nor Legeforen* 140(7): 10.4045/tidsskr.20.0287, 2020.
25. HOCHMAN B, NAHAS FX, OLIVEIRA FILHO RS, FERREIRA LM. Desenhos de pesquisa. *Acta Cir Bras* 20(2): 1-8, 2005.
26. HONG N, YU W, XIA J, SHEN Y, YAP M, HAN W. Evaluation of ocular symptoms and tropism of SARS-CoV-2 in patients confirmed with COVID-19. *Acta Ophthalmol* 10.1111/aos.14445, 2020.
27. HUANG C, WANG Y, LI X, REN L, ZHAO J, HU Y, ZHANG L, FAN G, XU J, GU X, CHENG Z, YU T, XIA J, WEI Y, WU W, XIE X, YIN W, LI H, LIU M, XIAO Y, GAO H, GUO L, XIE J, WANG G, JIANG R, GAO Z, JIN Q, WANG J, CAO B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* 395(10223): 497-506, 2020.
28. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estimativas de população para o Tribunal de Contas da União, 2020. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/ibge/poptdescr.htm>. Accessed on June 29, 2020.
29. ISER B, SLIVA I, RAYMUNDO V, POLETO M, SCHUELTER-TREVISOL F, BOBINSKI F. Definição de caso suspeito da COVID-19: uma revisão narrativa dos sinais e sintomas mais frequentes entre os casos confirmados. *Epidemiol Serv Saúde* 29(3): e2020233, 2020.
30. KIM GU, KIM MJ, RA SH, LEE J, BAE S, JUNG J, KIM SH. Clinical characteristics of asymptomatic and symptomatic patients with mild COVID-19. *Clinical Microbiol Infec* 26: 948.e1e948.e3, 2020.
31. KUMAR VCS, MUKHERJEE S, HARNE PS, SUBEDI A, GANAPATHY MK, PATTHIPATI VS, SAPKOTA B. Novelty in the gut: a systematic review and meta-analysis of the gastrointestinal manifestations of COVID-19. *BMJ Open Gastroenterol* 7(1): e000417, 2020.

32. LANA RM, COELHO FC, GOMES MFC, CRUZ OG, BASTOS LS, VILLELA DAM, CODEÇO CT. Emergência do novo coronavírus (SARS-CoV-2) e o papel de uma vigilância nacional em saúde oportuna e efetiva. *Cad Saude Pub* 36(3): e00019620, 2020.
33. LEE IC, HUO TI, HUANG YH. Gastrointestinal and liver manifestations in patients with COVID-19. *J Chin Med Assoc* 83(6): 521-523, 2020.
34. LUO Y, WU J, LU J, XU X, LONG W, YAN G, TANG M, ZOU LI, XU D, ZHUO P, SI Q, ZHENG X. Investigation of COVID-19-related symptoms based on factor analysis. *Ann Palliat Med* 9(4): 1851-1858, 2020.
35. MACIEL JC, CASTRO-SILVA II, FARIAS MR. Análise inicial da correlação espacial entre a incidência de COVID-19 e o desenvolvimento humano nos municípios do estado do Ceará no Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 23: E200057, 2020.
36. NATIONAL CENTER FOR IMMUNIZATION AND RESPIRATORY DISEASES. Interim Infection Prevention and Control Recommendations for Patients with Suspected or Confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Healthcare Settings. *Centers for Disease Control and Prevention*. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/infection-control-recommendations.html>. Accessed on June 29, 2020.
37. PRICE-HAYWOOD EG, BURTON J, FORT D, SEOANE L. Hospitalization and Mortality among Black Patients and White Patients with Covid-19. *N Engl J Med* 382(26): 2534-2543, 2020.
38. RIVERA-IZQUIERDO M, VALERO-UBIerna MC, R-DElAMO JL, FERNÁNDEZ-GARCÍA MA, MARTÍNEZ-DIZ S, TAHERY-MAHMOUD A, RODRÍGUEZ-CAMACHO M, GÁMIZ-MOLINA AB, BARBA-GYENGO N, GÁMEZ-BAEZA P, CABRERO-RODRÍGUEZ C, GUIRADO-RUIZ PA, MARTÍN-ROMERO DT, JIMÉNEZ-MEJÍAS E. Sociodemographic, clinical and laboratory factors on admission associated with COVID-19 mortality in hospitalized patients: a retrospective observational study. *PLoS ONE* 15(6): e0235107, 2020.
39. SÁFADI MAP, RODRIGUES C, CARVALHO AP, PIMENTEL AM, BEREZIN EN, COSER E, ROCHA MAW, MARQUES SR. Novo coronavírus (COVID-19). Sociedade Brasileira de Pediatria: Departamento Científico de Infectologia. 2020. Available from: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/22340d-DocCientifico_Novo_coronavirus.pdf. Accessed on June 29, 2020.

40. SCALINCI SZ, BATTAGLIOLA ET. Conjunctivitis can be the only presenting sign and symptom of COVID-19. *IDCases* 20, 1-3, 2020.
41. SIERPIŃSKI R, PINKAS J, JANKOWSKI M, ZGLICZYNSKI W, WIERZBA W, GUJSKI M, SZUMOWSKI L. Gender differences in the frequency of gastrointestinal symptoms and olfactory or taste disorders among 1,942 non-hospitalized patients with COVID-19. *Pol Arch Intern Med* 130(6): 501-505, 2020.
42. SILVA ACR, JESUS TS, SANTOS SS, SANTOS GJ, RODRIGUES WP. COVID-19, o novo coronavírus: um alerta emergencial para as principais estratégias de prevenção da saúde pública. *Scire Salutis* 10(2): 26-34, 2020.
43. WALKER P, WHITTAKER C, WATSON O, BAGUELIN M, AINSLIE K, BHATIA S, BHATT S, BOONYASIRI A, BOYD O, CATTARINO L, CUCUNUBÁ Z, CUOMO-DANNENBURG G, DIGHE A, DONNELLY C, DORIGATTI I, VAN ELSLAND S, FITZJOHN R, FLAXMAN S, FU H, GAYTHORPE K, GEIDELBERG L, GRASSLY N, GREEN W, HAMLET A, HAUCK K, HAW D, HAYES S, HINSLEY W, IMAI N, JORGENSEN D, KNOCK E, LAYDON D, MISHRA S, NEDJATI-GILANI G, OKELL L, RILEY S, THOMPSON H, UNWIN J, VERITY R, VOLLMER M, WALTERS C, WANG H, WANG Y, WINSKILL P, XI X, ERGUSON N, ERGUSON N. The Global Impact of COVID-19 and Strategies for Mitigation and Suppression. *Imperial College London*, 2020. Available from: <https://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/medicine/sph/ide/gida-fellowships/Imperial-College-COVID19-Global-Impact-26-03-2020v2.pdf>. Accessed on May 20, 2020.
44. WANG D, HU B, HU C, ZHU F, LIU X, ZHANG J, WANG B, XIANG H, CHENG Z, XIONG Y, ZHAO Y, LI Y, WANG Z, PENG Z. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 323(11): 1061-1069, 2020.

Knowledge about cleaning and maintenance of household water reservoirs in one of the oldest municipalities of Brazil

Luiz Gustavo de Paiva Nunes¹, Maysa do Vale Oliveira¹, Anelise Andrade de Souza², Lohanna de Farias Lopes³, Pollyanna Castro e Silva Dias⁴, Guilherme Bicalho Nogueira⁴, Marco Antônio Andrade de Souza¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus, Espírito Santo, Brazil

²Fundação Oswaldo Cruz, Instituto René Rachou, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

³Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Farmácia e Nutrição, Universidade, Alegre, Espírito Santo, Brazil

⁴Superintendência Regional de Saúde de São Mateus, SESA/ES, São Mateus, Espírito Santo, Brazil

Corresponding author: Marco Antônio Andrade de Souza

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde

Rodovia Governador Mário Covas, Km 60, s/n, Litorâneo, CEP 29932-540, São Mateus, Espírito Santo, Brazil

Tel: +55 27 3312-1544

Email: marco.souza@ufes.br

Received: July 3, 2020

Accepted: July 23, 2020

ABSTRACT

Much of the population does not have access to treated and piped water in the world, and the users themselves are responsible for its harvesting and storage, collecting from any available source, frequently without treatment, or any kind of protection against contamination. Considering that water can be contaminated during storage in the household reservoir, this study sought to evaluate the knowledge of the population about the maintenance of water reservoirs in São Mateus, one of the oldest cities in Brazil, located in the state of Espírito Santo. The information was collected through an interview with residents of 22 districts of the municipality. It was observed that all interviewees were aware of the need to clean the water tank. However, in 14.29% (n=10) of the households, cleaning was not performed. Regarding the cleaning period of the water tank, 61.43% (n=43) of the residents stated that six months was the correct period for cleaning, with 55.71% (n=39) of the residents effectively performing the cleaning in that period. The obtained data show that the knowledge of the population about the correct maintenance of household reservoirs is still unsatisfactory. This leads to a decrease in the quality of stored water and increases the spread of waterborne diseases.

Keywords: Water Contamination. Household Reservoir. Storage.

INTRODUCTION

Much of the population does not have access to treated and piped water in the world, and the users themselves are responsible for its harvesting and storage, collecting from any available source, frequently without treatment, or any kind of protection against contamination. It is worth noting that even urban and rural areas, which have a supply network, are not free of some kind of contamination due to deficiencies in the treatment process, the vulnerability of the distribution system, or due to a low-quality source (SOBSEY *et al.*, 2003).

In nineteenth-century Brazil, the exponential growth of the population in cities led to the need to improve and expand the water supply network, hitherto carried out through springs, fountains, and watering holes. Due to this improvement in the network, there was a need to use water boxes for storage in households (OLIVEIRA, 2004; ANA, 2007). A study conducted by Freitas *et al.* (2001) showed that, due to the lack of adequate maintenance, water could be contaminated in the household reservoir itself.

In the reservoir, impurities from various sources, such as the distribution network itself, may suffer sedimentation, resulting in changes in pH, color, and turbidity. These changes caused by the organic matter deposited in the bottom of water tanks decrease the oxygen content and residual chlorine, creating conditions for bacterial growth, thus reducing water quality (JULIÃO, 2011).

The fact that water is a scarce resource causes its quality to generate an increasing concern since it is used for several purposes and the low quality of this resource can trigger

disease outbreaks (WHO, 2013) that directly reflect on the life quality of the population (OKURA & SIQUEIRA, 2005). According to the World Health Organization, waterborne pathogenic microorganisms are responsible for about 80% of diseases occurring in developing countries (COELHO et al., 2007).

In this context, the objective of this study was to evaluate the knowledge of the population in the city of São Mateus, state of Espírito Santo (ES) about the processes of hygiene and disinfection of their household water reservoirs.

METHODOLOGY

Study Site

The study was conducted in the municipality of São Mateus, one of the oldest municipalities in Brazil, whose date of foundation dates back to 1544. Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) estimates, the municipality had a population of 130,611 inhabitants in 2019 (IBGE, 2019).

Interview

The information was collected during 5 months of 2017 (between May and September) through an interview with 70 residents chosen at random. The interviews were conducted at the time of collecting water samples for a study by Nunes (2018) and the sample number was defined following the National Guideline for Sampling of Water Quality Surveillance for Human Consumption of the Ministry of Health (BRASIL, 2016a). During the interview, a questionnaire with 35 multiple-choice questions about socioeconomic aspects and residents' knowledge about the correct maintenance of household reservoirs was applied. In this interview, the following issues were discussed: gender; age; the level of education; family income; knowledge about the health-disease process; material of the household reservoir; reservoir cover; knowledge about the correct period for sanitizing reservoirs; the period in which the reservoirs were cleaned; products and materials used to clean the reservoirs.

Tabulation of results and graphics construction was performed using the software Microsoft Excel 2016[®] and GraphPad Prism 7[®].

Ethical Aspects

The project was submitted and approved by the ethics committee from Universidade Federal do Espírito Santo - project number 1,998,738.

RESULTS AND DISCUSSION

Interviews were carried out with 70 residents selected in the districts of the municipality of São Mateus, about socio-economic aspects to determine the profile of the residents and their knowledge about cleaning and maintenance of household reservoirs. Of the interviewees, 57.14% (n=40) were females, with 78.64% of the total interviewees aged over 40 years.

The data on the family income of the houses visited show that 22.85% (n=16) of the families have a monthly income of up to one minimum salary (R\$ 937.00), and the majority of families (37.14%) (n=26) have an income between 1 and 3 minimum salaries (Table 1).

Table 1. Income range of the families interviewed.

Family income bracket	%	(n)
Less than 1 minimum salary	5.72	4
1 minimum salary*	17.14	12
From 1 to 3 minimum salaries	37.14	26
From 3 to 5 minimum salaries	25.71	18
From 5 to 10 minimum salaries	7.14	5
Above 10 minimum salaries	2.86	2
Not known	4.29	3

***Minimum salary equivalent to R\$ 937,00 in the year 2017.**

Concerning the educational background of the interviewees, there was a predominance of residents with a high school education (34.29%) (n=24), and the education level of the population was relatively low since only 20.00% (n=14) had a university degree and 7.14% (n=5) reported never having studied (Table 2).

Table 2. Level of education of the interviewees.

Level of education	%	(n)
Elementary school I	21.43	15
Elementary school II	17.14	12
High school	34.29	24
University degree	20.00	14
Never studied	7.14	5

Lack of study may reflect the poor knowledge of health-disease processes. Here, 90,00% (n=63) of the study participants reported never having had any kind of parasitic infection during their lifetimes, about half (48.57%) (n=34) reported not being aware of how the disease is transmitted. Similarly, Barros et al. (2011) stated that the perception of the health-disease process depends on the degree of understanding of signs and symptoms, access to medical services and diagnostic tests, and the population with the lowest level of education and income have more restricted access to information and quality health services.

Regarding the structure of households, all had at least one bathroom, 81.43% (n=57) of them located exclusively in their interior. The drainage of these toilets is worrisome, since the sewage system serves less than half (44.29%) (n=31) of the visited residences, while the rest of the houses use septic tanks not connected to the sewerage system (50.00%) (n=35) or discharges the sewage directly into the river (1.43%) (n=1). Also, in 4.28% (n=3) of the households, the residents did not know how to respond to bathroom drainage.

Concerning water tanks, there was at least one in all the visited households, with 97.14% (n=68) of the interviewees stating that they had covers. This result is very relevant, since uncovered reservoirs expose stored water to weathering and external contaminants, leaving the population that consumes it vulnerable to diseases. Wright et al. (2004) stated that adequate and protected reservoir storage greatly reduces the contamination of the water stored there, reinforcing the importance of the use of water tanks with lids and in good maintenance conditions.

Another important point for the correct water storage is the material used in the construction of the household reservoirs. In this study, 82.86% (n=58) of respondents answered that the water tank was made of polyethylene while, in 10% (n=7), it was made of asbestos. In

two households, there were two tanks, one of polyethylene and another of asbestos.

There is currently a predominance of polyethylene reservoirs in households at the expense of asbestos. According to the manufacturer, water tanks made of polyethylene and polypropylene are more used once they are lighter and more durable, besides having smooth internal walls, which facilitates their cleaning and maintenance. Besides, in the state of São Paulo, law nº 12.684 of 2007 recommends that the asbestos water tanks be replaced, as they contain toxic fibers harmful to health (SÃO PAULO, 2007). Therefore, the use of tanks made with suitable materials can bring benefits to the quality of the water stored in households, as they avoid the accumulation of dirt on their internal walls and, consequently, their contamination.

When questioned about the cleaning of the water tank, all respondents (n=70) stated that they were aware of this need; however, in 14.29% (n=10) of the households, cleaning was not performed. Among the residents who did not clean it, 80% (n=8) used difficult to access as a justification. The results of this study are similar to those found by Julião (2011), whose majority (86%) stated that they were aware of the need to clean the water tank. However, not everyone has this habit, as evidenced in a study by Campos et al. (2003) in the city of Araraquara - SP, where 40.5% of the study population did not clean their reservoirs due to the difficult access. Thus, it is possible to infer that the failure to perform the cleaning of household reservoirs is associated with the lack of interest on the part of the population (DARCI BOM, 2002) due to the difficult access to the water tanks, since most are located under the roof, discouraging the adoption of this practice.

Concerning the knowledge of the population of São Mateus about the adequate frequency for the maintenance of reservoirs, 61.43% (n=43) of the participants indicated the correct period for cleaning, which is six months as recommend by National Sanitary Surveillance Agency (BRASIL, 2016b) (Figure 1).

Regarding the cleaning of the reservoirs, 55.71% (n=39) of the respondents stated that they had cleaned their tank within the six months, but 22.86% (n=16) of study participants did not know how to report when cleaning was last performed (Figure 2).

KNOWLEDGE ABOUT CLEANING PERIOD

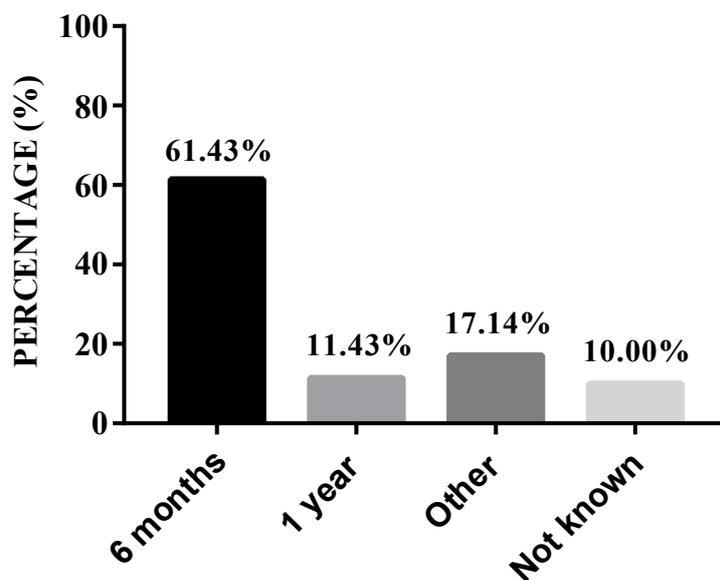


Figure 1. Knowledge of the population about the correct period to perform the cleaning of household reservoirs.

CLEANING PERIOD OF WATER TANKS

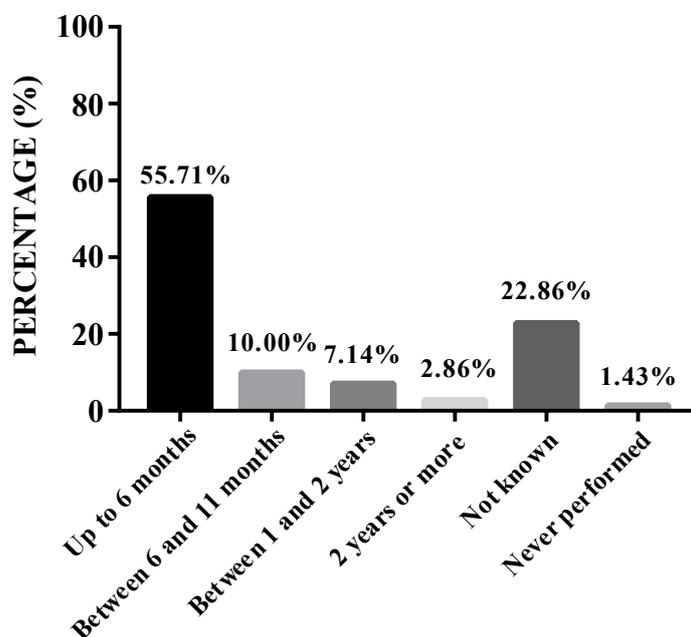


Figure 2. Frequency of cleaning periods of household reservoirs by the residents.

In this context, and according to the recommendations of the National Health Foundation (BRASIL, 2006), cleaning within an appropriate period avoids the accumulation of

sediments and the consequent formation of the biofilm that is adhered to the inner walls of the water tank. which can generate a contamination source (BRASIL, 2006).

Still, regarding the cleaning period, the most critical results were observed by Darci Bom (2002) and Julião (2011), whose cleaning of the reservoirs was carried out in an adequate period in only 23% and 12% of the households, respectively. There is certain negligence of the population in the municipality of São Mateus about the correct period to carry out the cleaning of the water tank since 63% know the correct cleaning period. The results are not ideal, which can cause serious damage to the quality of stored water.

It is important to mention that another factor investigated was which products and materials are most suitable for cleaning the water tanks. A total of 62.86% (n=44) correctly indicated water, bleach, and fiber brush, recommended by the manufacturer as more suitable for this process (Figure 3). The remainder answered not knowing or indicated products unsuitable for water tank maintenance.

MATERIALS AND CLEANING PRODUCTS

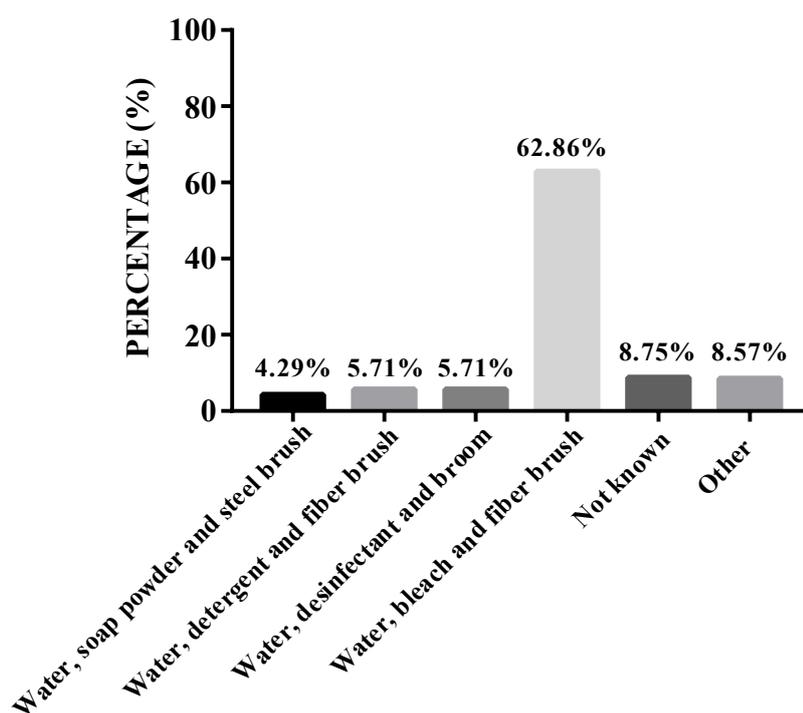


Figure 3. Materials and products used to clean household reservoirs.

In addition to performing cleaning at the appropriate period, using appropriate products and materials is essential for the quality of the stored water. The use of detergents, disinfectants, soap, and steel brushes can cause corrosion of the water tank, allowing impurities and residue

fixation, with consequent growth of microorganisms, besides causing various health problems such as allergies, eczema, and asthma, as reported by Corrêa (2005) and in the National Guideline for Sampling of Water Quality Surveillance for Human Consumption (BRASIL, 2016a).

CONCLUSIONS

The results indicate that, although the most of interviewees are aware of the need to clean the reservoirs, we still have a problem with the frequency with which this cleaning is carried out. Improper maintenance can lead to the accumulation of impurities in the water tanks and, consequently, the contamination of water that arrives from the public supply network. Therefore, educational actions and public policies for access to water and adequate sewage are necessary to avoid the spread of waterborne diseases.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the financial support from FAPES.

REFERENCES

1. ANA. AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. 2007. A história do uso da água no Brasil, do descobrimento ao século XX. Agência Nacional das Águas. Brasília. Available from: http://historiadaagua.ana.gov.br/livro_historia_agua.pdf. Accessed on January 22, 2020.
2. BARROS MBA, FRANCISCO PMSB, ZANCHETTA LM, CÉSAR CLG. Tendências das desigualdades sociais e demográficas na prevalência de doenças crônicas no Brasil, PNAD: 2003-2008. *Cien Saude Colet* 16(9): 3755-3768, 2011.
3. BRASIL. Manual de Saneamento, 3^a ed (Sanitation Manual, 3th edn). Fundação Nacional de Saúde. 2006. Available from: <https://www.ebah.com.br/search?q=funasa+manual+de+saneamento>. Accessed on February 25, 2020.
4. BRASIL. Diretriz Nacional de Amostragem da Vigilância de Qualidade de Água para Consumo Humano. Ministério da Saúde. 2016a. Available from: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretriz_nacional_plano_amostragem_agua.pdf

- f. Accessed on February 25, 2020.
5. BRASIL. Resolução - RDC nº 91, de 30 de junho de 2016. Dispõe sobre as Boas Práticas, para os sistemas de abastecimento de água ou solução alternativa coletiva de abastecimento de água em portos, aeroportos e passagens de fronteiras. Brasília, 2016b.
 6. CAMPOS JADB, FARACHE-FILHO A, FARIA JB. Uso de reservatórios domiciliares e conhecimento da população. *Alim Nutr Araraquara* 14(2): 171-175, 2003.
 7. COELHO DA, SILVA PMF, VEIGA SMOM, FIORINI JE. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais comercializadas em supermercados da cidade de Alfenas, MG. *Hig Alim* 21(151): 88-92, 2007.
 8. CORRÊA LML. Saneantes domissanitários e saúde: um estudo sobre a exposição de empregadas domésticas. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva), Núcleo de Estudos de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005, 94f.
 9. DARCI BOM J. A influência da qualidade da água, de reservatórios domiciliares na qualidade de vida da população de Umuarama - PR. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002, 93f.
 10. FREITAS MBD, BRILHANTE OM, ALMEIDA LMD. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. *Cad Saúde Pública* 17(3): 651-660, 2001.
 11. IBGE. INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estimativas da população de São Mateus no ano de 2019. Available from: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/es/sao-mateus.html>. Accessed on March 28, 2020.
 12. JULIÃO FC. Avaliação das condições microbiológicas e físico-químicas da água de reservatório domiciliar e predial: importância da qualidade dessa água no contexto da saúde pública. Tese (Doutorado em Ciências), Avaliação das condições microbiológicas e físico-químicas da água de reservatório domiciliar e predial: importância da qualidade dessa água no contexto da saúde pública, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011, 157f.
 13. OKURA MH, SIQUEIRA KB. Enumeração de coliformes totais e coliformes termotolerantes em água de abastecimento e de minas. *Hig Alim* 19(135): 86-91, 2005.
 14. OLIVEIRA APFM. Qualidade da água de abastecimento desde o uso e ocupação do solo da bacia do Ribeirão Pitangueiras às torneiras do usuário: estudo de caso do município de

- Barretos, SP. Mestrado (Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004, 197f.
15. NUNES LGP, OLIVEIRA MV, SOUZA AA, LOPES LF, DIAS PCS, NOGUEIRA GB, SOUZA MAA. Water quality comparison between a supply network and household reservoirs in one of the oldest cities in Brazil. *Int. J. Environ. Health Res* 29(2): 173-180, 2019.
 16. SÃO PAULO. Lei Estadual nº 12.684, de 26 de julho de 2007. Proíbe o uso, no Estado de São Paulo de produtos, materiais ou artefatos que contenham quaisquer tipos de amianto ou asbestos ou outros minerais que, acidentalmente tenham fibras de amianto na sua composição. São Paulo, 2007. Available from: <http://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/lei/2007/lei-12684-26.07.2007.html>. Accessed on July 15, 2020.
 17. SOBSEY MD, HANDZEL T, VENCZEL L. Chlorination and safe storage of household drinking water in developing countries to reduce water borne disease. *Water Sci Technol* 47(3): 221-228, 2003.
 18. WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Water Quality and Health Strategy 2013-2020. 2013. Available from: https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/water_quality_strategy/en/. Accessed on March 15, 2020.
 19. WRIGHT J, GUNDRY S, CONROY R. Household drinking water in developing countries: a systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use. *Trop Med Int Health* 9(1): 106-117, 2004.

**Análise parasitológica de frutas consumidas com casca, comercializadas em
supermercados de uma cidade do sudeste do Brasil**

Parasitological analysis of fruits consumed with peel and sold in supermarkets in a city in southeastern
Brazil

Keila dos Santos Carolino Fiorido¹, Marco Antônio Andrade de Souza¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus,
Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Marco Antônio Andrade de Souza

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde

Rodovia Governador Mário Covas Km 60, s/n, Litorâneo, CEP 29932-540, São Mateus,
Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3312-1544

Email: marco.souza@ufes.br

Submetido em 8/07/2020

Aceito em 21/07/2020

RESUMO

Atualmente, a população está em busca de alimentos mais saudáveis para melhorar a qualidade de vida. No entanto, a ingestão de frutas sem a devida higienização no pré-consumo pode ser um potente mecanismo de transmissão de doenças enteroparasitárias. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo identificar a presença de formas parasitárias em frutas consumidas com cascas, comercializadas em supermercados da cidade de São Mateus, Espírito Santo, Brasil. Um total de 72 amostras, de quatro frutas distintas, foi coletado em supermercados e feiras da cidade de São Mateus, Espírito Santo, e transportado ao Laboratório de Parasitologia do Centro Universitário Norte do Espírito Santo, da Universidade Federal do Espírito Santo. O líquido recolhido, após lavagem das frutas, foi centrifugado e o sedimento analisado ao microscópio de luz. Foram detectadas contaminações em 29,17% das amostras. Os parasitos *Balantidium coli* (28,57%), Ancylostomidae (23,81%), *Entamoeba* sp. (9,52%) e *Parascaris equorum* (9,52%) foram os mais frequentes. Os resultados indicam a possibilidade de contaminação das frutas durante o cultivo, colheita, transporte, armazenamento e/ou manipulação. Além disso, sugere contaminação fecal de origem humana. Salienta-se a necessidade de conscientização da população para melhoria dos hábitos de higiene.

Palavras-chave: Saúde Pública. Enteroparasitoses. Doenças Transmitidas por Alimentos. Frutas.

ABSTRACT

Currently, the population is looking for healthier foods to improve the life quality. However, eating fruit without proper pre-consumption hygiene can be a powerful mechanism for the transmission of enteroparasitic diseases. In this sense, the present study aimed to identify the presence of parasitic forms in fruits consumed with peel in a municipality located in the Southeast of Brazil. A total of 72 samples from four different fruits were collected in supermarkets and fairs in the city of São Mateus, Espírito Santo and transported to the Laboratório de Parasitologia of the Centro Universitário Norte do Espírito Santo, of the Universidade Federal do Espírito Santo. The collected liquid, after washing the fruits, was centrifuged and the sediment was analyzed under a light microscope. Contamination was detected in 29.17% of the samples. The parasites *Balantidium coli* (28.57%), Ancylostomidae (23.81%), *Entamoeba* sp. (9.52%) and *Parascaris equorum* (9.52%) were the most frequent. The results indicate the possibility of contamination of the fruits during cultivation, harvest, transport, storage and/or handling. In addition, they suggest fecal contamination of human origin. The need to raise public awareness to improve hygiene habits is emphasized.

Keywords: Public Health. Intestinal Parasitosis. Foodborne Diseases. Fruits.

INTRODUÇÃO

O alimento faz parte das necessidades básicas da sociedade e possui forte influência na qualidade de vida do indivíduo, pois contribui para a prevenção, manutenção e até recuperação da saúde. No entanto, para estar apto ao consumo, deve ser além de saudável, livre de qualquer agente que possa levar ao desequilíbrio do organismo (ZANDONADI et al., 2007).

O mercado de alimentos tem se tornado um dos maiores veículos de transmissão de doenças infecciosas, uma vez que os agentes infecciosos podem ser disseminados desde a plantação até a embalagem final e ser encaminhados para diversas localidades (KAEFERSTEIN et al., 1997; CONSTANTIN et al., 2013; BRAUER et al., 2016).

Os principais fatores responsáveis pela transmissão destas doenças estão diretamente vinculados aos maus hábitos de manipuladores, falta de higienização e más condições de produção e acondicionamento da matéria-prima (NOLLA; CANTOS, 2005). Apesar disso, o *Codex alimentarius* (2020) destaca que é direito de todas as pessoas o acesso a alimentos seguros e adequados para o seu consumo.

Estudos científicos demonstram a importância de se consumir frutas e verduras em virtude de seus benefícios preventivos contra o câncer, doenças cardíacas e acidente vascular cerebral (VAN DUYN & PIVONKA, 2000; BRASIL, 2014). Por outro lado, as doenças transmitidas por alimentos representam um dos grandes problemas de saúde na atualidade, cujos quadros clínicos podem se manifestar de forma leve, incluindo náuseas e vômitos, ou grave, desenvolvendo distúrbios do sistema nervoso e risco de vida (NOTERMANS & HOOGENBOOM-VERDEGAAL, 1992; GREGÓRIO et al., 2012). Nesse sentido, considerando o mercado de trabalho atual e as atribuições do dia-a-dia, o aumento de refeições feitas fora de casa como, por exemplo, em restaurantes e escolas, colabora para o aumento das doenças transmitidas por alimentos, pois há uma maior dificuldade no controle de todas as preparações (SMITH & FRATAMICO, 1997; LELIS; TEIXEIRA; SILVA, 2012).

Embora o número de internações hospitalares devido à ingestão de alimentos contaminados seja elevado todos os anos (BRASIL, 2019), ainda há dificuldade na determinação de números absolutos destes casos. A falta de notificação é devido à baixa condição clínica que o indivíduo apresenta e nos casos de sintomas brandos não se dá a devida importância para que sejam notificados. E as falhas na vigilância sanitária e dificuldades econômicas, em algumas cidades brasileiras, também contribuem com isso (FERREIRA,

2017).

Os manipuladores de alimentos representam um grande veículo de disseminação de parasitos, necessitando diagnósticos frequentes, bem como tratamentos adequados, principalmente aqueles que lidam com a distribuição de hortaliças e frutas para um número considerável de pessoas (MELO et al., 2011; BRAUER et al., 2017). Desse modo, é de fundamental importância a higienização das mãos, antes da manipulação de qualquer tipo de alimento, e do próprio alimento, principalmente aquele consumido cru (CARDOSO, 2013). Todavia, a falta de educação sanitária e condições de higiene escassas, no ambiente em que estes manipuladores vivem e/ou trabalham, representam fatores relevantes para a propagação de enteroparasitoses (SOARES & CANTOS, 2005).

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo identificar a presença de formas parasitárias em frutas consumidas com cascas, comercializadas em supermercados da cidade de São Mateus, Espírito Santo, Brasil, um dos mais antigos municípios do Brasil.

METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado no município de São Mateus, localizado no norte do estado do Espírito Santo. Segundo dados do IBGE o município possui área territorial de 2.346,049,728 km² com população estimada de 130.611 em 2019.

No período de agosto a outubro do ano de 2016 foram coletadas 72 amostras de frutas, em três dos maiores supermercados, situados nas regiões centrais e periféricas da cidade de São Mateus, por amostragem intencional. Em cada um deles foram coletadas amostras de maçã, pera, uva e ameixa (6 amostras de cada fruta).

As frutas, selecionadas de forma aleatória, estavam expostas livremente para a comercialização, ao alcance dos consumidores e ao contato direto, com exceção da uva, armazenada em bandejas de isopor fechadas.

As frutas selecionadas foram guardadas em sacos plásticos de primeiro uso, fechados, identificados e acondicionados, sob refrigeração, até serem encaminhados ao Laboratório de Parasitologia do Centro Universitário Norte do Espírito Santo, da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUNES/UFES). O início das análises ocorreu sempre em prazo inferior a 48 horas após a seleção nos estabelecimentos alimentícios.

No laboratório, a técnica efetuada para as lavagens das amostras foi baseada na

metodologia de Takayanagui et al. (2001) com algumas adaptações. Cada fruta foi transferida para um saco plástico individual, para o procedimento da primeira lavagem em 200 ml de água destilada, seguido por agitação manual por 30 segundos. Na segunda lavagem foi realizado um esfregaço com pincel na casca da fruta em um recipiente plástico contendo 200 ml de água destilada. Ambas as soluções obtidas foram filtradas em gaze cirúrgica, em um cálice cônico, permanecendo em repouso por 24h para deposição do sedimento (Figura 1).



Figura 1. Procedimento laboratorial para análise parasitológica de amostras de frutas comercializadas em supermercados da cidade de São Mateus, Espírito Santo, Brasil. Lavagem, filtração e deposição de sedimentos. Fonte: Fiorido, 2016. Arquivo pessoal.

Após 24h de repouso, o sobrenadante foi descartado e do sedimento foram recolhidos 4 ml que foram submetidos à centrifugação a 4500 rpm, por um minuto, modificado de Oliveira & Germano (1992). Uma gota (50 microlitros) do sedimento foi depositada sobre uma lâmina de vidro, corada com solução de lugol e observada, em sextuplicata, ao microscópio de luz. Foram utilizadas as objetivas de 10x e 40x para a identificação e comprovação morfológica da presença de estruturas parasitárias (ROCHA; MENDES; BARBOSA, 2008).

Os dados obtidos foram tabulados no programa Excel, versão Office 365, 2020, onde os gráficos foram construídos.

RESULTADOS

Do total de 72 amostras analisadas, 21 amostras (29,17%) revelaram positividade para diferentes espécies de protozoários e/ou helmintos, sendo *Balantidium coli* e Ancylostomidae os mais frequentes. Observou-se maior presença de helmintos quando comparado aos protozoários (Figura 2).

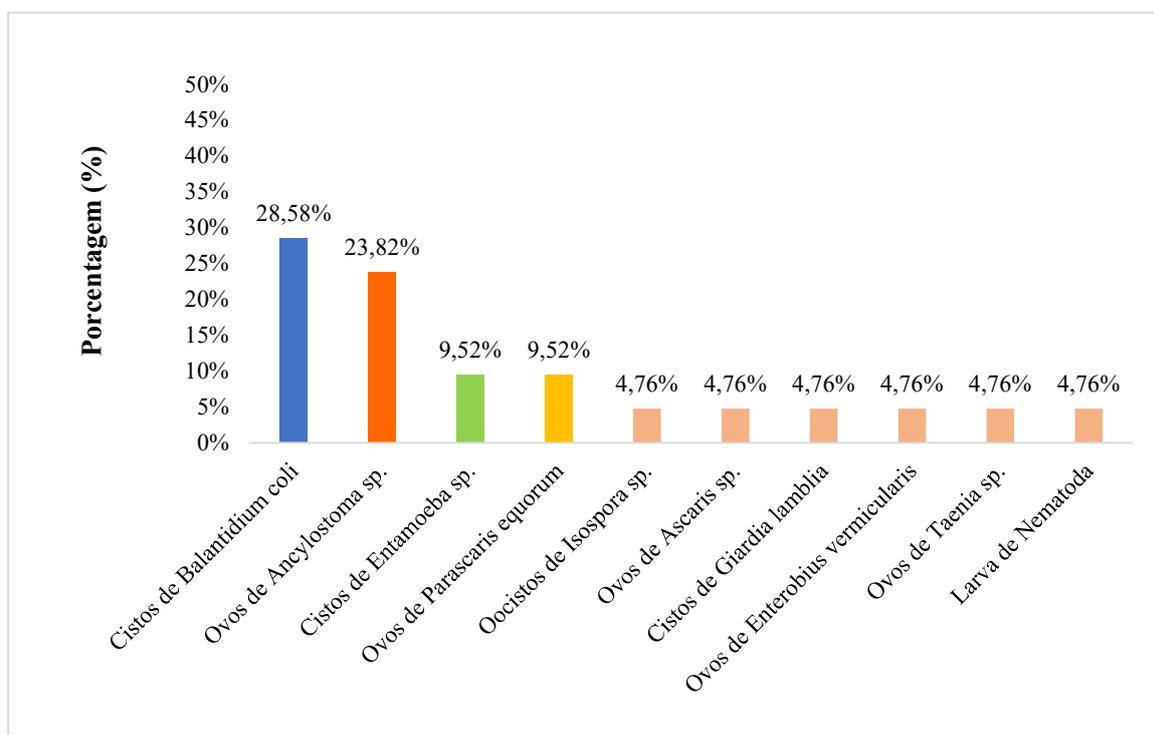


Figura 2. Frequência de parasitos intestinais em amostras de frutas comercializadas em supermercados da cidade de São Mateus, Espírito Santo, Brasil, 2016.

Todas as variedades de frutas analisadas apresentaram contaminação por alguma forma parasitária e o maior número de amostras positivas ocorreu com a ameixa (7/38,9%) (Figura 3).

Em todos os estabelecimentos comerciais foram encontradas formas parasitárias e a ameixa, além de ter o maior número de amostras positivas, também apresentou a maior variedade de parasitos encontrados. Foram detectados *B. coli*, larva de Nematoda, *Parascaris equorum*, *Isospora sp.*, *Ascaris sp.* e Ancylostomidae (Tabela1).

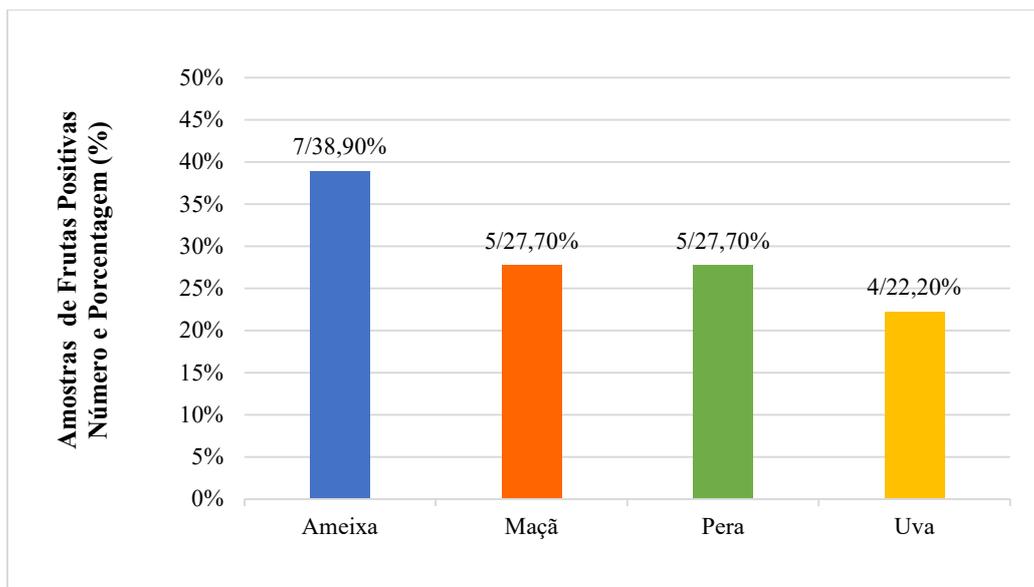


Figura 3. Número absoluto e porcentagem de amostras positivas para formas parasitárias, por tipos de frutas, no comércio alimentício da cidade de São Mateus, Espírito Santo, Brasil, 2016.

Tabela 1. Amostras positivas por estabelecimentos comerciais.

Estabelecimento Comercial	Tipo de Fruta	Espécie de Enteroparasito
Estabelecimento 1	Ameixa	<i>Balantidium coli</i> , <i>Isospora</i> sp.
	Maçã	<i>Balantidium coli</i> , <i>Ancylostomidae</i>
	Pera	<i>Ancylostomidae</i> , <i>Entamoeba</i> sp.
	Uva	<i>Balantidium coli</i> , <i>Taenia</i> sp.
Estabelecimento 2	Ameixa	Larva de Nematoda, <i>Ancylostomidae</i>
	Maçã	<i>Ancylostomidae</i> , <i>Parascaris equorum</i>
	Pera	<i>Balantidium coli</i> , <i>Giardia lamblia</i>
	Uva	<i>Enterobius vermicularis</i> ,
Estabelecimento 2	Ameixa	<i>Ascaris</i> sp., <i>Parascaris equorum</i>
	Maçã	<i>Balantidium coli</i> , <i>Ancylostomidae</i>
	Pera	<i>Entamoeba</i> sp.
	Uva	<i>Balantidium coli</i>

DISCUSSÃO

As infecções parasitárias estão inseridas no grupo de doenças que mais causam desordens no organismo, principalmente de crianças que residem em áreas pobres dos centros urbanos. A inadequação das condições mínimas de saneamento básico é o principal fator de

disseminação dos parasitos intestinais (PRADO et al., 2001) e o clima quente, como o da região de São Mateus (RODY et al., 2010) possibilita, ainda, um ambiente propício para o desenvolvimento de formas parasitárias, tanto no solo quanto na água (PRADO et al., 2001).

De fato, a presença de formas parasitárias nos ambientes terrestres e aquáticos representa um dos principais meios de contaminação de alimentos consumidos pela população. Santos (2016), em estudos realizados no município de Presidente Prudente, São Paulo, demonstrou que 39,4% das amostras de hortaliças analisadas, cultivadas nos sistemas de produção convencional, orgânico e hidropônico estavam contaminadas com alguma espécie parasitária, como também observado por Gregório et al. (2012), na zona leste de São Paulo, ao verificarem 55% de contaminação em suas amostras. Sugeriu-se, em ambos os trabalhos, que tais contaminações ocorreriam em virtude de solo contaminado, armazenamento inapropriado para o transporte e exposição inadequada para o comércio.

Em São Mateus, Espírito Santo, as frutas expostas em prateleiras, à disposição do contato direto dos consumidores, as tornam mais propícias à contaminação por manipulação humana. Tal contaminação pode ser observada, como descrito por Nola & Cantos (2005) e Fernandes (2014), em grupos de manipuladores e trabalhadores de feiras e comércios de alimentos de Santa Catarina e do Piauí, cujos índices de contaminação foram de 47% e 48%, respectivamente. Por outro lado, o maior número de amostras de ameixa positivas no presente estudo se deve, provavelmente, à sua característica mais robusta, o que levaria a menos cuidado nos processos de colheita, armazenamento, transporte e manuseio.

Tais resultados, associados à ocorrência de parasitoses em manipuladores e trabalhadores do comércio alimentício de São Mateus (BRAUER; SILVA, SOUZA, 2017), sugerem a necessidade de um conhecimento higiênico-sanitário por esses profissionais, uma vez que são responsáveis, diretamente, pelo manuseio dos alimentos consumidos pela população.

B. coli é uma espécie de protozoário com distribuição mundial, característico em suínos, porém capaz de atingir o intestino grosso do homem, provocando lesões nas mucosas do ceco e cólon, com possibilidades de invasões bacterianas secundárias. Possui pouca incidência em humanos, sendo característico em suínos (NEVES & GOMES, 2011; BARBOSA et al., 2016). Brauer et al. (2016), em levantamento parasitológico realizado em verduras do comércio de São Mateus, ES, verificaram positividade para esse parasito em 63,1% das amostras de alface e 47,4% de salsa, sugerindo contato entre dejetos de suínos durante a produção desses alimentos

ou ainda, por manipuladores, por meio de mãos contaminadas por cistos do parasito (NEVES & GOMES, 2011; SILVA & GONTIJO, 2012). Os resultados observados por Brauer et al. (2016) e os do presente estudo refletem uma preocupação iminente com a expansão desse parasito no município de São Mateus.

A presença de *Entamoeba* sp. e *Giardia lamblia* são indicativos de contaminação dos alimentos por meio de água utilizada para o cultivo sem o tratamento adequado, além da falta de higiene dos manipuladores de alimentos, cuja assintomatologia os tornam grandes disseminadores de tais protozoários (SILVA & GOMES, 2011; SOGAYAR & VIANA, 2011).

Com relação aos Ancilostomídeos presentes em 23,81% das amostras, os representantes desta família têm como hospedeiros o homem e alguns animais, cujos principais agentes etiológicos da ancilostomose humana são *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *Ancylostoma ceylanicum* (LEITE, 2011; LIMA, 2011). São transmitidos por penetração ativa de larvas do parasito através da mucosa (HORNINK et al., 2013) ou ingestão de larvas L3 e podem levar a quadros crônicos de anemia (LEITE, 2011). A grande quantidade de ovos e a presença de larvas dos parasitos em frutas de estabelecimentos comerciais de São Mateus podem refletir a importância dessa parasitose no contexto da saúde da população.

Verificou-se, também, a presença de *P. equorum*, *Isospora* sp., *Ascaris* sp., *Taenia* sp. e larva de Nematoda no presente estudo. Com transmissão por meio de fezes, solos e alimentos contaminados, deve-se considerar que o encontro desses parasitos pode estar vinculado ao contato das frutas com solos contaminados, especialmente quando caem no chão durante a colheita, e/ou falta de higiene básica dos indivíduos ao manipularem estes alimentos sem lavar as mãos (ANGONESE, 2008; ALMEIDA; AMORIM; SOUZA, 2017; BRAUER; SILVA; SOUZA, 2017).

Além disso, vale ressaltar também a detecção de *Enterobius vermicularis*, cujo mecanismo de transmissão predominante é a auto-infecção externa, onde o próprio indivíduo, já infectado, carrega os ovos presentes sob suas unhas e dedos, da região perianal até a boca (NEVES, 2011). Considerando a fácil disseminação dessa forma parasitária é necessário melhorar os hábitos de higiene, não somente dos manipuladores de alimentos, mas do consumidor infectado, evitando-se, assim, transmissão pelo contato direto com alimentos expostos para a comercialização (REY, 2011).

Por outro lado, é importante frisar que as fontes de contaminação dos alimentos são abrangentes, desde formas inadequadas de cultivo, água de irrigação de má qualidade,

condições precárias de transporte, armazenamento e manipulação (SILVA et al., 2014; ALMEIDA; AMORIM; SOUZA, 2017). Assim, boas técnicas de higiene por parte dos fornecedores de alimentos são fundamentais para viabilizar a comercialização de um produto seguro para os consumidores. Em função disso, é imprescindível o monitoramento de toda cadeia de produção e aplicação de medidas que irão proporcionar melhorias na qualidade higiênico-sanitária dos alimentos oferecidos.

Nesses termos, os resultados encontrados em São Mateus revelam que há precariedade de higienização em relação a qualidade de algumas frutas comercializadas no município, podendo levar a contaminação da população por enteroparasitos. Esses dados corroboram outros estudos que constataram que a frequência de enteroparasitoses contribui para os problemas de saúde pública da população (MELO et al., 2011; GREGÓRIO et al., 2012; MACIEL et al., 2014).

Por fim, sugere-se a conscientização higiênico-sanitária dos grupos de trabalhadores do ramo alimentício, a melhoria dos processos de produção, com aplicação de técnicas adequadas de sanitização, transporte, armazenamento e manipulação, bem como a implementação de análises permanentes dos alimentos, garantindo assim, uma melhor qualidade de saúde à população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA CP, AMORIM RF, SOUZA MAA. As (Las) parasitoses intestinais por prevalencia de geohelminthos representam serios problemas de saude publica. *Salud(i)cienc (impresa)* 22, 318-323, 2017.
2. ANGONESE IT. Determinação da contaminação por ovos de parasitos em áreas de recreação e passeios públicos de Porto Alegre- RS. Monografia (Ciências Biológicas), Centro Universitário La Salle, UNILASALLE, Canoas, 2008, 35f.
3. BARBOSA AS, BASTOS OMP, UCHOA CMA, DIB LV, AMENDOEIRA MRR. Avaliação da frequência de *Balantidium coli* em suínos, tratadores de suínos e primatas não humanos no estado do Rio de Janeiro. *Rev Patol Trop* 45(3): 285-293, 2016.
4. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia alimentar para a população Brasileira. Brasília: Ministério da Saúde, 2.ed., 2014. Disponível em:

- http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf. Acesso em 7/7/2020.
5. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Surto de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Informe 2018, 2019. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/maio/17/Apresentacao-Surtos-DTA-Maio-2019.pdf>. Acesso em: 26/7/2020.
 6. BRAUER AMNW, SILVA JC, SOUZA MAA. Distribuição de enteroparasitos em verduras do comércio alimentício do município de São Mateus, Espírito Santo, Brasil. *Nat online* 14(1): 55-60, 2016.
 7. BRAUER AMNW, SILVA JC, SOUZA AA, SOUZA MAA. Intestinal parasites among employees of restaurants and cafeterias in an ancient city of Brazil. *Rev salud púb* 19, 691-696, 2017.
 8. CARDOSO BC. Avaliação da incidência de entereoparasitoses em crianças e manipuladores de alimentos no centro de referência em educação infantil. Monografia (Curso de Farmácia), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013, 51f.
 9. CODEX ALIMENTARIUS. International Food Standards. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/thematic-areas/nutrition/labelling/en/#c452837>. Acesso em: 7/07/2020.
 10. CONSTANTIN BS, GELATTI LC, SANTOS O. Avaliação da contaminação parasitológica em alfaces: Um estudo no sul do Brasil. *Rev Fasem Ciênc* 3(1): 1-14, 2013.
 11. FERNANDES NS, GUIMARÃES HR, AMORIM ACS, BRITO VM, BORGES EP, REIS MB, TRINDADE RA, MELO ACFL. Ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos de restaurantes em Parnaíba, Piauí, Brasil. *Rev Patol Trop* 43(4): 459-469, 2014.
 12. FERREIRA, JAF. Panorama das Doenças Transmitidas por alimentos no Brasil entre 2015 e 2017. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017, 76f.
 13. GREGÓRIO DS, MORAES GFA, NASSIF JM, ALVES MRM, CARMO NE, JARROUGE MG, BOUÇAS RI, SANTOS ACC, BOUÇAS TRJ. Estudo da contaminação por parasitos em hortaliças da região leste de São Paulo. *Sci Health* 3(2): 96-103, 2012.

14. HORNINK GG, KAWAZOE U, PEREZ D, GALEMBECK E. Principais parasitos humanos de transmissão hídrica ou por alimentos, 2.ed., Unifal e Unicamp, 2013, 157p.
15. IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades e Estados. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/es/sao-mateus.html>. Acesso em 25/7/2020.
16. KAFERSTEIN FK, MOTARJEMI Y, BETTCHER DW. Food borne disease control: a transnational challenge. *Emerging Infec Dis* 3(4): 503-510, 1997.
17. LEITE ACR. Ancylostomidae. In: NEVES DP, MELO AL, VITOR RWA, LINARDI PM. Parasitologia Humana, 12.ed., São Paulo: Atheneu, 2011, p.281-289.
18. LELIS CT, TEIXEIRA KMD, SILVA NM. A inserção feminina no mercado de trabalho e suas implicações para os hábitos alimentares da mulher e de sua família. *Saúde em Debate (online)* 36(95): 523-532, 2012.
19. LIMA WS. *Larva migrans*. In: NEVES DP, MELO AL, VITOR RWA, LINARDI PM. Parasitologia Humana, 12.ed., São Paulo: Atheneu, 2011, p.291-294.
20. MACIEL DF, GONÇALVES RG, MACHADO ER. Ocorrência de parasitos intestinais em hortaliças comercializadas em feiras no Distrito Federal, Brasil. *Rev Patol Trop* 43(3): 351-359, 2014.
21. MELO ACFL, FURTADO LFV, FERRO TC, BEZERRA KC, COSTA DCA, COSTA LA, SILVA LR. Contaminação parasitária de alfaces e sua relação com enteroparasitoses em manipuladores de alimentos. *Rev Trop - Ciênc Agrar Biol* 5(3): 47-52, 2011.
22. NEVES DP, MELO AL, LINARDI PM, ALMEIDA VITOR RW. Parasitologia Humana, 12.ed., São Paulo: Atheneu, 2011, 546p.
23. NEVES DP, GOMES MA. *Balantidium coli*. In: NEVES DP, MELO AL, VITOR RWA, LINARDI PM. Parasitologia Humana, 12.ed., São Paulo: Atheneu, 2011, p.189-200.
24. NEVES DP. *Enterobius vermicularis*. In: NEVES DP, MELO AL, VITOR RWA, LINARDI PM. Parasitologia Humana, 12.ed., São Paulo: Atheneu, 2011, p.307-310.
25. NOLLA AC, CANTOS GA. Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos e aspectos epidemiológicos em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Cad Saúde Publica* 21(2): 641-645, 2005.

26. NOTERMANS S, HOOGENBOOM-VERDEGAAL A. Existing and emerging foodborne diseases. *Internat J Food Microbiol* 15(3-4): 197-205, 1992.
27. OLIVEIRA CAF, GERMANO PML. Estudo da ocorrência de enteroparasitos em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. *Rev Saúde Públ* 26, 283-289, 1992.
28. PRADO MS, BARRETO ML, STRINA A, FARIA JAS, NOBRE AA, JESUS SR. Prevalência e intensidade da infecção por parasitas intestinais em crianças na idade escolar na Cidade de Salvador (Bahia, Brasil). *Rev Soc Bras Med Trop* 34(1): 99-101, 2001.
29. REY L. Bases da parasitologia médica, 3.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, 404p.
30. ROCHA A, MENDES RA, BARBOSA CS. *Strongyloides* spp. e outros parasitos encontrados em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializados na cidade de Recife, PE, 2008. *Rev Patol Trop* 37(2): 151-160, 2008.
31. RODY YP, ALMEIDA AQ, RIBEIRO A, SEDIYAMA GC, PEZZOPANE JEM. Delimitação de sítios ambientais homogêneos no Estado do Espírito Santo, com base no relevo, solo e clima. *Ciênc Rural* 40(12): 2493-2498, 2010.
32. SANTOS JS. Análise parasitológica em hortaliças cultivadas em diferentes sistemas de produção. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2016, 39f.
33. SILVA EF, GOMES MA. Amebíase: *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*. In: NEVES DP, MELO AL, VITOR RWA, LINARDI PM. Parasitologia Humana, 12.ed., São Paulo: Atheneu, 2011, p.137-150.
34. SILVA MG, GONTIJO EEL. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em supermercados e feiras livres do município de Gurupi, Tocantins. *Rev Cient ITPAC* 5(4): pub 6, 2012.
35. SILVA LP, SILVA VS, LUDWIG KM, MONTENOTE MC, SILVA RMG. Avaliação parasitológica em amostras de alface (*Lactuca sativa* var. *crista*) comercializadas no município de Quatá, São Paulo, Brasil. *Biosci J* 30(4): 1252-1258, 2014.
36. SMITH DL, FRATAMICO PM. Factors involved in the emergence and persistence of food diseases. *J Food Prot* 40(6): 415-422, 1997.

37. SOARES B, CANTOS GA. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 8(4): 377-384, 2005.
38. SOGAYAR MITL, VIANA SGF. *Giardia lamblia*. In: NEVES DP, MELO AL, VITOR RWA, LINARDI PM. *Parasitologia Humana*, 12.ed., São Paulo: Atheneu, 2011, p.129-136.
39. TAKAYANAGUI OM, OLIVEIRA CD, BERGAMINI AMM, CAPUANO DM, OKINO MHT, FEBRÔNIO LHP, CASTRO E SILVA AAMC, OLIVEIRA MA RIBEIRO EGA, TAKAYANAGUI AMM. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop* 34(1): 37-41, 2001.
40. VAN DUYN MAS, PIVONKA E. Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *J Americ Diet Assoc* 100(12): 1511-1521, 2000.
41. ZANDONADI RP, BOTELHO RBA, SÁVIO KEO, AKUTSU RC, ARAÚJO WMC. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. *Nut Rev* 20(1): 19-26, 2007.

Tratamento do fibro edema geloide no glúteo com a utilização da radiofrequência e endermoterapia

Treatment of cellulite in the glute with the use of radiofrequency and endermologie

Mayla Farias Gonçalves¹, Aline Nandi da Rosa¹, Fabiana Vieira Lima^{1,2}

¹Universidade do Sul de Santa Catarina, Tecnologia em Cosmetologia e Estética, Palhoça, Santa Catarina, Brasil

²Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Fabiana Vieira Lima

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde

Rodovia Governador Mário Covas Km 60, s/n, CEP 29.932-540, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3312-1560

Email: *fabianavlimag@gmail.com*

Submetido em 15/07/2020

Aceito em 11/8/2020

Resumo

Várias técnicas têm sido empregadas no tratamento do fibro edema geloide (FEG), entre eles a radiofrequência e a endermologia, sendo o objetivo do atual estudo avaliar esses procedimentos. A pesquisa foi realizada com a participação de nove mulheres (FEG entre os graus I e III), com idade entre 20 e 40 anos. A radiofrequência foi utilizada com 85% de intensidade e 2.4 Mhz de frequência, em temperatura de 38°C. A endermologia foi utilizada com pressão de 200mmHG, até causar hiperemia local, em sessões de 50 minutos. Os parâmetros utilizados na avaliação foram: (i) a termografia; (ii) nível de satisfação das pacientes (questionário); (iii) imagens dos glúteos por meio de fotografias; (iv) perimetria. As avaliações ocorreram no primeiro dia e após oito sessões do tratamento nas regiões de quadril e prega glútea. Para análise dos dados foi utilizado o teste T-student pareado. No exame físico inicial, todas as pacientes apresentaram FEG na região glútea (termografia e visual). Em relação à perimetria, antes e após o tratamento observou-se diferença ($p < 0,05$) na região do quadril após o tratamento, contudo, não foi verificada diferença na região da prega glútea ($p > 0,05$). Todas as participantes declararam melhora na tonicidade e no aspecto do FEG. Por meio dos resultados obtidos neste estudo, o protocolo de radiofrequência associado a endermologia demonstrou ser medida coadjuvante no tratamento do FEG, mostrando-se com potencial para a amenização do quadro do FEG, e satisfação em relação ao tratamento proposto e ao aspecto do FEG após tratamento.

Palavras-chave: Fibro Edema Geloide. Radiofrequência. Endermologia.

Abstract

Several procedures have been used to Fibro edema gelloid (FEG) treatment this dysfunction, including radiofrequency and endermology. The present study aimed to analyze radiofrequency procedures and endermology in the treatment of FEG. The research was carried out on 9 women (FEG grades I and III), aged between 20 and 40 years. Radiofrequency was used with 85% intensity and 2.4 Mhz frequency, at 38°C temperature. The endermology was used at 200mmHG pressure until it caused local hyperemia. The session lasted 50 minutes. The parameters used in the evaluation were: thermography, level of patient question satisfaction, images of the buttocks through photographs, and perimetry. The evaluations took place on the first day and after eight treatment sessions in the hip and gluteal fold regions. For data analysis, the paired T-student test was used. At the initial physical examination, all patients presented FEG in the gluteal region (thermography and visual), concerning perimetry, before and after the treatment, a difference ($p < 0.05$) was observed in the hip region after treatment, however, there was no difference in the gluteal fold region ($p > 0.05$). All subjects reported an improvement in tonicity and in the appearance of the FEG, which can be observed through the photos. Through the results obtained in this study, the radiofrequency protocol associated with endermology proved to be an effective adjunct measure in the treatment of FEG, proving to be effective in easing the condition of EGF, and satisfaction concerning to the proposed treatment and the aspect of EGF after treatment.

Keywords: Celulite. Endermologie. Radiofrequency.

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade a aparência e a vaidade tem gerado preocupação nos indivíduos, sejam eles homens ou mulheres. Esta preocupação leva os mesmos a buscarem intervenções nas áreas de cosmetologia, dermatologia ou até mesmo cirúrgica (CARVALHO et al., 2011).

Entre as afecções dérmicas que causam insatisfação corporal destaca-se o fibro edema geloide (FEG), conhecido popularmente como ‘celulite’ ou pele com aspecto de “casca de laranja”. Essa disfunção afeta o tecido conjuntivo, pode ser visualizada externamente, e apesar do sufixo “ite”, não possui etiologia inflamatória. Essa queixa atinge cerca de 95% das mulheres e pode também comprometer a saúde (GUIRRO & GUIRRO, 2003; TAVARES et al., 2016).

O FEG é definido como uma disfunção que tem aparente edema não inflamatório nos tecidos dérmico, subcutâneo e adiposo. Essa disfunção surge por um mal funcionamento dos adipócitos que retêm lipídeos de forma alterada, estes estimulam uma maior retenção de líquidos promovendo assim, o aumento do volume da célula, ocasionando compressão dos vasos e impedindo a circulação sanguínea (TAVARES et al., 2016; FREDERICO et al., 2017).

O FEG pode ser dividida em três ou quatro graus, entretanto a classificação mais utilizada para avaliar é de até três graus: (i) o grau I é notável quando há uma compressão do tecido e junto uma contração muscular voluntária; (ii) o grau II é caracterizado por possuir depressões visíveis sem a compressão do tecido; (iii) o grau III pode ser visível quando a paciente estiver em qualquer posição sem compressão (GUIRRO & GUIRRO, 2003; KEDE & SABATOVICH, 2004).

Considera-se ainda, quatro fatores clínicos encontrados na palpação do FEG, que são conhecidas como “tétrade de Ricoux” sendo elas: aumento da espessura do tecido subcutâneo, maior consistência tecidual, maior sensibilidade à dor, diminuição da mobilidade e aderência aos planos mais profundos (MATEUS, 2014). Para um controle dessa disfunção, é obrigatório uma inspeção através de históricos diários relatados em ficha de anamnese e exame físico (MEYER et al., 2005).

Entre as várias técnicas utilizadas no tratamento do FEG destacam-se a endermologia e a radiofrequência. A endermologia é um recurso terapêutico utilizado para melhorar o contorno da pele e propiciar uma melhor distribuição de gordura subcutânea, melhorar a circulação sanguínea e auxiliar na drenagem para atuar no tratamento (GUIRRO & GUIRRO, 2003; TAVARES et al., 2016). É uma técnica baseada no mecanismo de vácuo-rolamento: as ventosas de polipropileno são providas de rolos que promovem simultaneamente sucção, mobilização

dos tecidos e massagem profunda na pele e em tecido subcutâneo, além de estimular o aumento da circulação sanguínea superficial e auxiliar a maleabilidade dos tecidos, inclusive nas fases mais avançadas do FEG. Esse procedimento faz com que a paciente perca medidas e consequentemente, melhore o aspecto do FEG (SILVA, 2012). É um dos fundamentais recursos para qualquer tratamento anti-FEG pois auxilia na remodelagem corporal, melhora a elasticidade tissular e muscular e auxilia na liberação de aderências cicatriciais (MILANI; JOÃO; FARAH, 2006).

A radiofrequência é uma radiação no espectro eletromagnético que gera calor, compreendida entre 30 KHz e 300 MHz. Esse tipo de calor alcança camadas menos superficiais gerando energia e calor. No entanto, mantém a superfície resfriada e protegida, ocasionando a contração das fibras de colágenos existentes além de estimular a formação de novas fibras tornando-as mais eficientes na sustentação da pele (CARVALHO et al., 2011; SILVA, 2012; MILANI et al., 2006; ROSSIGNOLLI, 2013). O calor que irradia do aparelho sobre a pele ocasiona as contrações das fibras e estimula a renovação das mesmas para a eliminação do FEG. No entanto, sabe-se que nem todos os indivíduos que desejam um tratamento para FEG tem indicação para o procedimento (MEYER et al., 2017). Ademais a radiofrequência no tratamento do FEG tem a função de diminuir a fibrose dos septos inter lobulares e o tamanho dos adipócitos, melhorando a circulação sanguínea (BORGES, 2010).

Com base nas informações, o objetivo dessa pesquisa foi analisar os efeitos da associação da radiofrequência e endermologia no FEG em mulheres que apresentaram diferentes graus de FEG.

METODOLOGIA

Sujeitos

Este estudo trata-se de uma pesquisa de natureza quali e quantitativa com objetivo exploratório por meio da realização de tratamento para FEG nos glúteos com o auxílio da endermologia e radiofrequência.

Foram avaliadas nove mulheres entre 20 e 40 anos de idade, com ausência de problemas de saúde que poderiam interferir no tratamento, e que, não estivessem fazendo nenhum outro tipo de tratamento estético de objetivo similar. Todas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, e de uso de imagens. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL, sob o nº 1.997.175.

Caracterização do FEG

Foram preenchidas as fichas de anamnese corporal, e o grau de FEG foi determinado pelo método palpação "Tétrade de Ricoux", segundo Mateus, 2014, e pela técnica de termografia (GUIRRO & GUIRRO, 2003).

Procedimentos

A coleta dos dados foi realizada por ficha de anamnese corporal, com identificação, antecedentes pessoais e hábitos de vida. Além da caracterização do FEG, foram obtidos dados de perimetria. Durante a inspeção, as mulheres permaneceram na vista posterior em pé (MEYER, 2005).

A perimetria foi realizada com as pacientes em posição ortostática vista posterior, utilizando-se a fita métrica que foi posicionada sobre a superfície do quadril e abaixo da prega glútea. A medida foi executada nas seguintes áreas: quadril, na linha dos trocanteres maiores e abaixo da prega glútea (MATEUS, 2014).

As imagens foram registradas por meio de fotografias, utilizando-se máquina fotográfica digital (10 megapixels). As fotos foram realizadas no mesmo local, com a paciente em vista posterior, enfatizando-se a região glútea, a um metro de distância da máquina e a fotografia foi realizada com e sem contração muscular voluntária de glúteos, a avaliação de melhora foi realizada de forma qualitativa em relação ao contorno da pele (ALMEIDA et al., 2011).

Todos os procedimentos descritos foram realizados na primeira e na última sessão de tratamento. Na última sessão, além dos procedimentos já descritos anteriormente, a participante respondeu questionário de avaliação do grau de satisfação.

Cada sujeito foi submetido a oito sessões de tratamento nos glúteos, uma vez na semana, por 50 minutos. Os tratamentos foram realizados no laboratório escola de Cosmetologia e Estética UNISUL, Palhoça, SC.

O protocolo adaptado foi composto por aplicação da radiofrequência (equipamento CECBRA, modelo Triatherm®, Jaraguá do Sul/SC, Brasil) intensidade de 85%, frequência de 2,4 Mhz e temperatura de 38°C, no modo contínuo utilizando-se o gel neutro como condutor por aproximadamente 13 minutos em cada glúteo da paciente (ALEXIADES-ARMENAKAS; DOVER; ARNDT, 2008; MANUSKIATTI et al., 2009).

Após o protocolo da radiofrequência a endermologia (equipamento IBRAMED, modelo Dermotonus Slim®, Amparo/SP, Brasil), foi aplicada com óleo vegetal livre de ativos, pressão

de 200mmHG até alcançar a hiperemia desejada, levando-se em consideração as condições do tecido, com movimentos preferencialmente no sentido das fibras musculares e linhas de tensão da pele, totalizando um tempo estimado de 50 minutos para cada paciente em cabine (CHU & CALEGARI, 2012).

Análise de dados

A análise dos dados estatísticos foi obtida por meio do software Minitab[®] 19, teste t-Student, nível de significância de 95%. A análise descritiva pelo software Microsoft EXCEL para Mac 2011[®].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos tempos atuais novos aparelhos e técnicas surgem com o intuito de tratar o fibroedema gelóide (FEG) com mais segurança. Portanto, a fisiopatologia humana que possivelmente influencia no aparecimento do FEG é de extrema importância para o desenvolvimento de novos protocolos de intervenção, assim como a identificação dos graus e as formas do FEG (TAVARES et al., 2016).

Vários recursos têm sido utilizados para o tratamento do FEG, como por exemplo o ultrassom, eletrolipólise, drenagem linfática manual, vacuoterapia, carboxiterapia, criolipólise, radiofrequência e a endermologia. No entanto, não foram encontrados na literatura estudos associando a endermologia e a radiofrequência para o tratamento do FEG (KHAN et al., 2010; TAVARES et al., 2016).

Dias (2018) fez estudo comparativo entre a endermologia e a radiofrequência nas disfunções do FEG. No entanto, cada protocolo de tratamento foi aplicado em lados diferentes (direita e esquerda), em 12 sessões divididas por 3 vezes na semana, nos glúteos e parte posterior da coxa de uma paciente, a avaliação foi obtida por meio de imagens e questionário de satisfação. Os autores sugerem que ambos tratamentos apresentaram resultados semelhantes e obtiveram melhora do aspecto do FEG (DIAS et al., 2018).

Neste estudo, utilizamos as duas técnicas simultaneamente para o tratamento nos glúteos, radiofrequência associada a endermologia, técnicas não invasivas e de raros efeitos adversos para tratar o FEG.

No exame físico inicial, todas as pacientes apresentaram FEG na região glútea. Os dados da avaliação da perimetria foram obtidos no primeiro dia e logo após oito sessões do tratamento

nas regiões de quadril e prega glútea, e estão demonstrados na **Figura 1**.

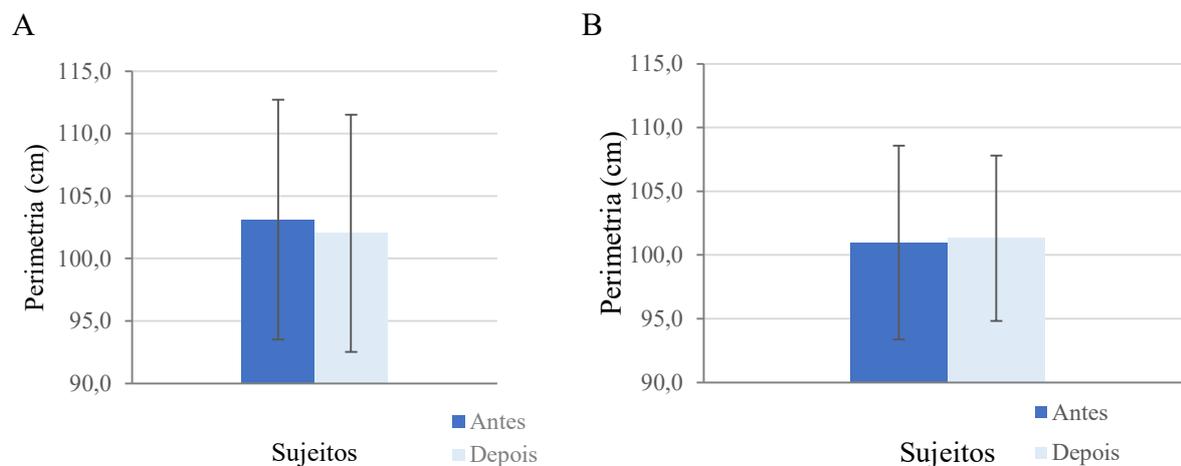


Figura 1. Perimetria antes e após tratamento na região do quadril (A) e da prega glútea (B)
 Fonte: Adaptada de Faria & Rosa, 2017.

Em relação ao grau do FEG, observou-se diferença ($p < 0,05$) na região do quadril após o tratamento. No entanto, não foi verificada diferença na região da prega glútea, região em que não foi aplicado o protocolo. A Tabela 1 apresenta a perimetria avaliada antes e após o tratamento.

Tabela 1. Análise dos dados de perimetria.

Perimetria	Antes* (\pm DP)	Depois* (\pm DP)	p -value
Quadril	103,13 \pm 9,60	102,03 \pm 9,49	0,008
Prega Glútea	100,99 \pm 7,60	101,33 \pm 6,49	0,750

* média de 9 sujeitos e DP- desvio padrão

Os resultados referentes às medidas de quadril e prega glútea antes e após a avaliação da perimetria revelaram uma diferença significativa na redução de medida na região do quadril ($p < 0,008$). A radiofrequência atua na perda de medidas devido calor intenso que provoca aquecimento no interior dos tecidos, o que reflete na lipólise dos adipócitos e consequentemente redução de medidas e reorganização das fibras de colágeno. Após o aquecimento observa-se a hiperemia do tecido como consequência da vasodilatação local que ocorre devido ao aumento de temperatura e da circulação (ALVAREZ et al., 2008; BORGES, 2010). Por outro lado, a técnica da endermologia provoca uma remodelação nas células de gordura, auxiliando em sua melhor distribuição tecidual, diminuindo a perimetria local, além de ser um dos principais

tratamentos para melhoria do contorno corporal (SILVA, 2012; TAVARES et al., 2016).

Devido ao fato dos focos de FEG serem mais evidentes na região do quadril o protocolo não foi aplicado na prega glútea, podendo esta ser considerada um controle negativo para dados de perimetria. Foi observado que não houve uma melhora na perimetria da prega glútea e, conforme esperado, não foi obtido uma diferença significativa na área.

Os relatos obtidos por meio do questionário aplicado nas nove participantes sobre a satisfação após o tratamento foram: um não relatou melhora (11%), cinco notaram uma melhora na tonicidade tissular (44%). Além disso, oito relataram melhora na tonicidade e no aspecto do FEG (89%) e se mostraram muito satisfeitas (89%) com o protocolo de radiofrequência e endermologia na disfunção do FEG conforme demonstrado na **Figura 2**.

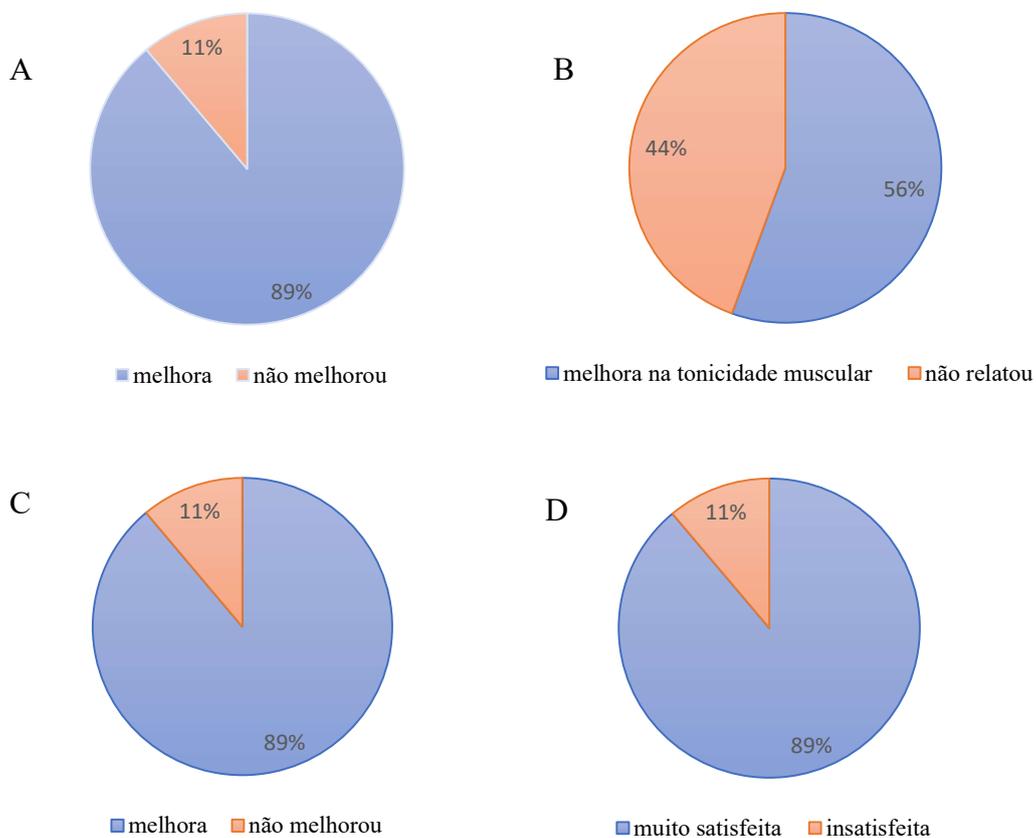


Figura 2. Grau de satisfação do protocolo por meio de questionário em relação à: (A) observaram melhora geral; (B) melhora na tonicidade muscular (C) melhora na tonicidade muscular e aspecto do FEG e (D) satisfação com o protocolo.

A análise qualitativa das fotos mostrou melhora no aspecto do FEG, especialmente notadas nas participantes 1, 2, 4 e 5. Foi observado uma melhora no contorno da pele, como se

pode ver nas imagens da **Figura 3**, que demonstram o antes e depois de seis das nove mulheres submetidas ao tratamento. Esse dado é utilizado no presente estudo de forma informativa à caracterização do antes e após o tratamento, por se tratar de uma análise subjetiva.



Figura 3. Fotos de antes (esquerda) e após (direita) do tratamento aplicado em quatro mulheres.

Fonte: Adaptada de Faria & Rosa, 2017.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo, sugerem que o protocolo de radiofrequência associado a endermologia demonstrou ser medida coadjuvante no tratamento do FEG, mostrando-se eficaz na amenização do quadro com diminuição da perimetria na área do quadril, onde foi aplicado, diferentemente da prega glútea, área não aplicada. Ademais, apresentou resultado muito satisfatório conforme questionário aplicado nos sujeitos envolvidos neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALEXIADES-ARMENAKAS M, DOVER JS, ARNDT KA. Unipolar radiofrequency treatment to improve the appearance of cellulite. *J cosmet laser ther* 10: 148-153, 2008.
2. ALMEIDA AF, BRANDÃO DSM, SILVA JC, OLIVEIRA RGCQ, ARAÚJO RC, PITANGUI ANR. Avaliação do efeito da drenagem linfática manual e do ultrassom no fibroedema geloide *Rev Bras Ciênc Saúde* 9(28): 31-37, 2011.
3. ALVAREZ N, ORTIZ L, VICENTE V, ALCARAZ M, PEDRENO PS. The effects of radiofrequency on skin: experimental study. *Lasers Surg Med* 40(2): 76-82, 2008.
4. BORGES FS. *Dermato-Funcional: Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas*, 2.ed., São Paulo: Phorte, 2010, 672p.
5. CARVALHO GF, SILVA RMV, FILHO JJTM, MEYER PF, RONZIO OA, MEDEIROS JO. Avaliação dos efeitos da radiofrequência no tecido conjuntivo. *Rev Bras Med* 68: 10-25, 2011.
6. CHU SB, CALEGARI A. Comparação dos efeitos da endermologia e da eletrolipoforese no tratamento do fibro edema gelóide. *Rev Fis Bras* 13(5): 336-341, 2012
7. GUIRRO E, GUIRRO R. *Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos, recursos, patologias*, 3.ed., São Paulo: Manole, 2003, 584p.
8. FARIAS M, ROSA AN, LIMA FV. Tratamento do fibro edema geloide no glúteo com a utilização da radiofrequência e endermoterapia. Monografia (Tecnologia em Cosmetologia e Estética), Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, 2017. Disponível em: <http://www.riuni.unisul.br/handle/12345/2191>. Acesso em 13/03/2020.
9. FEDERICO MR, GOMES SVC, MELO VC, MARTINS RB, LAURIA MC, MOURA RL, MEDEIROS AG, SOUZA IA, VELTMAN JF, BARBOZA GS, SÁ TM, SANTANA AA, BORGES FS. Tratamento de celulite (Paniculopatia Edemato Fibroesclerótica) utilizando fonoforese com substância acoplante à base de hera, centella asiática e castanha da índia. *Rev Fis Ser* 1(1): 6-10, 2006.
10. KHAN MH, VICTOR F, RAO B, SADICK NS. Treatment of cellulite Part II. Advances and controversies. *J Am Acad Dermatol* 62(3): 373-384, 2010.
11. KEDE PMV, SABATOVICH, O. Abordagem Clínica: Abordagem Terapêutica. In: MEDEIROS BL. *Dermatologia e Estética*, São Paulo: Atheneu, 2004, p.343-349.

12. MANUSKIATTI W, WACHIRAKAPHAN C, LEKTRAKUL N, VAROTHAI S. TriPollar - Aparelho de radiofrequência para Redução do Volume Abdominal e Tratamento da Celulite: Estudo Piloto. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1-8, 2009.
13. MATEUS A. Caracterização do fibro edema gelóide e respectivos tratamentos nos estudantes de fisioterapia. Dissertação (Mestrado em Fisioterapia), Instituto Politécnico de Lisboa, Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Lisboa, Lisboa, 2014, 59f.
14. MEYER PF, LISBOA FL, ALVES MCR, AVELINO MB. Desenvolvimento e aplicação de um protocolo de avaliação fisioterapêutica em pacientes com fibro edema. *Rev Fis Mov* 18(1): 75-83, 2005.
15. MILANI GB, JOÃO SMA, FARAH EA. Fundamentos da fisioterapia dermato-funcional: revisão de literatura. *Rev Fis Pesq* 13(1): 37-43, 2006.
16. ROSSIGNOLLI MQ. Radiofrequência: Revisão. Monografia (Especialização em Fisioterapia Dermatofuncional), Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2013, 23f.
17. SILVA PCO. Os efeitos da endermologia no tratamento do fibro edema gelóide: artigo de atualização. Monografia (Especialização em Fisioterapia Dermatofuncional), Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2012, 18f.
18. TAVARES IS, de OLIVEIRA MEF, ARRUDA EF, LEITE MB, SOUSA CS. Recursos fisioterapêuticos utilizados no tratamento do fibro edema gelóide (FEG). *Rev Cient Fac Educ e Meio Ambiente* 7(2): 45-58, 2016.

**Impacto Toxicológico de Metais Pesados: Uma Análise de Efeitos
Bioquímicos e Celulares**

Impact of Heavy Metals: An Analysis of Biochemical and Cellular Effects

Jorge da Cruz Moschem¹, Paola Rocha Gonçalves²

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

²Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Paola Rocha Gonçalves

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde

Rodovia Governador Mário Covas Km 60, s/n, CEP 29.932-540, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3312-1985

Email: paola.goncalves@ufes.br

Submetido em 16/07/2020

Aceito em 7/08/2020

Resumo

Desde a antiguidade os metais geram fascínio e interesse pela humanidade não só por seu importante papel biológico, mas também por ser fundamental em diversas atividades industriais. Com aumento da extração e depósito dos rejeitos metálicos de maneira inadequada, surgiram prejuízos ambientais que colocaram em risco a saúde humana e de todo o ecossistema. Nesta temática, foi realizado um levantamento bibliográfico abordando aspectos relevantes da toxicologia de metais, especialmente dos metais pesados, presentes em resíduos de mineração. O lançamento destes resíduos tóxicos no ambiente é um problema antigo que vem se agravando no Brasil. Materiais contendo quantidades grandes de metais atingiram importantes cursos hídricos, levando à contaminação da água potável e dos alimentos ingeridos pela população, gerando grande perigo à saúde. Pelos dados encontrados, a exposição a altos teores de metais pesados pode promover inibição enzimática, oxidação de biomoléculas, alteração na estrutura e conformação de proteínas, alterações nos sistemas redox das células, danos irreversíveis no material genético e em processos de replicação celular; podendo desencadear mutação, induzir apoptose, levar a mutagênese e a carcinogênese. Os efeitos tóxicos descritos podem ser potencializados quando os metais estão combinados a outros e pela capacidade de sofrerem bioacumulação dentro dos diferentes níveis tróficos. O presente estudo traz efeitos bioquímicos e celulares, gerados pela exposição a metais pesados, visando despertar preocupação frente a um potencial problema de saúde humana e ambiental e, busca com isto, promover a diminuição dos impactos ocasionados pela exploração e descarte inadequados destes elementos no ambiente.

Palavras-chave: Intoxicação. Metais Pesados. Saúde Humana e Ambiental.

Abstract

Since antiquity metals have generated fascination and interest in humanity not only because of their important biological role, but also because they are fundamental in several industrial activities. With the increase in the extraction and deposit of metal waste inappropriately, environmental damage has arisen that has put human health and the ecosystem at risk. In this theme, a bibliographic search was made about metal toxicology, especially heavy metals, present in mining waste. The release of these toxic residues in the environment is an old problem that is worsening in Brazil. Materials containing large amounts of metals have reached important water courses, leading to contamination of drinking water and food intake by the population, creating a great danger to health. In the searched records, exposure to high levels of heavy metals can promote enzymatic inhibition, biomolecules oxidation, changes in the structure and conformation of proteins, changes in the cellular redox system, irreversible damage to the genetic material and in the cell replication; it can trigger mutation, induce apoptosis, lead to mutagenesis and carcinogenesis. The toxic effects described can be enhanced when the metals are combined with others and by the ability to undergo bioaccumulation within the different trophic levels. The present study brings biochemical and cellular effects, generated by exposure to heavy metals, aiming to arouse concern in face of a potential human and environmental health problem and, with this, seeks to promote the reduction of the impacts caused by the inappropriate exploration and discard of these elements in the environment.

Keywords: Intoxication. Heavy Metals. Human and Environmental Health.

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade os metais sempre geraram fascínio e interesse dos seres humanos pelas suas diferentes aplicações, proporcionando maior comodidade e gerando benefícios para a sociedade; tendo um papel fundamental para diversas atividades industriais. Com o aumento destas atividades, a sua extração e depósito de rejeitos metálicos de maneira inadequada podem trazer uma série de prejuízos ambientais e põe em risco a saúde humana e de todo o ecossistema (CARVALHO et al., 2012).

Os metais ocorrem livres ou associados a outros elementos encontrados na natureza, desde a forma de depósitos minerais, até compondo moléculas biológicas importantes como a hemoglobina, a clorofila e os citocromos na cadeia respiratória. Alguns destes metais atuam como cofatores em diversas reações enzimáticas indispensáveis para o funcionamento celular (MONTEIRO & VANNUCCHI, 2010).

Dentro deste contexto, em condições fisiológicas, é incontestável o papel desempenhado pelos íons metálicos, sendo alguns imprescindíveis para a manutenção das atividades biológicas, tais como: cobre (Cu), magnésio (Mg), ferro (Fe), zinco (Zn), alumínio (Al), cálcio (Ca), potássio (K), sódio (Na), cobalto (Co), manganês (Mn), molibdênio (Mo) e cromo (Cr). Dada a sua importância, a deficiência destes elementos em humanos pode ocasionar anemias, diarreias, prejuízos no desenvolvimento e alterações de rotas metabólicas, como por exemplo a modificação do metabolismo da glicose mediante deficiência do magnésio (REIS; VELLOSO; REYES, 2002).

Nas espécies vegetais a presença destes nutrientes é indispensável, pois também participam da composição de biomoléculas, são cofatores enzimáticos e auxiliam na regulação osmótica e em mecanismos de sinalização celular. Níveis insuficientes de alguns íons metálicos nas plantas podem ocasionar interferências nas reações e ciclos bioquímicos, acarretando danos no desenvolvimento morfológico e fisiológico, trazendo inúmeros prejuízos para a cultura e ao próprio vegetal (TAIZ et al., 2017).

Embora tenham um importante papel biológico, doses de metais acima dos níveis fisiológicos podem provocar efeitos prejudiciais, alterando várias funções celulares, estruturas moleculares e teciduais, afetando e comprometendo todo o organismo. Estes efeitos tóxicos podem ser potencializados pela sua capacidade de bioacumulação em diversos organismos e cadeias tróficas, acumulando em diferentes tecidos vivos, sem que os indivíduos tenham sido diretamente expostos ao metal (BAIRD, 2002).

O desequilíbrio da concentração dos metais disponível no ambiente pode favorecer à contaminação dos organismos vivos, incluindo o homem, ocasionando quadros de intoxicação exógena, induzido pela exposição dos seres vivos aos locais contaminados. As principais causas de contaminação são as provocadas por desastres ambientais e em decorrência de acidentes, constituindo boa parte das notificações de contaminação no Brasil (AGUIAR et al., 2002).

Auxiliados pela intensa atividade extrativista e industrial das últimas décadas, vêm crescendo gradualmente os registros de desastres e de práticas que elevam os teores de metais pesados no ambiente. Seus efeitos podem ser notados pelo aumento do número de casos de intoxicação de organismos vivos e pela evidente poluição em ambientes terrestres e aquáticos, como a encontrada após o rompimento de barragens de rejeitos de minérios em Mariana/MG, levando à elevação brusca dos níveis destes elementos em vários cursos hídricos (DE CARVALHO et al., 2017).

Diante do exposto, com enfoque em efeitos bioquímicos causadores de danos celulares, o objetivo deste trabalho foi descrever aspectos importantes relacionados à toxicologia de metais, principalmente dos metais pesados mais comuns e abundantemente presentes em resíduos de mineração. Um problema antigo que vem se agravando nos últimos anos, pelo seu amplo descarte em diversas regiões do território brasileiro, atingindo importantes ambientes hídricos e gerando grande perigo à saúde ambiental e humana.

METODOLOGIA

Para o trabalho foi realizada pesquisa descritiva por meio de levantamento bibliográfico, utilizando como critério de inclusão do material bibliográfico, obtido nas bases de dados SciELO, LILACS e MEDLINE, aquele considerado relevante e pertinente para a elaboração do texto. Para o estudo foram pesquisados: 1 monografia, 2 dissertações de Mestrado, 4 livros, 1 site e 19 artigos científicos.

METAIS PESADOS

A acumulação dos metais no ambiente, especialmente dos metais pesados, ocorre por não sofrerem biodegradação. Isto favorece a permanência deles em diversos tecidos e órgãos dos animais expostos a esses ambientes, como cérebro, fígado, ossos e tecido adiposo. Em nível celular os efeitos cumulativos destes elementos são bastante danosos; tendo em visto as suas características químicas que os torna capazes de formar complexos com grupos funcionais de

proteínas e enzimas, por exemplo, alterando a sua funcionalidade. Nas membranas biológicas, os metais ocasionam vários distúrbios no transporte de substâncias essenciais à vida e na permeabilidade dos compartimentos biológicos (MUNIZ & OLIVEIRA-FILHO, 2006).

Normalmente os metais pesados apresentam boa afinidade com outros elementos presentes nos compartimentos celulares como o oxigênio, nitrogênio e o enxofre. Este último pode ser encontrado em forma de radicais sulfidríla, fundamentais para a conformação de proteínas. A capacidade redutora destes grupamentos tíois favorece à ligação com os metais, ocasionando alterações nas estruturas proteicas, levando, por exemplo, a modificações na função de enzimas e na estrutura de moléculas que compõem o sistema antioxidante celular, levando a depleção da glutatona (NELSON & COX, 2014; WU et al., 2016).

Devido essas afinidades e características supracitadas, estudos demonstram a capacidade destes metais pesados em ocasionar alterações nos processos de enovelamento de proteínas específicas, associando-se funcionalmente por exemplo a suas cadeias laterais e grupos funcionais livres como o tiol, além disso possui potencial para deslocarem íons essenciais à constituição de metaloproteínas. Essas ações podem ser prejudiciais às células, por causarem alterações e agregação em proteínas, nas quais dependem inteiramente de sua estrutura conformacional para realizar suas respectivas funções, e ainda proteínas com deformidades nos processos de dobramento podem apresentar caráter tóxico ao meio celular, pois podem se combinar ou relacionar de forma inadequada a substâncias presentes no ambiente celular (TCHOUNWOU et al., 2012; TAMÁS et al., 2014). Pela Figura 1 é demonstrada uma sequência de efeitos possíveis ocasionados em proteínas, pela interação com metais pesados, desencadeando eventos danosos às células.

Dentro deste contexto, destaca-se também a alta capacidade que têm os metais de sofrer oxirredução. Esta capacidade pode causar a quebra da homeostase das células, provocando alterações no sistema redox celular, levando ao estresse oxidativo pelo aumento da formação das espécies reativas de oxigênio (EROs), dentre elas destacam-se pela sua toxicidade: os radicais hidroxila (OH). O estresse oxidativo causado pode ser responsável por causar peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, de aminoácidos e carboidratos e, também, alterações graves em ácidos nucleicos (FERREIRA & MATSUBARA, 1997), tendo relações diretas com à indução de mutagênese e carcinogênese (ZHU & COSTA, 2020). A Figura 2 esquematiza uma sequência de eventos relacionados ao estresse oxidativo gerado pela presença de metais e consequências em moléculas bioquímicas e alteração celular.

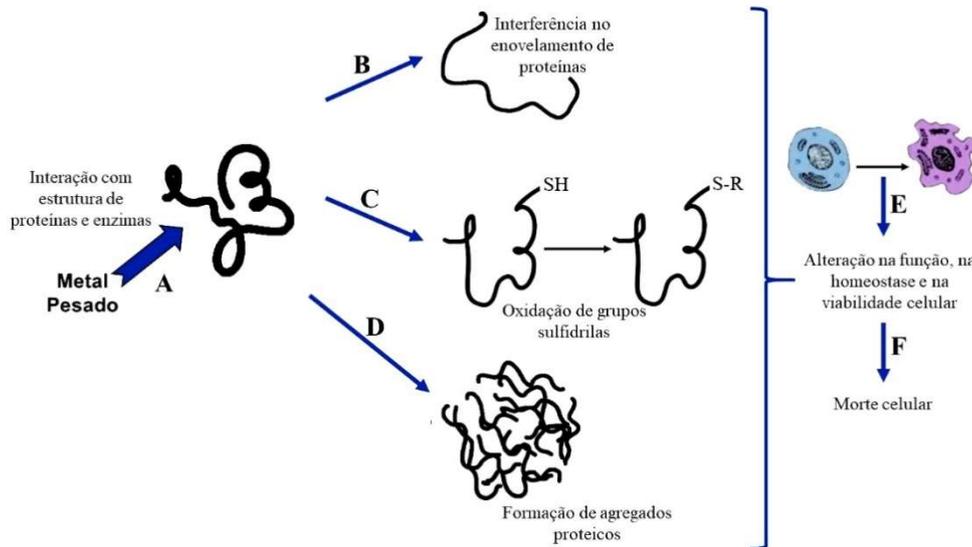


Figura 1. Sequência de efeitos possíveis ocasionados em proteínas, pela interação com metais pesados. Em A. Interação com as estruturas proteicas; B. O metal ligado à proteína interfere no seu enovelamento, modificando a sua estrutura e conformação, levando à perda da sua função; C. Metais podem levar à oxidação de grupamentos tióis; D. Processos oxidativos ou de interferência na estrutura de proteínas podem levar à formação de agregados proteicos não funcionais; E. Alterações em proteínas induzem alteração em funções vitais celulares, desencadeando eventos de F. Morte celular. Fonte: Moschem & Gonçalves (arquivo pessoal); Van Der Meer et al., 2010 (adaptado).

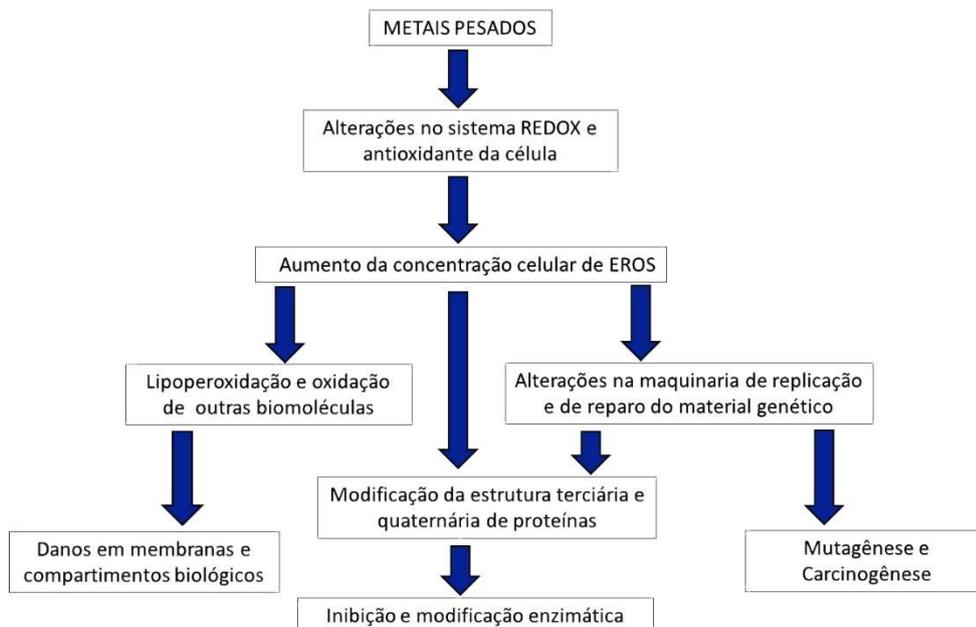


Figura 2. Esquema de uma sequência de eventos relacionados ao estresse oxidativo gerado pela presença de metais, capazes de induzir processos oxidativos em biomoléculas, levando a alterações importantes em células.

Os metais com importantes índices de notificações de intoxicação e de efeitos mais notáveis e conhecidos são: Chumbo (Pb), Mercúrio (Hg), Cádmio (Cd), Alumínio (Al), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Ferro (Fe), entre outros. Pode-se destacar também os metais não classificados como metais pesados, porém em altas dosagens tem efeitos prejudiciais ao organismo como o sódio (Na), além de diversos outros elementos, potencialmente perigosos à saúde humana e de animais. Cada metal apresenta um quadro clínico sintomático e funcional específico, diferindo em algumas particularidades, como descrito a seguir:

Chumbo

Metal de número atômico 82 da tabela periódica, o chumbo não apresenta nenhuma funcionalidade conhecida ligada aos processos fisiológicos e bioquímicos das células. No entanto, dependendo do tamanho da partícula e da forma como o composto é encontrado (seu estado orgânico ou não) esse elemento químico pode ser absorvido por meio das vias aéreas e cutânea e, pelo trato gastrointestinal. Após absorvidos, os íons de chumbo se associam a algumas proteínas plasmáticas e membranas dos eritrócitos, circulando na corrente sanguínea por 40 dias. Sendo assim, é facilmente distribuído em diferentes órgãos, podendo se depositar no cérebro, fígado, rins, músculos e principalmente em tecidos mineralizados, como ossos e dentes. Este metal, apresenta elevada ação tóxica, capaz de levar à inibição da biossíntese da hemoglobina, pela ação inibitória sobre a enzima ácido aminolevulínico desidratase (ALAD) que é integrante do anabolismo do grupo heme (DANTAS DE SOUZA, 2017).

Ainda, o chumbo pode competir com íons de cálcio e outros íons divalentes, essenciais à vida, causando danos irreparáveis ao desenvolvimento ósseo e do sistema nervoso; podendo ocasionar problemas no desenvolvimento cognitivo, alucinações, tremores musculares, paralisia, entre outros. Intoxicações por chumbo também podem provocar alterações no balanço redox das células, levando ao estresse oxidativo, induzindo a severos danos às membranas celulares e ao material genético celular, podendo ocasionar ainda mutações e alteração na divisão celular (MOREIRA & MOREIRA, 2004; SOUZA, 2017).

Mercúrio

O mercúrio (Hg), elemento de número atômico 80, apresenta características peculiares devido ao seu estado físico à temperatura ambiente. Muito utilizado na confecção de termômetros e na mineração de ouro, este metal pode representar uma grande ameaça também aos organismos aquáticos e cadeias tróficas do ambiente contaminado. Dependendo do seu estado físico, pode ser absorvido pelas mucosas, vias respiratórias, e ao longo do tubo digestivo.

Na forma de vapores, pode provocar uma pneumonia severa, irritação de vias áreas e após absorvido pode afetar o sistema nervoso central, além disto, pode alterar as funções renal, muscular, imune e endócrina.

Também, apresenta boa afinidade com grupamentos sulfidrilas, alterando a estrutura quaternária e terciária de várias proteínas. A sua forma orgânica, em que é encontrado associado a compostos de carbono, formando o metil-mercúrio - a mais tóxica do metal. Há estudos que apontam, que seus efeitos atuam também na replicação do DNA, na síntese e dobramento de algumas proteínas, e ainda é capaz de levar à destruição do retículo endoplasmático e dos ribossomos (MUNIZ & OLIVEIRA-FILHO, 2006; BERNHOFT, 2012; TAMÁS et al., 2014).

Alumínio

Fazendo parte da família III-A, o alumínio é um dos metais mais abundantes da crosta terrestre, sendo utilizado para a confecção de diversos utensílios domésticos e cabos. Em concentrações adequadas é fundamental para o desenvolvimento das plantas. Nos animais, em doses elevadas, este metal pode desencadear neurotoxicidade e embriotoxicidade. Sua neurotoxicidade pode afetar a síntese de acetilcolina, um importante neurotransmissor e, sua alta afinidade por proteínas e capacidade de gerar estresse oxidativo torna o alumínio um elemento capaz de induzir a severos efeitos deletérios celulares (KLOTZ et al., 2017).

Cobre

Metal de transição da família I-B e número atômico 29, apresenta elevada capacidade de condutibilidade, maleabilidade, dentre outras características é muito utilizado em fios e eletroeletrônicos. No organismo, em doses fisiológicas, os íons cúpricos e cuprosos são fundamentais para algumas reações bioquímicas. Entretanto, em dosagens acima dos níveis normais o cobre pode trazer prejuízos sérios aos mecanismos de oxirredução celular, levando à geração EROs, ocasionando, dentre outros efeitos, danos à membrana celular e ao material nuclear. Ainda, este metal pode diminuir a disponibilidade de zinco no cérebro, favorecer a oxidação da vitamina A e interferir no funcionamento de diferentes sistemas bioquímicos. Existem estudos que apontam intoxicação por cobre, também, em vários cultivos vegetais, capazes de alterar importantes funções fisiológicas vegetal, prejudicando severamente o desenvolvimento da planta, o ganho de biomassa e produtividade (LUCHESE et al., 2004; SOUZA, 2017).

Ferro

O Ferro é um dos primeiros metais a ser utilizado pelo ser humano e até hoje ocupa uma vantajada posição entre os mais utilizados, estando presente em diversos segmentos industriais. Na natureza pode ser encontrado associado a outros minerais, dentre eles muitos óxidos. Nos seres vivos tem papel fundamental, como constituinte de biomoléculas como a hemoglobina, a qual função determinante no transporte do oxigênio e, sua deficiência pode causar uma anemia severa e ineficiência no transporte de oxigênio pelas hemácias. Em doses elevadas, o ferro apresenta caráter tóxico ao meio celular, reagem facilmente com o peróxido de hidrogênio, originando radicais hidroxila por exemplo, o que desencadeia processos oxidativos capazes de danificar membranas e outras estruturas celulares (SOUZA, 2017).

Cádmio, Cromo e Manganês

Com números atômicos 48, 24 e 25, respectivamente, o cádmio, cromo e manganês são metais localizados nos elementos de transição da tabela periódica e, são utilizados para os mais diversos fins industriais. Em condições fisiológicas, o cromo e o manganês participam de algumas reações bioquímicas celulares. Entretanto, em dosagens elevadas assumem características tóxicas à célula, principalmente, pela produção de EROs. O cádmio pode se ligar a albumina, uma proteína plasmática, sendo transportado ao fígado onde é convertido em metalotioneína. Possui alta capacidade de competir e deslocar outros íons necessários aos organismos alterando sua funcionalidade, como o Cálcio e o Zinco em metaloproteínas, também é capaz de causar danos oxidativos, inibição das tiol transferases, alterações e danos no DNA e apoptose. Dos três o cromo apresenta maior toxicidade em seu estado hexavalente, no meio celular sofre reações de redução e geração de radicais livres, levando a lesões no material genético, danos oxidativos a proteínas e sua agregação devido a problemas na tradução do RNAm, podendo induzir por exemplo à carcinogênese (TAMÁS et al., 2014; CHEN; DESMARAIS; COSTA, 2019; LOZI, 2019).

IMPACTOS POR METAIS RECENTES NO BRASIL

Buscando acompanhar os avanços da globalização e com o aumento da industrialização, a procura por matérias primas aumentou freneticamente. Por isto, nos últimos anos, impactos ambientais importantes e de proporções enormes vem ocorrendo, impactando fortemente em todo o meio ambiente, a fauna, a flora e à saúde da população. Como exemplo destes fatos, pode-se citar o rompimento da barragem de rejeitos de mineração ocorrido no ano de 2015, em

Mariana/MG, que levou à destruição total de vários leitos de rios, pastagens, áreas cultivadas e casas, provocando a morte de várias pessoas, animais e vegetação. Um desastre de extensão incalculável causou danos severos aos ecossistemas terrestre e aquático ao longo de toda a bacia do rio Doce, afetando cidades de Minas Gerais e do Espírito Santo, além das regiões próximas a foz deste rio, impactando diversos bancos de corais e vidas associadas a eles (MIRANDA et al., 2017).

Neste contexto, em 2019, também em Minas Gerais, outro desastre ambiental aconteceu. Uma nova barragem de rejeitos ricos em metais foi rompida, desta vez no município de Brumadinho, contaminando centenas de quilômetros de rios muito importantes deste estado, atingindo inclusive, a bacia do rio São Francisco, a mais importante do sertão mineiro. Vários cursos hídricos foram considerados impróprios para o consumo humano e animal, além de impossibilitar sua utilização para a agricultura (IBAMA, 2019).

Na região norte também houve vários episódios trágicos, como os ocorridos no Pará em 2017, onde aconteceu o transbordamento de barragens de refinaria, contaminando lençóis freáticos e diversos rios da região. Os processos industriais também contribuem como um meio de contaminação por metais pesados, onde análises mais detalhadas das regiões ao redor podem indicar o aumento da concentração destes elementos em rios, córregos, até mesmo na vegetação próxima (BARROS & ROCHA, 2019; COSTA; BORGES; SOTO-BLANCO, 2020).

A frequente contaminação por metais pesados tem sido amplamente distribuída por todo o território brasileiro. De acordo com Wu et al. (2016) emissões de metais que levam à poluição de todos os ecossistemas é algo bastante preocupante e a toxicidade destes elementos depende de vários fatores e, o seu impacto nos diferentes sistemas biológicos é definido por uma série de variáveis, como por exemplo, a biologia de cada tipo de organismo. Além disto, um fato que precisa ser considerado são os mecanismos toxicológicos relacionados aos metais, de forma individual e, também quando combinados a outros metais, cuja combinação desencadeia efeitos que ainda são subestimados. Tais misturas metálicas são encontradas na forma da lama de rejeitos de mineração que tem levado à destruição da vida em diversas regiões do Brasil.

CONCLUSÃO

Os metais são necessários para os mais diversos segmentos da economia, tanto aplicados na indústria, na agricultura, em áreas de inovação dentre outros. Nos organismos vivos, seu papel é inquestionável, tanto para a manutenção das atividades biológicas, como na estruturação de biomoléculas. Balanços negativos ou positivos dos metais alterando as doses fisiológicas

podem trazer perigos sérios para a saúde humana e de todo o ecossistema exposto. O aumento da disponibilidade a altos teores de metais pesados pode levar à inibição enzimática, à oxidação e alteração da estrutura e conformação de proteínas, a alterações nos sistemas redox celular, a danos irreversíveis no material genético e nos processos de replicação celular; o que pode desencadear mutação, induzir apoptose e levar à carcinogenicidade.

Desastres ambientais envolvendo a contaminação por metais são extremamente perigosos à saúde humana e ao meio ambiente. Esta periculosidade é potencializada pela capacidade deles de sofrerem bioacumulação nos tecidos biológicos, sendo a exposição ao ar poluído e ingestão de água potável ou ao alimento contaminados responsáveis por resultar em graves problemas de saúde, como o câncer, por exemplo. Por isto, investigações sobre os mecanismos de toxicidade envolvidos pela exposição aos metais livres ou combinados a outros, com suas respostas bioquímicas e celulares, em curto, médio e longo prazo precisam ser mais considerados.

Dentro deste contexto, faz-se necessário um incremento aos estudos sobre a toxicidade relacionada à exposição aos resíduos industriais, especialmente, aqueles contendo metais pesados; visando despertar preocupação frente a um potencial problema de saúde humana e ambiental e, busca promover a diminuição dos possíveis impactos ocasionados pela exploração e descarte inadequados destes elementos no ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUIAR MRMP, NOVAES AC, GUARINO AWS. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. *Quim Nova*, 25: 1145-1154, 2002.
2. BAIRD C. Química Ambiental, 2.ed., Porto Alegre: Bookman, 2002, 622p.
3. BARROS AT, ROCHA IJ. Comunicando riscos ambientais e tecnológicos na região Amazônica: uma análise de caso do vazamento da mineradora Hydro Alunorte. *Temática* 15(1): 143-160, 2019.
4. BERNHOFT RA. Mercury toxicity and treatment: A review of the literature. *J Environ Public Health*, 1-10, doi:10.1155/2012/460508, 2012.
5. CARVALHO CG, SILVA JM, CURI A, FLORES JCC. A dependência da arrecadação do município de Ouro Preto do setor mineral. *Rev Esc de Minas*, 65(3): 385-392, 2012.
6. COSTA AG, BORGES AM, SOTO-BLANCO B. Metais tóxicos e seus efeitos sobre a

- reprodução dos animais. *Rev Bras Hig San Animal* 14(1): 108-124, 2020.
7. CHEN QY, DESMARAIS T, COSTA M. Metals and Mechanisms of Carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 59: 537-554, 2019.
 8. DANTAS DE SOUZA I. Mapa Metabólico da Intoxicação por Chumbo. Dissertação (Mestrado em Bioinformática), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017, 83f.
 9. DE CARVALHO M, MOREIRA RM, RIBEIRO KD, ALMEIDA AM. Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. *Acta Bras* 1(3): 37-41, 2017.
 10. FERREIRA ALA, MATSUBARA LS. Radicais livres: conceito, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil* 43(1): 61-68, 1997.
 11. IBAMA. Rompimento de barragem da Vale em Brumadinho (MG) destruiu 269,84 hectares. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/noticias/730-2019/1881-rompimento-de-barragem-da-vale-em-brumadinho-mg-destruiu-269-84-hectares>. Acesso em 04/7/2020.
 12. KLOTZ K, WEISTENHÖFER W, FRAUKE N, HARTWIG A, VAN THRIEL C, DREXLER H. The Health Effects of Aluminum Exposure. *Dtsch arztebl Int* 114: 653-659, 2017.
 13. LOZI AA. Toxicidade comparada dos metais pesados, arsênio, cádmio, chumbo, cromo e níquel, sobre parâmetros reprodutivos de camundongos machos adultos após exposição aguda. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2019, 77f.
 14. LUCHESE AV, JUNIOR ACG, LUCHESE EB, BRACCINI MCL. Emergência e absorção do cobre por plantas de milho (*Zea mays*) em resposta ao tratamento de sementes com cobre. *Cienc Rural* 34(6): 1949-1952, 2004.
 15. MIRANDA MG, FRIEDE R, RODRIGUES AC, ALMEIDA DS. Cadê a minha cidade, ou o impacto da tragédia da Samarco na vida dos moradores de Bento Rodrigues. *Interações* 18(2): 3-12, 2017.
 16. MONTEIRO TH, VANNUCCHI H. Funções plenamente conhecidas de nutrientes: Magnésio, São Paulo: ISLI Brasil-International Life Sciences Institute do Brasil 2010, 20p.
 17. MOREIRA FR, MOREIRA JC. Os efeitos do chumbo sobre o organismo e seu significado para a saúde. *Rev Parnam Salud Publica* 15(2): 119-129, 2004.

18. MUNIZ DHF, OLIVEIRA-FILHO EC. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. *Universitárias: Ciênc Saúde* 4(1/2): 83-100, 2006.
19. NELSON DL, COX MM. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 6.ed., Porto Alegre: Artmed, 2014, 1220p.
20. REIS MAB, VELLOSO LA, REYES FG. Alterações do metabolismo da glicose na deficiência de magnésio. *Rev. Nutr* 15(3): 333-340, 2002.
21. SOUZA FS. Avaliação do teor de metais em acerolas (*Malpighia emarginata*) cultivadas no entorno de áreas industriais da Vila Maranhão em São Luiz-MA provenientes da poluição atmosférica. Monografia (Graduação em Química), Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2017, 54f.
22. TAIZ L, ZEIGER E, MOLLER IM, MURPHY A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6.ed., Porto Alegre: Artmed, 2017, 858f.
23. TAMÁS MJ, SHARMA SK, IBSTEDT S, JACOBSON T, CHRISTEN P. Heavy Metals and Metalloids as a Cause for Protein Misfolding and Aggregation. *Biomol* 4: 252-267, 2014.
24. TCHOUNWOU PB, YEDJOU CG, PATLOLLA AK, SUTTON DJ. Heavy Metals and Toxicity and the Environment. *EXS* 101: 133-164, 2012.
25. VAN DER MEER FJ, FABER DJ, AALDERS MCG, POOT AA, VERMES I, VAN LEEUWEN TG. Apoptosis- and necrosis-induced changes in light attenuation measured by optical coherence tomography. *Lasers Med Sci* 25, 259-267, 2010.
25. WU X, COBBINA SJ, MAO G, XU H, ZHANG Z, YANG L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ Sci Pollut Res* 23: 8244-8259, 2016.
26. ZHU Y, COSTA M. Metals and molecular carcinogenesis. *Carcinog*, doi: 10.1093/carcin/bgaa076, 2020.

Estudos de *docking* molecular da interação de Bis-purinas com acetilcolinesterase para o tratamento da Doença de Alzheimer

Molecular *docking* studies of Bis-purines interaction with acetylcholinesterase for the treatment of Alzheimer's disease

Marcia Helena Rodrigues Velloso¹, Christiane Mapheu Nogueira¹, Débora Pereira Araújo¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências Naturais, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Marcia Helena Rodrigues Velloso

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências Naturais

Rodovia Governador Mário Covas Km 60, s/n, Litorâneo, CEP 29.932-540, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3312-1659

Email: marcia.velloso@ufes.br

Submetido em 28/07/2020

Aceito em 12/08/2020

RESUMO

A doença de Alzheimer é a forma mais comum de demência no mundo. Embora a fisiopatologia da doença seja complexa, a redução das taxas de acetilcolina no hipocampo e córtex cerebral tem sido associada com essa patologia. Portanto, o uso de inibidores de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE), tem sido considerado como a melhor abordagem para o tratamento da doença. Inibidores com dupla interação com a enzima, ligando-se simultaneamente ao sítio catalítico aniônico (CAS) e ao sítio aniônico periférico (PAS), têm se destacado. No presente trabalho foi utilizado o *docking* molecular para avaliar a afinidade de diaminas de bis-purinas, com espaçadores metilênicos, pela enzima acetilcolinesterase. Os resultados obtidos indicaram que os compostos **5BP**, **7BP**, **10BP** e **11BP** possuem afinidade com a enzima através das interações observadas com os resíduos considerados importantes como Trp84 e Phe330 localizados no CAS. Além disso, todos os compostos mostraram interação com vários outros resíduos localizados no PAS e, embora não tenham apresentado interações com o Trp279, os compostos com maior afinidade, **5BP** e **11BP**, interagiram com o Asp72, sugerindo um papel decisivo nas suas afinidades.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer. Acetilcolinesterase. *Docking* Molecular. Bis-purinas.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is the most common form of dementia in the world. Although the disease's pathophysiology is complex, the reduction of rates of acetylcholine in the hippocampus and cerebral cortex has been associated with this pathology. Therefore, the use of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) inhibitors has been considered the best approach for disease's treatment. Inhibitors with double interaction with the enzyme, binding simultaneously to the anionic catalytic site (CAS) and to the peripheral anionic site (PAS), have been highlighted. In the present work, molecular docking was used to assess the affinity of bis-purine diamines, with methylene spacers, for the enzyme acetylcholinesterase. The results obtained indicated that the evaluated compounds **5BP**, **7BP**, **10BP** e **11BP** had affinity with the enzyme through interactions observed with residues considered important as Trp84 and Phe330 located in CAS. In addition, all compounds showed interaction with several other residues located in the PAS and, although they did not show interactions with Trp279, the most active compounds, **5BP** e **11BP**, interacted with Asp72, which suggests a decisive role in its affinities.

Keywords: Alzheimer's Disease. Acetylcholinesterase. Molecular docking. Bis-purines.

INTRODUÇÃO

Estima-se que no mundo todo existam cerca de 50 milhões de pessoas sofrendo de algum tipo de demência. A demência pode ser definida como uma síndrome na qual há deterioração da memória, pensamento, comportamento e capacidade de realizar atividades diárias. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) 60-70% dos casos de demência são causados pela Doença de Alzheimer (DA) (WHO, 2020).

Na DA observa-se a perda progressiva da memória e outras funções cognitivas, afetando o funcionamento ocupacional e social. Além de alterações psíquicas e comportamentais, tais como psicose, alterações de humor e sono, agitação psicomotora e agressividade (FORLENZA, 2005).

A fisiopatologia da DA é complexa, envolvendo diferentes caminhos bioquímicos e, apesar de sua etiologia não ser completamente conhecida, diversos fatores como o acúmulo de placas neuríticas constituídas principalmente pela proteína β -amiloide (CASTRO & MARTINEZ, 2006), agregação de proteína τ (ALONSO; GRUNDKE-IQBAL; IQBAL, 1996), estresse oxidativo (ANDERSEN, 2004; DUMONT & BEAL, 2011) e o déficit colinérgico no hipocampo e córtex cerebral (CUMMINGS, 2004) têm sido associados à fisiopatologia da doença (IQBAL & GRUNDKE-IQBAL, 2000).

A hipótese colinérgica baseia-se na redução das taxas de acetilcolina (ACh) no hipocampo e córtex cerebral. Embora seja comum a diminuição progressiva dos níveis de acetilcolina durante o envelhecimento, nos pacientes com a DA os níveis desse neurotransmissor chegam a cair em até 90%, significando uma grande perda neuroquímica (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016). Os inibidores das colinesterases são os principais fármacos atualmente licenciados para o tratamento da DA. Seu uso busca aumentar a disponibilidade sináptica de acetilcolina, através da inibição das suas principais enzimas catalíticas, a acetil (AChE) e a butirilcolinesterase (BuChE) (PINTO et al., 2015).

Dos cinco medicamentos utilizados atualmente para o tratamento da DA três são inibidores da acetilcolinesterase (AChE): o donepezil (Aricept®), a galantamina (Reminyl®) e a rivastigmina (Exelon®) (CHAVES & AVERSI FERREIRA, 2008). Mas, até o momento a DA não possui tratamento que possa curá-la, preveni-la ou interromper seu desenvolvimento. Todos os fármacos utilizados apresentam efeitos colaterais significativos e conferem apenas uma melhora temporária dos sintomas (FORLENZA, 2005; WHALEN; FINKEL; PANAVELIL, 2016).

A tacrina (Cognex®) foi o primeiro medicamento comercial aprovado para o tratamento da DA (TUMIATTI et al., 2010). Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição tanto da AChE como da BuChE. Porém, seu uso foi descontinuado pela excessiva hepatotoxicidade observada em 30% a 40% dos casos e pela a baixa biodisponibilidade (VALE et al., 2011). Mas, apesar dos problemas, vários estudos têm sido realizados com a sua estrutura como modelo no desenvolvimento de análogos bioativos com diferentes níveis de seletividade, almejando menor toxicidade e melhor perfil farmacocinético (MILELLI et al., 2017; PRZYBYŁOWSKA et al., 2019).

O sítio catalítico da AChE, composto pela tríade formada pelos resíduos Ser200, Glu327 e His440, está localizado na parte inferior de uma “garganta” profunda e estreita com cerca de 20Å de extensão. Além do sítio catalítico, a AChE possui mais 4 outros sítios localizados ao longo da “garganta”: sítio catalítico aniônico (CAS) (Trp84, Glu199 e Phe330), sítio de ligação do grupo acila (Phe288 e Phe290), sítio oxianiônico (Gly118, Gly119 e Ala201) e o sítio aniônico periférico (PAS) (Tyr 70, Asp 72, Tyr 121, Trp 279 e Tyr 334) localizado na entrada da “garganta” (KRYGER; SILMAN; SUSSMAN, 1999; JOHNSON & MOORE, 2006).

A estratégia de usar inibidores de AChE capazes de interagir duplamente com o sítio ativo da enzima foi testada primeiramente por Pang e colaboradores (1996). Os pesquisadores descobriram que o uso de espaçadores metilênicos unindo duas unidades de tacrina permitiam uma dupla interação do composto com o sítio ativo da enzima, ligando-se simultaneamente ao CAS e ao PAS. Dentre a série de bis-tacrinas com espaçadores metilênicos sintetizadas a mais ativa foi a bis(7)-tacrina que se mostrou 1.500 vezes mais potente que a tacrina na inibição da AChE. Após o estudo de Pang e colaboradores (1996), vários outros envolvendo o uso de inibidores de colinesterase, homo- ou hetero-diméricos, ligados por uma cadeia metilênica apareceram na literatura. Mais recentemente, uma série de híbridos tacrina-lofina foi estudada, sendo o composto com espaçador de 8 CH₂ o que apresentou melhor resultado na inibição da AChE, com o valor de IC₅₀ de 5,87 nM (DA COSTA et al., 2013). Estudos de uma série de híbridos tacrina-tianeptina mostraram que esses compostos atuam como inibidores potentes e seletivos frente a AChE e BuChE alcançando valores de IC₅₀ com concentração nanomolar (CESCHI et al., 2016). Lopes e colaboradores (2017) destacaram o estudo de bis-tacrinas quirais na inibição da AChE no qual o homodímero (R,R) e o heterodímero (R,S) apresentaram valores de IC₅₀ de 4,73 e 2,80 nM, respectivamente. Compostos contendo o núcleo da tacrina conectado à fração esquárica por uma cadeia de diaminoalquileno apresentaram alta atividade inibitória para a AChE com valores de IC₅₀ com concentrações nanomolares. Os estudos de

modelagem molecular mostraram que esses compostos atuam como inibidores de dupla interação, interagindo no sítio catalítico da enzima tanto com o CAS como com o PAS (CESCHI et al., 2020).

As purinas substituídas ou seus nucleosídeos/nucleotídeos desempenham papéis cruciais em várias funções nos organismos vivos (DINESH et al., 2012). Portanto, não é surpresa que compostos análogos às purinas tenham grande utilidade como agentes quimioterapêuticos (agentes antivirais, antibióticos e anticancerígenos) e em processos farmacodinâmicos (regulação do consumo de oxigênio no miocárdio e fluxo sanguíneo cardíaco) (BUTCHER et al., 2013; ISHIKAWA; AW; KANEKO, 2013; SOARES-BEZERRA et al., 2013). Muitos fármacos que estão estruturalmente relacionados com as purinas ou seus derivados afetam seletivamente processos biológicos através da interação com enzimas ou receptores no lugar de ligantes naturais com os quais se assemelham. Alguns estudos relatam o potencial de inibição de purina frente a AChE, como a zeatina, isolada de *Fiatoua villosa*, que apresentou IC_{50} de 109 μ M (VIEGAS Jr. et al., 2004). Derivados da *N*-benzilpiperidina-purina apresentaram inibição moderada com a AChE (IC_{50} = 20-50 μ M) mas a introdução de um espaçador metoximetilênico aumentou consideravelmente a inibição enzimática (IC_{50} = 0,1-1,0 μ M) (RODRÍGUEZ-FRANCO et al., 2005). Podemos destacar que o anel purínico pode interagir com resíduos aromáticos dos aminoácidos através das interações do tipo empilhamento π e com isso levar a obtenção de potenciais inibidores de colinesterases.

O desenvolvimento de novos fármacos a partir de estruturas químicas de fármacos já conhecidos (*ligand-based drug discovery*) baseia-se na comparação das estruturas dos compostos em estudo com estruturas químicas, ou perfis gerados a partir da estrutura química, de ligantes ativos testados *in vivo* ou *in vitro* (KOUTSOUKAS et al., 2011). Os resultados de atividade inibitória da AChE obtida pela bis(7)-tacrina a tornam uma molécula interessante para a pesquisa de outras moléculas inibidoras de AChE com o mesmo perfil farmacofórico (RYDBERG et al., 2006; LOPES et al., 2017; MILELLI et al., 2017).

Quando a estrutura 3D do alvo (enzima, DNA ou receptor) é conhecida, o candidato a fármaco pode ter sua atividade estimada através de estudos computacionais, economizando tempo e dinheiro. Na técnica de *docking* molecular estimasse a afinidade de um candidato à fármaco com a molécula alvo através do cálculo das possíveis conformações do complexo receptor-ligante, ou seja, as possíveis orientações que um ligante assume no interior do sítio ativo de um receptor e estima suas ligações com base em algoritmos de encaixe e funções de escore através da aplicação de funções de energia contendo parâmetros eletrostáticos, de Van

der Waals, de ligações de hidrogênio, hidrofóbicos, os quais geram modelos matemáticos que predizem as melhores orientações do ligante, segundo uma lista de escores de energia (ELKAMHAWY et al., 2014).

Tendo em vista que a terapêutica atual da DA é apenas sintomática e que os inibidores de colinesterases são os principais fármacos licenciados para o tratamento da doença, é muito importante o desenvolvimento de novos agentes que interajam com a AChE como possíveis drogas para o tratamento da DA. Portanto, nesse trabalho foi utilizada a técnica computacional de *docking* molecular para avaliar a afinidade de diaminas de bis-purinas, com espaçadores metilênicos na posição 6 do anel purínico (Figura 1) com a AChE.

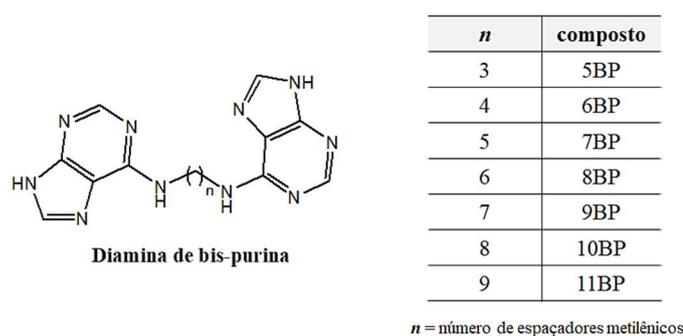


Figura 1. Estruturas das diaminas de bis-purinas usadas no *docking* molecular.

METODOLOGIA

Construção, otimização e análise conformacional das diaminas de bis-purinas

As estruturas tridimensionais das diaminas de bis-purinas utilizadas nesse estudo foram construídas e otimizadas utilizando o programa *Spartan*'18. Após otimização as estruturas foram submetidas à análise conformacional utilizando o campo de força MMFF. Para determinação das cargas atômicas parciais a estrutura do conformêro mais estável, obtido para cada composto, foi otimizada utilizando o método semiempírico RM1 (ROCHA et al., 2006).

Docking Molecular

Para a seleção da estrutura tridimensional da enzima utilizada nos experimentos de *docking* foi realizada, inicialmente, uma busca no Banco de Dados de Proteínas (PDB) por enzimas complexadas com o ligante bis-tacrina. A utilização desse critério ocorreu pelo fato da bis-tacrina possuir estrutura próxima a dos compostos estudados, além de ser capaz de interagir simultaneamente com o CAS e o PAS. Foram encontradas 3 enzimas que atendiam a esse

critério, todas acetilcolinesterase de *Torpedo californica* (*TcAChE*). Considerando que a AChE costuma ter grande conservação estrutural e funcional entre as diferentes espécies e que as sequências de aminoácidos das espécies *Homo sapiens* (*HuAChE*) e *Torpedo californica* (*TcAChE*) apresentam 57% de identidade e 86% de homologia (WIESNER et al., 2007; LUSHINGTON; GUO; HURLEY, 2010), assim como o fato de que os resíduos de aminoácidos que fazem parte de seus sítios ativos são os mesmos, havendo apenas uma mudança na numeração destes e uma mutação do tipo conservativa que não causa nenhuma diferença significativa às propriedades eletrostáticas e estéricas da cavidade do sítio ativo (ALMEIDA, 2015), pode-se dizer que a maioria das afirmações derivadas de um dos modelos estruturais mantem-se razoavelmente bem para o outro, não comprometendo os resultados obtidos (WIESNER et al., 2007; LUSHINGTON; GUO; HURLEY, 2010). Portanto, a enzima escolhida foi a acetilcolinesterase de *Torpedo californica* (*TcAChE*) complexada com o ligante (bis)7-tacrina com código PDB: 2CKM (RYDBERG et al., 2006) (Figura 2). Essa enzima foi utilizada anteriormente em estudos de *docking* de ligantes semelhantes à bis-tacrina (DE AQUINO et al., 2013; LOPES et al., 2017; MEENA et al., 2019).

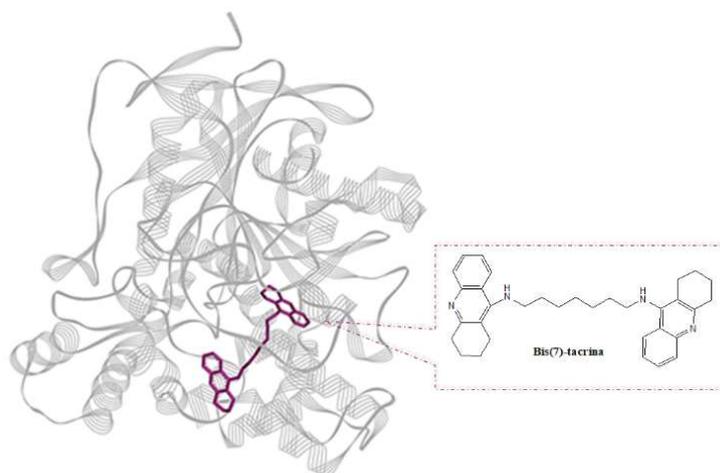


Figura 2. Estrutura do complexo da bis(7)-tacrina (em magenta) com a *TcAChE* (código PDB: 2CKM).

Os experimentos de *docking* molecular e *redocking* foram realizados utilizando os programas gratuitos *AutoDock Tools* (ADT), versão 1.5.7 (MORRIS et al., 2009) e *AutoDock Vina* (TROTT & OLSON, 2010). Os ligantes foram considerados flexíveis enquanto a enzima foi considerada rígida. Além disso, para uma melhor caracterização das interações entre os

ligantes e a *TcAChE* no complexo enzimático, todos os experimentos foram realizados considerando os estados de protonação das espécies em pH fisiológico.

Para a visualização e análise dos resultados da melhor posição de encaixe (*pose*) dos ligantes foram utilizados os programas ADT e *Discovery Studio Visualizer*, versão 17.2.0. O *Discovery Studio Visualizer* também foi utilizado para geração das imagens.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento de *docking* molecular a busca da melhor *pose* entre o ligante e a biomolécula é efetuada dentro de um espaço tridimensional definido (*grid*), onde o programa realiza os cálculos de superfície potencial necessários à predição das interações entre o receptor e o ligante. Portanto, a parametrização correta do *grid* é muito importante para a obtenção de resultados com maiores níveis de confiabilidade. Assim, antes do *docking* dos ligantes foi realizado o procedimento de *redocking*. O *redocking* consiste em fazer o experimento de *docking* entre o receptor e o ligante cocristalizado e comparar a *pose* obtida com àquela do complexo original, validando o desempenho do programa de *docking* para o sistema em estudo. Quanto menor o desvio médio quadrático (RMSD) mais similares serão as estruturas e melhor será o modelo. Para que a parametrização seja considerada satisfatória o valor do RMSD obtido deve ser menor ou igual a 2Å (WANG; LU; WANG, 2003).

No experimento de *redocking* da bis(7)-tacrina com a *TcAChE* (código PDB: 2CKM) o valor de RMSD obtido foi igual a 1,38Å, validando parametrização para uso nos experimentos de *docking* com os ligantes derivados de diaminas de bis-purina (Figura 3).

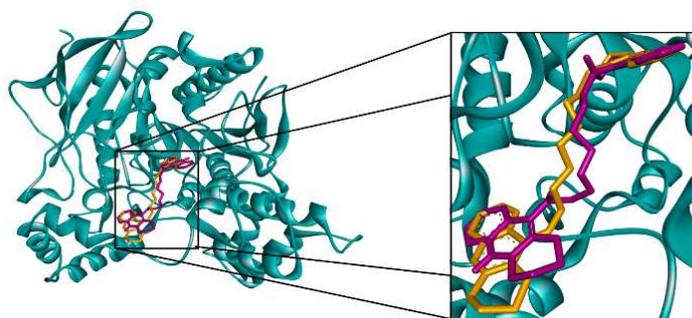


Figura 3. *Redocking* do ligante bis(7)-tacrina na enzima *TcAChE*, código PDB: 2CKM. Em laranja a *pose* do ligante no cristal e em magenta a *pose* gerada no *docking*.

As simulações de *docking* molecular utilizando o programa *AutoDock Vina* forneceram 9 *poses* para cada um dos ligantes. A melhor *pose*, em cada caso, foi aquela com menor energia de afinidade. Com os valores das energias de afinidades receptor-ligante foram obtidas constantes de inibição enzimática, K_i , de acordo com a equação (SILVA JÚNIOR & GONÇALVES, 2019):

$$K_i = \exp(\Delta G/RT)$$

A constante de inibição, assim como a energia de afinidade, prediz informações sobre a estabilidade do complexo receptor-ligante formado. Quanto menor K_i , maior a estabilidade do complexo e conseqüentemente, maior a eficácia do ligante em inibir o receptor e menor a concentração do fármaco necessária à inibição da atividade enzimática (SILVA JÚNIOR & GONÇALVES, 2019).

Os resultados das energias de afinidade obtidas no *docking* molecular dos compostos estudados com a *TcAChE* e dos cálculos da constante de inibição são mostrados na Tabela 1, onde pode ser observado que os dois compostos que apresentaram maior afinidade com a enzima *TcAChE* foram o **5BP** e o **11BP**, e os compostos com menor afinidade foram o **7BP** e o **10BP**. Portanto, esses 4 compostos foram os escolhidos para as análises das interações intermoleculares do complexo receptor-ligante no sítio ativo da *TcAChE*. As representações esquemáticas 2D dos sítios de interação de seus complexos com a *TcAChE* são mostradas na Figura 4.

Tabela 1. Valores da energia de afinidade e das constantes de inibição calculadas.

Composto	Afinidade (Kcal.mol ⁻¹)	Ki (μM)
5BP	-9,1	0,21
6BP	-8,9	0,30
7BP	-8,8	0,35
8BP	-8,9	0,30
9BP	-8,9	0,30
10BP	-8,8	0,35
11BP	-9,0	0,25

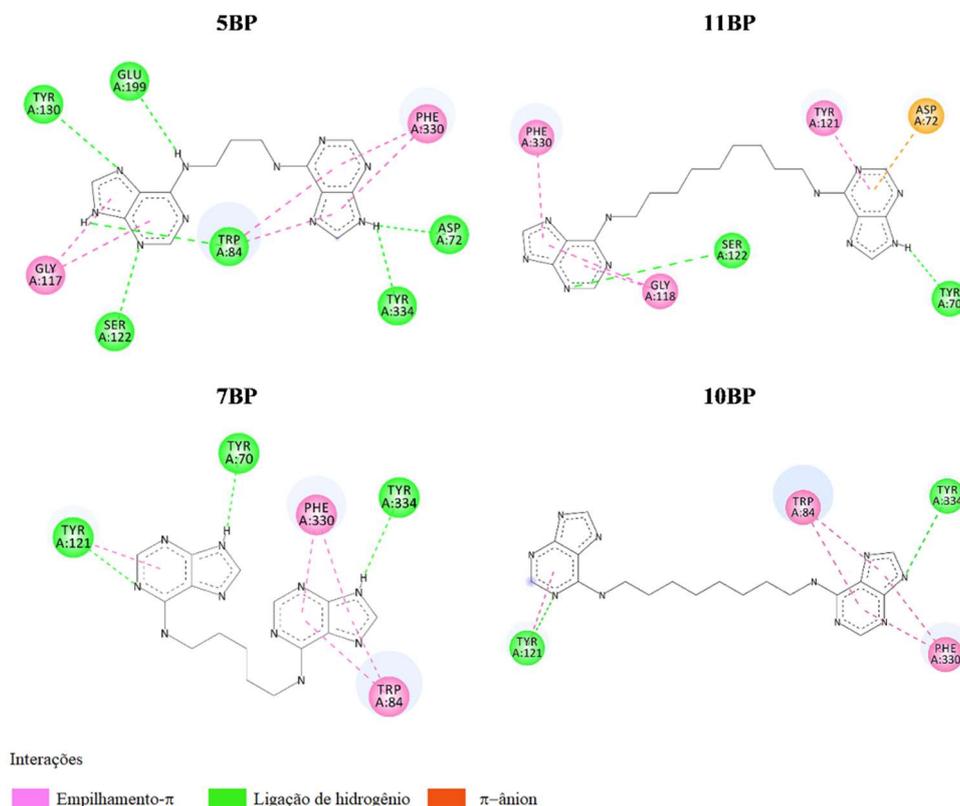


Figura 4. Representação 2D das interações intermoleculares dos compostos **5BP**, **11BP**, **7BP** e **10BP** com a enzima *TcAChE*.

Quase todos os compostos, com exceção do **11BP**, interagiram através de empilhamento π com o resíduo Trp84. Esse resíduo, localizado no CAS, próximo a “triade catalítica” (Ser200-His440-Glu327), tem sido utilizado em estudos de *docking* molecular como um marcador de inibição bem sucedida de AChE. Para o composto **5BP** observa-se também que, além da interação do tipo empilhamento π , há uma interação do tipo ligação de hidrogênio (Figura 5).

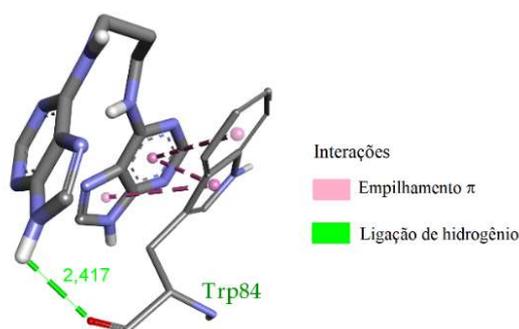


Figura 5. Interações do composto **5BP** com o resíduo Trp84.

Todos os compostos estudados mostraram interação do tipo empilhamento π com o Phe330. A interação com esse resíduo, assim como o Trp84, também foi observada para a tacrina e para bis(7)-tacrina. Em um estudo do desenvolvimento de um composto híbrido para o tratamento da DA, foi mostrada a importância desse aminoácido na estabilização da tacrina no sítio ativo, possibilitando a interação desta com o Trp84 (DA SILVA et al., 2006).

O composto **5BP** foi o único que apresentou interação com o resíduo Glu199, através de formação de ligação de hidrogênio (2,97Å). Esse resíduo localiza-se bem próximo a tríade catalítica e, juntamente com os resíduos Trp84 e Phe330, faz parte do CAS. Assim, o **5BP** foi o único composto que interagiu com todos os principais resíduos do CAS, sendo que com dois deles o fez através de formação de ligação de hidrogênio (Trp84 e Glu199).

Também foi observada interação dos compostos estudados com os aminoácidos localizados no PAS (Asp72, Tyr70, Tyr121, Tyr334) (Figura 6). Somente os ligantes com maior afinidade, **5BP** e **11BP**, apresentaram interação com o resíduo Asp72. No **5BP** a interação observada foi do tipo ligação de hidrogênio e no **11BP** do tipo π -ânion. O Asp72 é um resíduo negativamente carregado, o que faz com que suas interações apresentem um caráter mais eletrostático e, conseqüentemente, mais forte do que as interações hidrofóbicas e de Van der Waals. Esse comportamento pode ser observado através do valor, significativamente menor, do comprimento da ligação de hidrogênio da interação desse resíduo com o composto **5BP**, assim como na interação do tipo π -ânion, de natureza eletrostática, com o composto **11BP**. O **5BP** ainda apresenta interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Tyr334 e o **11BP** interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Try70 e Tyr121. Os compostos com as menores afinidades pela *TcAChE*, **7BP** e **10BP**, apresentaram interações do tipo ligação de hidrogênio somente com os resíduos Tyr121 e Tyr334.

Embora todos os compostos analisados tenham apresentado dupla interação, com o CAS e com o PAS, com o sítio ativo da enzima *TcAChE*, através de ligações de hidrogênio, empilhamento- π ou interação elétron- π , o que é um comportamento desejável para um inibidor da enzima acetilcolinesterase, nenhum deles apresentou interação com o resíduo Trp279, considerado o mais importante do PAS (HAREL et al., 1993).

Em relação ao número de espaçadores não foi observada influência entre a quantidade desses e a afinidade receptor-ligante uma vez que os compostos com maiores afinidades foram o com menor (**5BP**) e o com maior (**11BP**) número de espaçadores metilênicos. Esse comportamento provavelmente está relacionado à formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio do grupo amino e o nitrogênio nas posições 1 (**5BP** e **11BP**)

e 7 (**7BP** e **10BP**) do anel purínico (Figura 7). A alta liberdade rotacional da cadeia metilênica permite a formação dessa ligação, o que mantém os dois anéis purínicos próximos, independentemente do número de espaçadores utilizado.

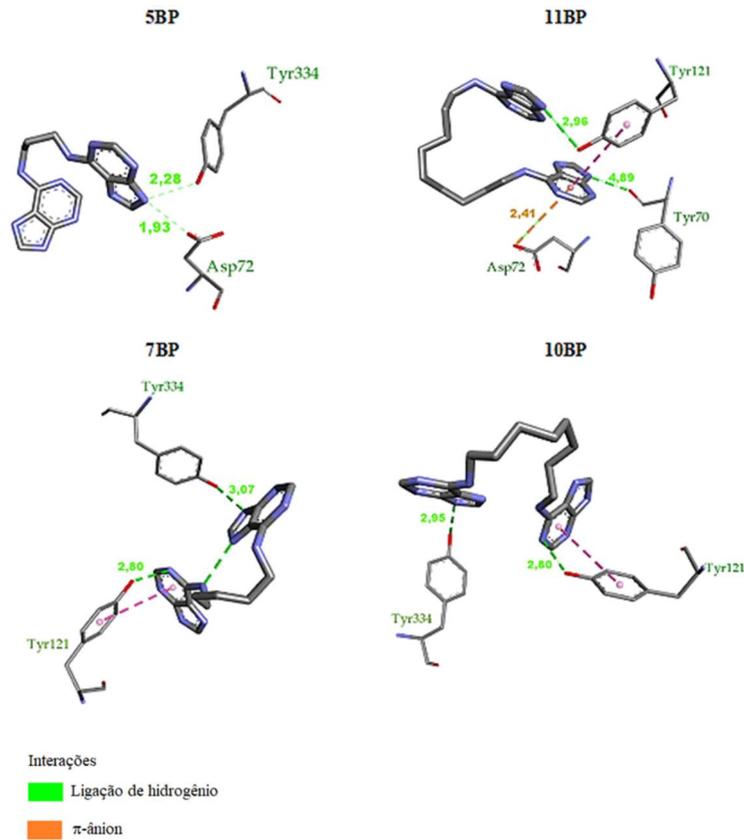


Figura 6. Resultados do *docking* molecular referentes às interações com o PAS, indicando as distâncias e aminoácidos.

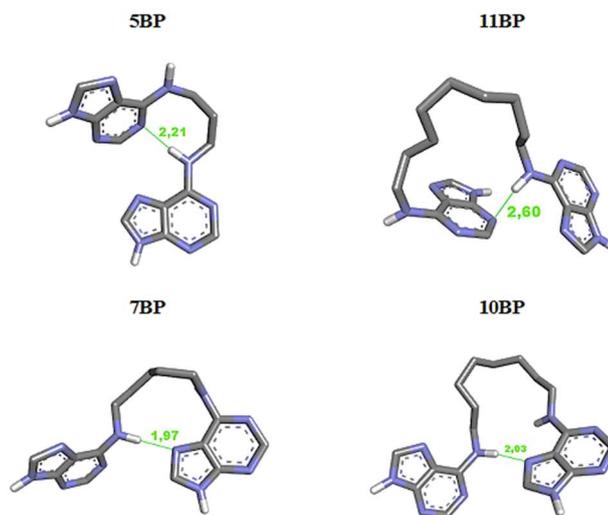


Figura 7. Ligação de hidrogênio intramolecular das diaminas de bis-purinas.

No caso da bis(7)-tacrina não há formação de ligação de hidrogênio intramolecular pois, ao contrário do que ocorre as diaminas de bis-purinas, no pH fisiológico ela se encontra na sua forma protonada (Figura 8) ou seja, o nitrogênio do anel quinolínico está na sua forma ácida, o que impossibilita a formação da ligação de hidrogênio.

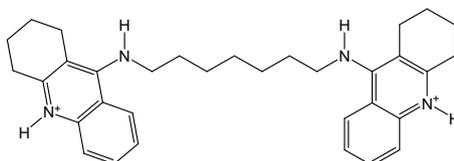


Figura 8. Estrutura da bis(7)-tacrina em pH igual a 7,4.

A formação da ligação de hidrogênio intramolecular também explica por que os compostos não interagiram com o resíduo Trp279. Quando esses compostos entram no sítio ativo da enzima os dois anéis purínicos são mantidos próximos, em decorrência da ligação de hidrogênio intramolecular, em uma região do sítio ativo que fica mais afastada do Trp279. O que não ocorre com a bis(7)-tacrina, onde os anéis ficam separados permitindo que um deles interaja com o Trp279 (Figura 9).

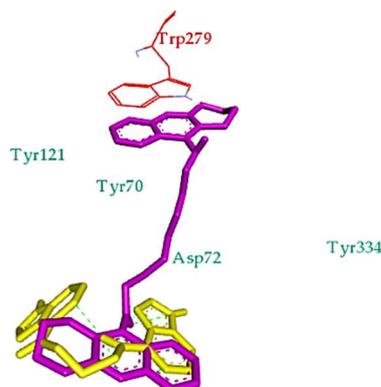


Figura 9. Visualização do composto **5BP** (em amarelo) e bis(7)-tacrina (magenta) no sítio ativo da *TcAChE*. Em destaque são mostrados os principais resíduos do PAS.

Por outro lado, a proximidade dos compostos estudados com o resíduo Asp72 permitiu a interação desse com os compostos **5BP** e **11BP**. Considerando que o **5BP** e o **11BP** foram os que apresentaram a maior afinidade, a interação com esse resíduo parece ser um fator importante na interação desses compostos com a enzima acetilcolinesterase.

Assim, todos os compostos analisados foram capazes de interagir duplamente com o sítio ativo da enzima *TcAChE*, mas os compostos que mostraram maior potencial de inibição foram o **5BP** e o **11BP**.

AGRADECIMENTOS

À FAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, JR. Planejamento, ensaio e otimização *in silico* de novos protótipos inibidores da enzima acetilcolinesterase. 2014. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014, 156f.
2. ALONSO DCA, GRUNKE-IQBAL I, IQBAL K. Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat Med* 2(7): 783-787, 1996.
3. ANDERSEN JK. Oxidative stress in neurodegeneration: Cause or consequence? *Nat Rev Neurosci* 10(7): S18, 2004.
4. ARAÚJO CRM, SANTOS VLA, GONSALVES AA. Acetylcholinesterase - AChE: A pharmacological interesting enzyme. *Rev Virtual Quim* 8(6): 1818-1834, 2016.
5. BUTCHER A, SCAMMELLS PJ, WHITE PJ, DEVINE, SM, ROSE'MEYER RB. An Allosteric Modulator of the Adenosine A1 Receptor Improves Cardiac Function Following Ischaemia in Murine Isolated Hearts. *Pharmaceuticals* 6(4): 546-556, 2013.
6. CASTRO A, MARTINEZ A. Targeting Beta-Amyloid Pathogenesis Through Acetylcholinesterase Inhibitors. *Curr Pharm Des* 12(33): 4377-4387, 2006.
7. CESCHI MA, COSTA JS, LOPES JPB, CÂMARA VS, CAMPO LF, BORGES ACA, GONÇALVES CAS, SOUZA DF, KONRATH EL, KARL ALM, GUEDES IA, DARDENNE LE. Novel series of tacrine-tianeptine hybrids: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity, S100B secretion and a molecular modeling approach. *Eur J Med Chem* 121: 758-772, 2016.
8. CESCHI MA, PILOTTI RM, LOPES JPB, DAPONT H, ROCHA JBT, AFOLABI BA,

- GUEDES IA, DARDENNE LE. An Expedient Synthesis of Tacrine-Squaric Hybrids as Potent, Selective and Dual-Binding Cholinesterase Inhibitors. *J Braz Chem Soc* 31(5): 857-866, 2020.
9. CHAVES MDB, AVERSI FERREIRA TA. Terapia Medicamentosa da Doença de Alzheimer. *Rev Eletrônica Farm* 5(1): 1-7, 2008.
 10. CUMMINGS JL. Treatment of Alzheimer's disease: current and future therapeutic approaches. *Rev Neurol Dis* 1(2): 60-69, 2004.
 11. DA COSTA JS, LOPES JPB, RUSSOWSKY D, PETZHOLD CL, BORGES ACA, CESCHI MA, KONRATH E, BATASSINI C, LUNARDI PS, GONÇALVES CAS. Synthesis of tacrine-lophine hybrids via one-pot four component reaction and biological evaluation as acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem* 62: 556-563, 2013.
 12. DA SILVA CHTP, CAMPO VL, CARVALHO I, TAFT CA. Molecular modeling, docking and ADMET studies applied to the design of a novel hybrid for treatment of Alzheimer's disease. *J Mol Graph Model* 25(2): 169-175, 2006.
 13. DE AQUINO RAN, MODOLO LV, ALVES RB, DE FÁTIMA A. Synthesis, kinetic studies and molecular modeling of novel tacrine dimers as cholinesterase inhibitors. *Org Biomol Chem* 11(48): 8395-8409, 2013.
 14. DINESH S, SHIKHA G, BHAVANA G, NIDHI S, DILEEP S. Biological activities of purine analogs: A review. *J Pharm and Sci Innov* 1(2): 29-34, 2012.
 15. DUMONT M, BEAL MF. Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med* 51(5): 1014-026, 2011.
 16. ELKAMHAWY A, LEE J, PARK B, PARK I, PAE AN, ROH EJ. Novel quinazoline-urea analogues as modulators for A β -induced mitochondrial dysfunction: design, synthesis, and molecular docking study. *Eur J Med Chem* 84: 466-475, 2014.
 17. FORLENZA OV. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. *Arch Clin Psychiatry* 32(3): 137-148, 2005.
 18. HAREL M, SCHALK I, EHRET-SABATIER L, BOUET F, GOELDNER M, HIRTH C, AXELSEN PH, SILMAN I, SUSSMAN JL. Quaternary ligand binding to aromatic

- residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. *Proc Natl Acad Sci* 90(19): 9031-9035, 1993.
19. IQBAL K, GRUNDKE-IQBAL I. Alzheimer disease is multifactorial and heterogeneous. *Neurobiol Aging* 21(6): 901-904, 2000.
 20. ISHIKAWA T, AW W, KANEKO K. Metabolic Interactions of Purine Derivatives with Human ABC Transporter ABCG2: Genetic Testing to Assess Gout Risk. *Pharmaceuticals* 6(11): 1347-1360, 2013.
 21. JOHNSON G, MOORE SW. The peripheral anionic site of acetylcholinesterase: structure, functions and potential role in rational drug design. *Curr Pharm Des* 12(2): 217-225, 2006.
 22. KOUTSOUKAS A, SIMMS B, KIRCHMAIR J, BOND P, WHITMORE AV, ZIMMER S, YOUNG MP, JENKINS JL, GLICK M, GLEN RC, BENDER A. From in silico target prediction to multi-target drug design: Current databases, methods and applications. *J Proteom* 74(12): 2554-2574, 2011.
 23. KRYGER G, SILMAN I, SUSSMAN JL. Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept): implications for the design of new anti-Alzheimer drugs. *Structure* 7(3): 297-307, 1999.
 24. LOPES JPB, DA COSTA JS, CESCHI MA, GONÇALVES CAS, KONRATH EL, KARL ALM, GUEDES IA, DARDENNE LE. Chiral Bistacrine Analogues: Synthesis, Cholinesterase Inhibitory Activity and a Molecular Modeling Approach. *J Braz Chem Soc* 28(11): 2218-2228, 2017.
 25. LUSHINGTON GH, GUO J, HURLEY MM. *Acetylcholinesterase Revisited: Molecular Modeling with the Whole Toolkit*. In: ATTA-UR-RAHMAN, REITZ AB, CHOUDHARY MI, KORDIK CP. *Frontiers in Medicinal Chemistry*, vol.5, Amsterdam: Bentham Science Publishers, 2010, p.423-456.
 26. MEENA VK, CHATURVEDI S, SHARMA R, MISHRA AK, HAZARI PP. Potent Acetylcholinesterase Selective and Reversible Homodimeric Agent Based on Tacrine for Theranostics. *Mol Pharm* 16(6): 2296-2308, 2019.
 27. MILELLI A, DE SIMONE A, TICCHI N, CHEN HH, BETARI N, ANDRISANO V,

- TUMIATTI V. Tacrine-based Multifunctional Agents in Alzheimer's Disease: An Old Story in Continuous Development. *Curr Med Chem* 24(32): 3522-3546, 2017.
28. MORRIS GM, HUEY R, LINDSTROM W, SANNER M, BELEW RK, GOODSSELL DS, OLSON AJ. AutoDock 4 and AutoDockTools 4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comp Chem* 30(16): 2785-2791, 2009.
29. PANG YP, QUIRAM P, JELACIC T, HONG F, BRIMIJOIN S. Highly Potent, Selective, and Low Cost Bis-tetrahydroaminacrine Inhibitors of Acetylcholinesterase. *J Biol Chem* 271(39): 23646-23649, 1996.
30. PINTO RS, RODRIGUES-NETO EM, BARROS KBNT, VASCONCELOS LMO, GIRÃO-JUNIOR FJ, LOBO PLD, FONTELES MMF. Doença de Alzheimer: Abordagem farmacoterapêutica. *Bol Inf Geum* 6(1): 16-25, 2015.
31. PRZYBYŁOWSKA M, KOWALSKI S, DZIERZBICKA K, INKIELEWICZ-STEPNIAK I. Therapeutic Potential of Multifunctional Tacrine Analogues. *Curr Neuropharmacol* 17(5): 472-490, 2019.
32. ROCHA GB, FREIRE RO, SIMAS AM, STEWART JJP. RM1: a reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, and I. *J Comput Chem* 27(10): 1101-1111, 2006.
33. RODRÍGUEZ-FRANCO MI, FERNÁNDEZ-BACHILLER MI, PÉREZ C, CASTRO A, MARTÍNEZ A. Design and synthesis of N-benzylpiperidine-purine derivatives as new dual inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase. *Bioorg Med Chem* 13(24): 6795-6802, 2005.
34. RYDBERG EH, BRUMSHTEIN B, GREENBLATT H, WONG DM, SHAYA D, WILLIAMS LD, CARLIER PR, PANG YP, SILMAN I, SUSSMAN JL. Complexes of Alkylene-linked tacrine dimers with *Torpedo californica* acetylcholinesterase: Binding of bis(5)-tacrine produces a dramatic rearrangement in the active-site gorge. *J Med Chem* 49(18): 5491-5500, 2006.
35. SILVA JÚNIOR EGSS, GONCALVES AD SG. Estudo por docagem molecular de inibidores da enzima gsk-3 β : uma proposta para o tratamento do transtorno bipolar. *Revista Ifes Ciência* 5(1): 243-256, 2019.
36. SOARES-BEZERRA RJ, CALHEIROS AS, SILVA FERREIRA NC, FRUTUOSO VS,

- ALVES LA. Natural Products as a Source for New Anti-Inflammatory and Analgesic Compounds through the Inhibition of Purinergic P2X Receptors. *Pharmaceuticals* 6(5): 650-658, 2013.
37. TROTT O, OLSON AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comp Chem* 31(2): 455-461, 2010.
38. TUMIATTI V, MINARINI A, BOLOGNESI ML, MILELLI A, ROSINI M, MELCHIORRE C. Tacrine derivatives and Alzheimer's disease. *Curr Med Chem* 17(17): 1825-1838, 2010.
39. VIEGAS JUNIOR C, BOLZANI VS, FURLAN M, FRAGA CAM, BARREIRO EJ. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento de Alzheimer. *Quim Nova* 27(4): 655-660, 2004.
40. VALE FAC, NETO YC, BERTOLUCCI PHF, MACHADO JCB, SILVA DJ, ALLAM N, BALTHAZAR MLF. Tratamento da Doença de Alzheimer. *Dement Neuropsychol* 5(1): 34-48, 2011.
41. WANG R, LU Y, WANG S. Comparative evaluation of 11 scoring functions for molecular docking. *J Med Chem* 46(12): 2287-2303, 2003.
42. WHALEN K, FINKEL R, PANAVELIL TA. *Farmacologia Ilustrada*, 6.ed, Porto Alegre: Artmed, 2016, 680p.
43. WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dementia. Geneva: WHO, 2019. Available from: <httphttps://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> Accessed on July 10, 2020.
44. WIESNER J, KŘÍŽ Z, KUČA K, JUN D, KOČA J. Acetylcholinesterases - the structural similarities and differences. *J Enzyme Inhib Med Chem* 22(4): 417-424, 2007.