

PUBLICATIO UEPG

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

BIOLOGICAL AND HEALTH SCIENCES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA/PONTA GROSSA STATE UNIVERSITY

REITOR/PRESIDENT

Miguel Sanches Neto

PRÓ-REITOR DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO/DEAN OF RESEARCH AND GRADUATE STUDIES

Giovani Marino Favero

DIRETORIA DE DIVISÃO DE PESQUISA/RESEARCH OFFICE DIRECTOR

Rodrigo Rodrigues Matiello

EDITORA UEPG

UEPG Publishing house

EDITOR/EDITOR

Beatriz Gomes Nadal

ISSN 1676-8485

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PONTA GROSSA STATE UNIVERSITY

PUBLICATIO UEPG

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

BIOLOGICAL AND HEALTH SCIENCES



Copyright by Editora UEPG

Editor da Revista/Editor-in-chief: Marcia Helena Appel

Edição eletrônica/Eletronic editoration: Andressa Marcondes

Corpo de consultores/Editorial board	Francisco Fanucchi Neto (UEPG-PR)	Maria Aparecida Fernandez (UEM-PR)
Airton Vicente Pereira (UEPG-PR)	Gibson Luiz Pilatti (UEPG-PR)	Maria Claudia C. Ruvalo Takasusuki (UEM-PR)
Alessandro Dourado Loguercio (UEPG-PR)	Giovani Marino Fávero (UEPG-PR)	Maria Dagmar da Rocha Gaspar (UEPG-PR)
Alessandro Leite Cavalcanti (UEPB-PB)	Gislaine Denise Czlusniak (UEPG-PR)	Maria de Lourdes A. Massara (UFMG-MG)
Alessandra Reis (UEPG-PR)	Hidevaldo Bueno Machado (UCLA-USA)	Mário Francisco Real Gabrielli (UNESP-SP)
Alberto José Prioli (UEM-PR)	Hilda Ferreira Cardozo (USP-SP)	Maurício Zardo (UEPG-PR)
Ana Maria Gealh (UEPG-PR)	Ivana de Freitas Barbola (UEPG-PR)	Melissa Koch Fernandes de Souza (UEPG-PR)
André Luiz Lux Klein (UNIPAR-PR)	João Carlos Gomes (UEPG-PR)	Nara Helen Campanha (UEPG-PR)
Andrea Maria T. Fortes (UNIOESTE-PR)	João Domingos Rodrigues (UNESP-SP)	Nelson Barros Colauto (UNIPAR-PR)
Andressa Carla Obici (UNIPAR-PR)	João Lucio Azevedo (ESALQ-SP)	Oscar Akio Shibatta (UEL-PR)
Antonio Carlos Frasson (UEPG-PR)	Jocélia Lago Jansen (UEPG-PR)	Osnara Maria Mongruel Gomes (UEPG-PR)
Antônio Edgar Krölling (UEPG-PR)	Jorge Iulek (UEPG-PR)	Ricardo Antunes Azevedo (USP-SP)
Antonio F. Nascimento Jr. (UNIPAR-PR)	José Carlos Pettorossi Imparato (USP-SP)	Ricardo Zanetti Gomes (CESCAGE-PR)
Antonio Lucindo Bengtson (UNIMES-SP)	José Pereti Neto (UEL-PR)	Ricardo Monezi Julião de Oliveira (PUC-SP / UNIFESP)
Armando Carlos Cervi (UFPR-PR)	Leila M.C.de Oliveira (UNIGRANRIO-RJ)	Roberto Ferreira Artoni (UEPG-PR)
Carla Cristine Kanunfre (UEPG-PR)	Luciana Maria Borba (UEPG-PR)	Rosângela Capuano Tardivo (UEPG-PR)
Célia Maria Da Lozzo Lopes (UEPG-PR)	Lúcio Frigo (UNICSUL)	Rosemeri Segecin Moro (UEPG-PR)
Célia Regina Cavichiolo Franco (UFPR-PR)	Luís Antônio Esmerino (UEPG-PR)	Saul Martins de Paiva (UFMG-MG)
Cesar Roberto Busato (UEPG-PR)	Luís Eduardo Aranha Camargo (USP-SP)	Sigmar de Mello Rode (UNESP-SP)
Ciro Cesar Z. Branco (UNICENTRO-PR)	Luiz Alberto Pilatti (UTFPR-PR)	Silvio Issao Myaki (UNESP-SP)
Dalva Cassie Rocha (UEPG-PR)	Luiz Antonio Carlos Bertollo (UFSCar-SP)	Sinvaldo Baglie (UEPG-PR)
Dartagnan Pinto Guedes (UEM-PR)	Luiz Antônio Fávero Filho (UFRB-BA)	Sônia Alvim Veiga Pileggi (UEPG-PR)
Durvanei Augusto Maria (Instituto Butantan)	Luís Francisco A. Alves (UNIOESTE-PR)	Stella Kossatz Pereira (UEPG-PR)
Dorly de Freitas Buchi (UFPR-PR)	Luiz Gonzaga Estes Vieira (IAPAR-PR)	Sueli de Almeida Cardoso (UNIPAR-PR)
Eduardo Campagnoli (UEPG)	Mara Cristina de A. Matiello (UEPG-PR)	Thelma Alvim Veiga Ludwig (UFPR-PR)
Elida Mara Leite Rabelo (UFMG-MG)	Marcia Cançado Figueiredo (UFRGS-RS)	Thereza C. Monteiro de L. Nogueira (UFSC-SC)
Elizabeth Brasil dos Santos (UEPG-PR)	Marcia Helena Baldani Pinto (UEPG-PR)	Ulisses Coelho (UEPG-PR)
Elizabeth Orika Ono (UNESP-SP)	Marcia Regina Paes de Oliveira (UEPG-PR)	Valdir Cechinel Filho (UNIVALI-SC)
Estela Maria Novak (Pró-Sangue / FMUSP)	Marcio Grama Hoepfner (UNIPAR-PR)	Vera Lúcia Bosco (UFSC-SC)
Fábio André dos Santos (UEPG-PR)	Marcos Pileggi (UEPG-PR)	Vitoldo Kozlowski Júnior (UEPG-PR)
Fernando José Zara (UNESP-SP)	Marguerite Germaine Ghislaine (UFPR-PR)	Wellington Luiz de Araújo (UMC-SP)
Francine Lorena Cuquel (UFPR-PR)	Maria Albertina de Miranda Soares (UEPG-PR)	

PUBLICATIO UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde / PUBLICATIO UEPG: Biological and Health Sciences Ponta Grossa: Editora UEPG, 1995-1995/2021, (2)27

semestral

Até v. 8, n. 2, 2002, publicada anualmente.

ISSN 1676-8485 - impresso

ISSN 1809-0273 - versão eletrônica

CCN 095309-1

Os textos publicados na revista são de inteira responsabilidade de seus autores.

REVISTA INDEXADA EM:

GeoDados <<http://geodados.pg.uffpr.edu.br>>

Sumários de Revistas Brasileiras da FUNPEC-RP <www.sumarios.org>

Índices de Revistas Latinoamericanas em Ciências Periódica, da Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM <dgb.unam.mx/periodica.html>

Base de Dados do Acervo de Bibliotecas do Paraná

Sumário / Summary

ANÁLISE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE <i>EUGENIA CATHARINENSIS</i> SOBRE O SNC DE EMBRIÕES DE GALINHA DOMÉSTICA.....	71
ANALYSIS OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF <i>EUGENIA CATHARINENSIS</i> ON THE CNS OF DOMESTIC CHICKEN EMBRYOS	
• Sheila Wayszceyk ¹ , Roberto Plotegher Steiner Santangelo ¹ , João Vitor Muller Fantini ¹ , Renato Vianna Botelho ¹ , Debora Delwing Dal Magro ² , Daniela Delwing de Lima ³ ; Claudia Almeida C Albuquerque ² .	
EDIÇÃO GENÔMICA PELA TÉCNICA CRISPR-CAS9 EM CÉLULAS INFECTADAS PELO VÍRUS HIV: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA NARRATIVA.....	83
GENOMIC EDITING BY THE CRISPR-CAS9 TECHNIQUE IN HIV-INFECTED CELLS: A NARRATIVE LITERATURE REVIEW	
• Iara Dinik Santos Avelar ¹ , André Vessoni Alexandrino ^{1*}	
MERCADO DE TRABALHO DESEJADO POR ACADÊMICOS INGRESSANTES DO CURSO DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA	97
RUNNING HEAD: JOB MARKET DESIRED BY ACADEMICS ENJOYING TO THE PHARMACY COURSE AT THE STATE UNIVERSITY OF PONTA GROSSA	
• Maria Elvira Gonçalves Borges ¹ , Cristina Barger Fadel ¹ , Manoelito Ferreira Silva Junior ^{1*}	
ESTÁGIO NO PROGRAMA O BRASIL CONTA COMIGO DURANTE A PANDEMIA DA COVID-19: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA	111
INTERNSHIP AT THE O <i>BRASIL CONTA COMIGO</i> PROGRAM DURING THE COVID-19 PANDEMIC: NA EXPERIENCE REPORT	
• Larissa Chitz ¹ , Beatriz Essenfelder Borges ^{1*}	
INCIDÊNCIA DE TUBERCULOSE EM TEMPOS DE COVID-19	122
TUBERCULOSIS INCIDENCE IN TIME OF COVID-19	
• Laura Mendes Lopes ¹ , Matheus de Almeida ¹ , Artur Blos Lopes ¹ , Maressa Neves Ayer ¹ , Thelma Skare ¹ , Renato Nisihara ^{1*}	
DL50 DE EXTRATOS VEGETAIS DE <i>EUGENIA CATHARINENSIS</i> EM EMBRIÕES DE <i>GALLUS SP</i>	128
DL50 OF <i>EUGENIA CATHARINENSIS</i> VEGETABLE EXTRACTS IN <i>GALLUS SP</i> EMBRYOS	
• Sheila Wayszceyk ^{1*} ; Debora Delwing Dal Magro ¹ , Micheli Debiasi Alberton ³ ; Claudia Almeida C Albuquerque ² .	

ANÁLISE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *EUGENIA CATHARINENSIS* SOBRE O SNC DE EMBRIÕES DE GALINHA DOMÉSTICA

ANALYSIS OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *EUGENIA CATHARINENSIS* ON THE CNS OF DOMESTIC CHICKEN EMBRYOS

Sheila Wayszceyk¹, Roberto Plotegher Steiner Santangelo¹, João Vitor Muller Fantini¹, Renato Vianna Botelho¹, Debora Delwing Dal Magro², Daniela Delwing de Lima³;
Claudia Almeida C Albuquerque².

¹Departamento de Medicina, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

²Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade da Região de Joinville, Joinville, SC, Brasil.

*Autor Correspondente: Rua Antônio da Veiga, 140, Blumenau, SC, Brasil. CEP 89030-903, Fone (47) 3321-0200, sheilaw@furb.br

RESUMO

As plantas medicinais representam uma opção terapêutica de grande importância para a manutenção das condições de saúde das pessoas, especialmente pela descoberta de novos compostos bioativos, pesquisas científicas e divulgação de propriedades terapêuticas de determinadas plantas medicinais que contribuem fortemente para validar, ou não, o uso popular destas plantas. Gestantes e lactantes constituem um grupo populacional que culturalmente recorre ao uso de plantas medicinais, no entanto as informações sobre a segurança de utilização destes produtos durante a gravidez são escassas. A família *Myrtaceae*, uma das mais importantes da flora brasileira, possui representantes de grande interesse medicinal. Estudos científicos têm demonstrado que espécies da família *Myrtaceae* apresentam propriedades anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, analgésicas, antimicrobianas e antioxidantes, podendo ser utilizadas em gestantes ou não. No presente estudo, buscou-se analisar o extrato hidroalcoólico de *Eugenia catharinensis* em embriões de galinha (*Gallus domesticus*) para a avaliação dos parâmetros bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo e defesas antioxidantes do tecido nervoso. Para esta análise foi utilizado o extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* nas doses (150µg e 450µg) e verificado as dosagens bioquímicas da enzima Glutathione peroxidase (GSH-PX), superóxido dismutase (SOD), o teor de Sulfidrilas e a peroxidação lipídica através do TBARS do encéfalo de embriões de galinha. Diante dos resultados obtidos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as doses administradas nos embriões em E9. Frente aos dados apresentados, pode-se sugerir que o extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* não apresenta toxicidade sobre o desenvolvimento embrionário do SNC de aves.

Palavras-chave: Estresse oxidativo. Tecido nervoso. Extrato. *Myrtaceae*. Desenvolvimento.

ABSTRACT

Medicinal plants represent a therapeutic option of great importance for the maintenance of people's health conditions, especially due to the discovery of new bioactive compounds, scientific

research and the dissemination of therapeutic properties of certain medicinal plants strongly contribute to validating or not the popular use of these plants. Pregnant and lactating women constitute a population group that culturally resorts to the use of medicinal plants. However, information on the safety of using these products during pregnancy is scarce. The *Myrtaceae* family, one of the most important in the Brazilian flora, has representatives of great medicinal interest. Scientific studies have shown that species of the *Myrtaceae* family have anti-hypertensive, anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial and antioxidant properties, and can be used in pregnant women or not. In the present study, we sought to analyze the hydroalcoholic extract of *Eugenia catharinensis* in chicken embryos (*Gallus domesticus*) for the evaluation of biochemical parameters related to oxidative stress and antioxidant defenses in nervous tissue. For this analysis, the hydroalcoholic extract of *E. catharinensis* was used in doses (150µg and 450µg) and the biochemical dosages of the enzyme Glutathione peroxidase (GSH-PX), superoxide dismutase (SOD), the content of Sulfidrilas and the lipid peroxidation were verified through TBARS from the brain of chicken embryos. Given the results obtained, no statistically significant differences were observed between the doses administered to embryos in E9. Based on the data presented, it can be suggested that the hydroalcoholic extract of *E. catharinensis* does not present toxicity on the embryonic development of the CNS of birds.

Keywords: Oxidative stress. Nervous tissue. Extract. *Myrtaceae*. Development.

INTRODUÇÃO

As plantas são capazes de produzir uma grande quantidade de substâncias químicas, apresentando diversas atividades biológicas, sejam elas relacionadas ao seu próprio mecanismo de defesa contra predadores ou no tratamento e prevenção de inúmeras doenças como inflamações, dores ósseas, resfriados, dentre outras (MARTINS; GARLET, 2016; KAUTZKY-WILLER et al., 2019). O uso alternativo de plantas ainda é prática recorrente da população, seja por questões culturais de que sua origem vegetal os isenta de efeitos tóxicos, ou pela facilidade de acesso a estes recursos em detrimento de serviços de saúde (CLARKE; RATES; BRIDI, 2007; BRASILEIRO et al., 2008).

O uso de extratos vegetais é utilizado por grande parte da população, incluindo as gestantes, uma vez que esse conceito representa a isenção desses produtos de apresentarem riscos à saúde de quem os consome (PEREIRA et al., 2007; FRANÇA et al., 2008; FIRMO et al., 2011; BADINELLI, 2014). As alterações fisiológicas e desconfortos que ocorrem durante a gestação são fatores que levam a mulher a utilizar produtos naturais com finalidade preventiva ou terapêutica (PEREIRA et al., 2007; FRANÇA et al., 2008; FIRMO et al., 2011; BADINELLI, 2014).

Os casos clínicos mais recorrentes durante a gestação para a busca da fitoterapia são: enjoos, ansiedade, insônia, constipação intestinal, gripes e até mesmo infecções no trato genital (CLARKE; RATES; BRIDI, 2007). Embora já se tenha evidências científicas que algumas espécies apresentam baixa toxicidade quando consumidas em doses recomendadas durante a gestação, como, por exemplo, o gengibre (*Zingiber officinalis*) e o chá verde (*Cammelia sinnensis*), outras possuem alto risco de intoxicação materna e/ou fetal, como é o caso da camomila (*Matricaria recutita*), hibiscus (*rosa-sinensis*), hortelã (*Mentha piperita* L.) e erva doce (*Pimpinella anisium*) (CHUANG et al., 2007; HOLST et al., 2009; OZGOLI; GOLI; SIMBAR, 2009).

A utilização de chás, garrafadas ou extratos brutos utilizados durante a gestação tem suas restrições, uma vez que devido a variabilidade individual algumas gestantes podem ser mais sensíveis a menores concentrações, ou seja, o grau de toxicidade depende da dosagem e da fisiologia do organismo (VASCONCELOS; VIEIRA; VIEIRA, 2009). O uso de plantas na medicina popular contribui para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, uma vez que seus compostos químicos podem atuar de forma direta ou indireta no organismo, inibindo ou ativando importantes vias metabólicas (FIRMO et al., 2011). Essa característica despertou um crescente interesse pelo uso de extratos vegetais nos cuidados primários à saúde, além de um forte aliado à medicina popular. Entretanto, é de suma importância a caracterização fitoquímica desses vegetais, bem como a verificação dos seus efeitos no organismo, garantindo, deste modo, a segurança do uso (FIRMO et al., 2011).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a toxicidade do extrato hidroalcoólico de *Eugenia catharinensis* em embriões de galinha (*Gallus domesticus*) através dos perfis bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo e defesas antioxidantes do tecido nervoso.

MATERIAIS E MÉTODOS

PREPARAÇÃO DO EXTRATO

Folhas de *Eugenia catharinensis* foram coletados em Blumenau, Santa Catarina, Brasil (26°90'63S, 49°08'01W), em outubro de 2016. O espécime foi identificado pelo Dr. André Luís de Gasper. Uma amostra de voucher desta planta foi depositada no Herbário Dr. Roberto Miguel Klein (FURB, <http://furb.jbrj.gov.br>) sob registro número 14995. As folhas coletadas foram secas em temperatura ambiente e moagem em moinho de faca. A amostra foi macerada em álcool etílico 70% para a obtenção do extrato bruto. O processo de maceração foi realizado por três dias e posteriormente filtrado. Os extratos resultantes das duas macerações foram reunidos e concentrados com um evaporador rotativo sob pressão baixa até a secagem completa.

MODELO BIOLÓGICO E TRATAMENTO

Foram utilizados 60 ovos fertilizados de *Gallus domesticus*, seguindo-se o protocolo de experimentação animal, aprovado pelo Comitê de Ética Comitê de Pesquisa Animal da Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, Brasil, sob o protocolo número 014/2019.

O tratamento *in ovo* foi realizado no dia embrionário (E3- 21HH) e em ambiente asséptico, onde se abriu um orifício na casca do ovo para visualização do embrião. Os ovos embrionados foram divididos em grupos e, com o auxílio de uma pipeta eletrônica, foram tratados com doses do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* (150µg e 450µg) e com 50µg de salina (controle).

Após o tratamento, a abertura foi fechada com filme PVC transparente atóxico e o ovo retornou para a incubadora, onde foi mantido até completar 9 dias (E9 - 32HH) de incubação. O desenvolvimento foi monitorado através da abertura na casca, e as características externas foram avaliadas de acordo com o descrito por Hamburger e Hamilton (1951), cada dia embrionário (DE) correspondendo a 24 h de desenvolvimento.

Após esse período os embriões foram anestesiados e seus encéfalos foram retirados e dissecados, removendo as meninges e mantidos no gelo. Posteriormente os encéfalos foram macerados em tampão fosfato e conduzidos para os ensaios bioquímicos.

ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO ESTRESSE OXIDATIVO

Para análise bioquímica do estresse oxidativo das amostras de encéfalo de embriões de galinha, foram realizados o teste em substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), total de sulfidrilas, ensaio de glutathione peroxidase (GSH-Px), ensaio de superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT).

O teste TBA-RS determina os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico que avalia lipoperoxidação ou danos aos lipídios e foi determinado de acordo com o método descrito por Ohkawa et al. (1979). O teor total de sulfidrilas avalia os danos às proteínas, e a concentração total do grupo tiol foi determinada pelo método de Aksenov e Markesbery (2001).

A glutathione peroxidase é responsável pela decomposição de hidroperóxido e peróxido de hidrogênio, sendo medida nas amostras através do método de Wendel (1981) com o tert-butil-hidroperóxido como substrato.

Para verificar se houve impedimento do acúmulo de peróxido de hidrogênio, foi utilizado o teste de dosagem de catalase. Para isso, utilizou-se a metodologia de Aebi (1984) usando um espectrofotômetro Shimadzu de UV-visível.

O ensaio de superóxido dismutase (SOD) foi usado para avaliar a atividade da proteína em auto oxidar o piragol, que é um substrato para SOD, processo este altamente dependente de superóxido (O_2^-) (MARKLUND, 1985).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes às análises bioquímicas foram expressos em média e erro padrão para cada grupo e analisados no programa estatístico Statistica® versão 6.0 para Windows. Para verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA), $p \leq 0,05$, seguido de teste *post hoc* de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento dos embriões de ave é muito similar ao de mamíferos na sua complexidade morfológica e no curso geral do seu desenvolvimento inicial. Por isso, e por serem mais fáceis de obter e observar, este modelo é um complemento valioso para os estudos da embriologia em mamíferos (WOLPERT et al., 2008).

No dia embrionário (DE3) em que foi realizado o tratamento dos embriões, estes já apresentam 40 pares de somitos, a cabeça está bem desenvolvida, o coração formado e os membros estão começando a se desenvolver (HAMBURGER; HAMILTON, 1993; WOLPERT et al., 2008). O embrião obtém a sua nutrição pelas membranas extraembrionárias, que também fornecem proteção (HAMBURGER; HAMILTON, 1993; WOLPERT et al., 2008).

O acompanhamento, portanto, de alterações neste período de desenvolvimento do embrião de ave, nos remete a uma grande similaridade com outros vertebrados. Este fato nos permite um nível razoável de extrapolação quanto às consequências da exposição aos poluentes observados em

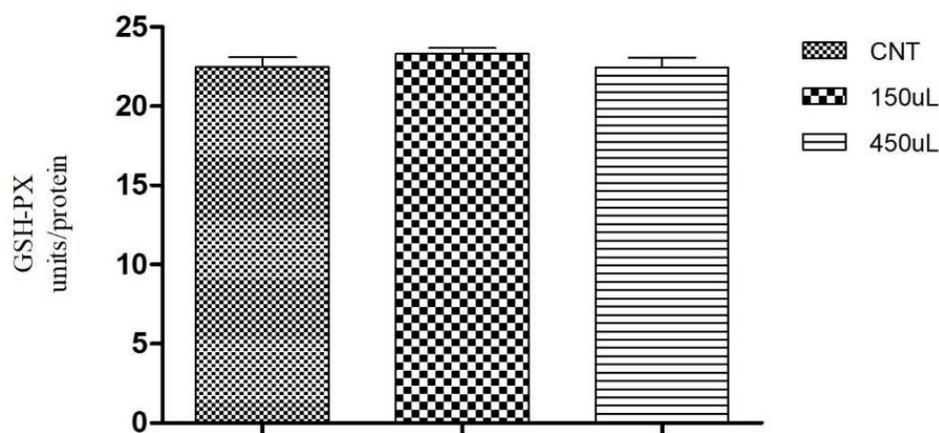
embriões de aves para o embrião humano (STERN, 2005; DE GROEF; GROMMEN; DARRAS, 2008) genetics, virology, cancer, and cell biology. Now, it has become even more powerful thanks to several new technologies: in vivo electroporation (allowing gain- and loss-of-function in vivo in a time- and space-controlled way. O embrião de galinha é considerado um dos modelos experimentais disponíveis mais versáteis para o estudo da biologia do desenvolvimento (DE GROEF; GROMMEN; DARRAS, 2008; KHARAZI et al., 2013). Este modelo contribuiu para os principais conceitos de imunologia (por não ser imunocomprometido), genética, virologia, câncer e biologia celular, e tornou-se ainda mais importante devido às novas tecnologias, como os novos métodos para transgênese e o estudo das células tronco (STERN, 2005; DE GROEF; GROMMEN; DARRAS, 2008; KHARAZI et al., 2013). Além disso, possibilita o estudo do desenvolvimento avançado do sistema nervoso central com mais facilidade do que em modelos mamíferos (ZHENG et al., 2014; GOODFELLOW et al., 2016).

De acordo com os resultados obtidos verificamos que a GSH-PX não sofreu alteração significativa entre as doses administradas nos embriões tratados (Figura 1). A Glutathione peroxidase (GSH-PX) é uma enzima antioxidante que atua sobre vários peróxidos formados nos organismos, esse tipo de enzima é a primeira linha defensiva contra as espécies reativas de oxigênio (TORRES; SOARES; MAIA, 2004).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo organismo ou absorvidos da dieta. De acordo com Halliwell (2000), antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo. Os antioxidantes produzidos pelo organismo agem em duas linhas (JOSÉ C. R. VELLOSA, VANESSA DE F. BARBOSA, 2007). Uma delas atua como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão. Esta linha é constituída por glutathione reduzida (GSH) e pelas enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione-peroxidase (GPx). A outra linha de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida, sendo constituída pela vitamina C, vitamina E, pela glutathione-redutase (GR) e pela glutathione-S-transferase (GST), entre outros (JOSÉ C. R. VELLOSA, VANESSA DE F. BARBOSA, 2007). O aumento na concentração dessas enzimas no encefalo do embrião significaria que o embrião teria aumentado sua expressão enzimática antioxidante para combater a oxidação proporcionada pelo tratamento, assim como a diminuição na concentração significaria que o tratamento teria efeito antioxidante e diminuiria a expressão enzimática, pois não haveria necessidade de tê-la em quantia elevada (BARBOSA et al., 2010).

A GSH, formada pelos aminoácidos glicina, cisteína e glutamato, é o cofator para a GST (glutathione transferase) e é considerada a principal enzima que desempenha papel fisiológico na iniciação da detoxificação de potenciais agentes alquilantes, incluindo compostos farmacologicamente ativos, gerados intracelularmente ou encontrados na forma de xenobióticos. A capacidade redutora da GSH é determinada pelo grupamento SH, presente na cisteína (LAM; SPARNINS; WATTENBERG, 1982). A reação de conjugação do grupo sulfidrílico da glutathione com grupos eletrofílicos de compostos xenobióticos, catalisada pela GST, torna os produtos da reação menos tóxicos e mais solúveis em água, facilitando a excreção (LAM; SPARNINS; WATTENBERG, 1982; B.WHEATLEY et al., 1994).

Figura 1 - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre a atividade do GSH-Px do encéfalo de embriões de galinha E9.



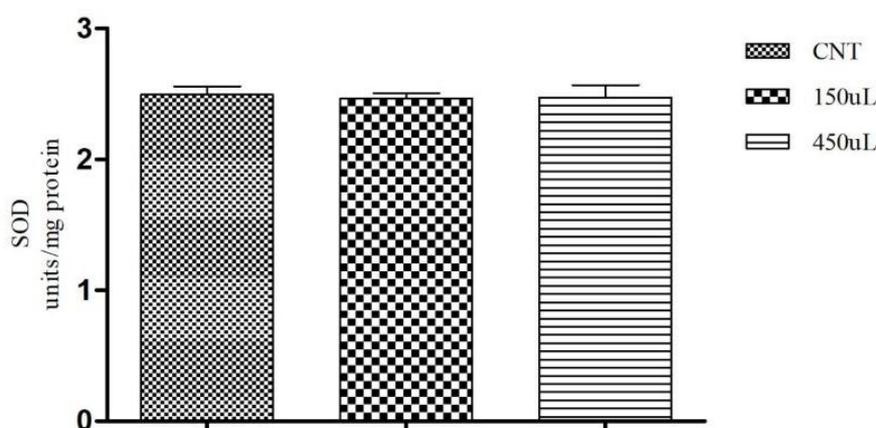
Fonte: Compilação dos autores.

Assim como a Glutathiona Peroxidase, o sistema de defesa enzimático inclui também as enzimas Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (CAT), que agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-radicaais envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, consequentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

A Figura 2 mostra que não foram observadas alterações significativas na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nas diferentes concentrações das doses de tratamento sobre o encéfalo de embriões.

A atividade das enzimas muitas vezes depende da participação de cofatores enzimáticos, especialmente antioxidantes de origem dietética. Tais cofatores podem diferir de acordo com os compartimentos celulares de ação das enzimas (GREEN; BRAND; MURPHY, 2003). A SOD pode ser encontrada sob duas formas: no citoplasma – dependente de cobre e zinco (SOD-Cu/Zn) – e na mitocôndria – necessita do manganês como cofator (SOD-Mn). A GPx também existe sob duas formas: dependente e independente de selênio, e pode apresentar-se no citoplasma ou na mitocôndria (GREEN; BRAND; MURPHY, 2003).

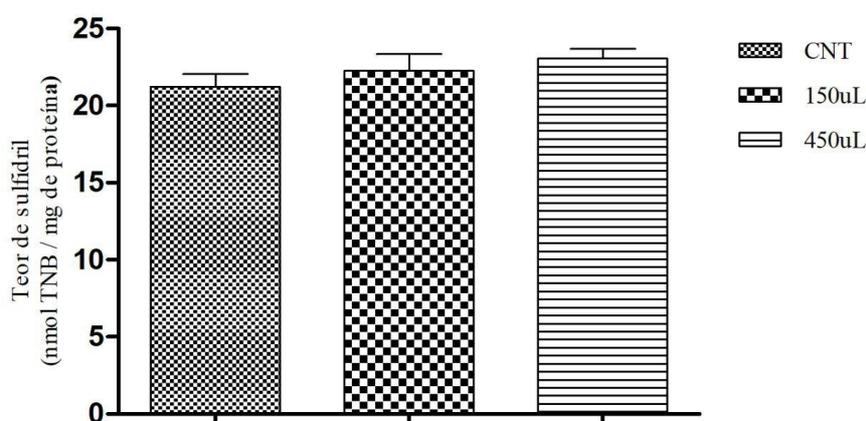
Figura 2 - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre a atividade da SOD do encéfalo de embriões de galinha E9.



Fonte: Compilação dos autores.

As sulfidrilas (-SH) são consideradas os maiores e mais frequentes antioxidantes no plasma. O aumento dos teores de sulfidril pode indicar uma necessidade em reduzir um possível efeito oxidativo. Os encéfalos apresentaram uma tendência a um aumento no teor de sulfidril na maior dose, mas não foi estatisticamente significativo (Figura 3). A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo celular, produzindo radicais livres de forma natural ou por uma disfunção biológica (BARREIROS; DAVID, 2006). O tecido nervoso, devido ao seu elevado metabolismo, gera EROs. Em embriões a produção é ainda mais elevada. No organismo, as EROs estão envolvidas na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular, imunidade e defesa celular e síntese de substâncias biológicas, entretanto, quando em excesso, apresentam efeitos prejudiciais, como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (BARREIROS; DAVID, 2006; CELI, 2010).

Figura 3 - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre o teor de sulfidril no encéfalo de embriões de galinha E9.

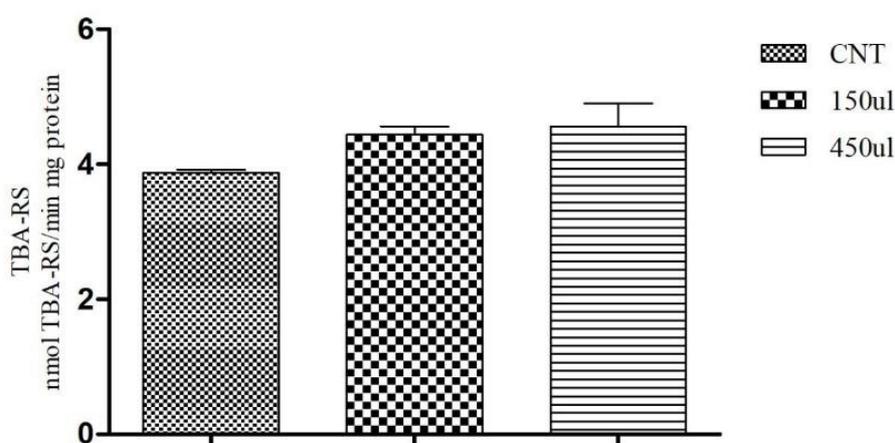


Fonte: Compilação dos autores.

Diante do tratamento, pode-se avaliar a peroxidação lipídica através do ensaio de TBARS. O extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* provocou aumento na concentração de TBARS na maior dose de tratamento (Figura 4).

O extrato atua como um gerador de espécies reativas de oxigênio (EROs), podendo agir sobre qualquer componente celular. Entretanto, as membranas são os componentes mais atingidos, acarretando em alterações na sua estrutura e permeabilidade, podendo levar a perda de seletividade e liberação do conteúdo de organelas à formação de produtos citotóxicos, inclusive resultando na morte celular (DE OLIVEIRA et al., 2009).

Figura 4 - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre a concentração de TBARS no encéfalo de embriões de galinha E9.



Fonte: Compilação dos autores.

O encéfalo é uma estrutura altamente sensível a danos oxidativos por ser rico em material lipídico, como ácidos graxos poli-insaturados e catecolaminas, e por consumir uma quantidade significativa de oxigênio, mas é relativamente deficiente em defesas antioxidantes (ZHAO; LI; MAIESE, 2005).

Ao se tratar de embrião estamos também aumentando as chances de alterações morfofisiológicas provocadas pelo estresse oxidativo, que pode levar a célula à morte ou a distúrbios no processo de proliferação celular.

Além do sistema de defesa enzimático do SNC, há uma série de mecanismos de barreiras que iniciam seu desenvolvimento precocemente no embrião e feto de mamíferos e aves, como junções anatomicamente restritivas que estão presentes em vários locais e vários mecanismos de desintoxicação (STOLP et al., 2011). Existem alguns aspectos de desenvolvimento que provavelmente fazem o cérebro em crescimento mais suscetível a toxinas do que o adulto (STOLP et al., 2011). Em primeiro lugar, o desenvolvimento de neurônios e células gliais passam por um intrincado processo de maturação e isso ainda não foi totalmente compreendido (STOLP et al., 2011). Durante este processo, os neurônios migram ao longo de diferentes locais no cérebro para subsequentemente formarem redes neurais muito complexas (STOLP et al., 2011). A maturação da rede neural não depende apenas do neurônio, mas, em vez disso, envolve a comunicação célula-célula com a glia circundante. Se qualquer um desses processos são perturbados durante o desenvolvimento, isso pode ter efeitos de longo prazo na função cerebral (STOLP et al., 2011).

CONCLUSÃO

Levando em consideração que as espécies reativas de oxigênio são capazes de oxidar diferentes moléculas, como lipídios, proteínas, açúcares e DNA, acarretando morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007), sugerimos que o extrato de *Eugenia catharinensis* administrado não provocou estresse oxidativo no tecido nervoso dos embriões de galinha analisados.

Neste contexto, sugere-se mais estudos acerca dos seus efeitos farmacológicos em embriões e em modelos adultos.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in Vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, n. C, p. 121–126, 1984. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6727660/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.
- AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, n. 2–3, p. 141–145, 2001. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11290407/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.
- B.WHEATLEY, J. et al. Examination of glutathione S-transferase isoenzyme profiles in human liver using high-performance affinity chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 663, n. 1, p. 53–63, 1994. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8180656/>>. Acesso em: 17 jun. 2021.
- BADINELLI, I. F. **Saúde, Doença no Brasil Colonial: Práticas de cura e o uso de plantas medicinais no Tratado Erário Mineral de Luís Gomes Ferreira (1735)**. 2014. Universidade Federal de Santa Catarina, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/127486>>. Acesso em: 12 jun. 2021.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rn/a/Fvg4wkYjZPgFs95f4chVjx/?lang=pt>>. Acesso em: 21 set. 2021.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/Vol29No1_113_20-DV04221.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2021.
- BRASILEIRO, B. G. et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”, Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, p. 629–636, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbca/a/TwBRyGvxZsHRXKvSBgdBYPc/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 19 jun. 2021.
- CELI, P. The role of oxidative stress in small ruminants' health and production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. SUPPL. 1, p. 348–363, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbz/a/TgwKZ3n3tyNtBFVKSkGC3ms/abstract/?lang=en>>. Acesso em: 16 jun. 2021.
- CHUANG, C.-H. et al. Chinese herbal medicines used in pregnancy: a population-based survey in Taiwan. **Pharmacoepidemiology and drug safety**, v. 16, p. 228–228, 2007. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/17063532>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

CLARKE, J. H. R.; RATES, S. M. K.; BRIDI, R. Um alerta sobre o uso de produtos de origem vegetal na gravidez. **Infarma**, v. 19, p. 41–48, 2007. Disponível em: <<http://revistas.cff.org.br/infarma/article/view/223>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

DE GROEF, B.; GROMMEN, S. V. H.; DARRAS, V. M. The chicken embryo as a model for developmental endocrinology: development of the thyrotropic, corticotropic, and somatotropic axes. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 293, n. 1–2, p. 17–24, 2008. Disponível em: <<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00532035/document>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

DE OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/D7W5ZmntbhMyt5G9FNwvpLr/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

FIRMO, W. da C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, n. Especial, p. 90–95, 2011. Disponível em: <<http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/746>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

FRANÇA, I. S. X. de et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201–208, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/reben/a/dYkMVhNDT7ydC55WTzknHxs/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 13 jun. 2021.

GOODFELLOW, F. T. et al. Zika virus induced mortality and microcephaly in chicken embryos. **Stem Cells and Development**, v. 25, n. 22, p. 1691–1697, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27627457/>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, v. 53, n. February, p. 1–9, 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14749275/>>. Acesso em: 17 jun. 2021.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, p. 136–147, 2000. Disponível em: <<https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06182.x?sid=nlm%3Apubmed>>. Acesso em: 21 set. 2021.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. [s.l.] Oxford, 2007.

HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. A series of normal stages in the development of the chick embryo. **Journal of morphology**, v. 88, n. 1, p. 231–272, 1993. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1304821/>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

HOLST, L. et al. The use and the user of herbal remedies during pregnancy. **Journal Of Alternative And Complementary Medicine**, v. 15, n. 7, p. 787–792, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19538045/>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

JOSÉ C. R. VELLOSA, VANESSA DE F. BARBOSA, O. M. M. de F. O. Pesquisa De Produtos Naturais : Plantas E Radicais Livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. IV, n. 2, p. 119–130, 2007. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/REF/article/download/3026/3048/12160#:~:text=A pesquisa de produtos naturais,torna-se de grande importância.>>. Acesso em: 21 set. 2021.

KAUTZKY-WILLER, A. et al. Uso de plantas medicinais para o tratamento do Diabetes Mellitus no Vale do Paraíba-SP. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 4, p. 10–20, 2019. Disponível em: <<https://www.revistaeletronicafunvic.org/index.php/c14ffd10/article/view/84/73>>. Acesso em: 21 set. 2021.

- KHARAZI, A. et al. Chicken embryonic brain: An in vivo model for verifying neural stem cell potency. **Journal of Neurosurgery**, v. 119, n. 2, p. 512–519, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23451907/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.
- LAM, L. K. T.; SPARNINS, V. L.; WATTENBERG, L. W. Isolation and identification of kahweol palmitate and cafestol palmitate as active constituents of green coffee beans that enhance glutathione s-transferase activity in the mouse. **Cancer Research**, v. 42, n. 4, p. 1193, 1982. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7059995/>>. Acesso em: 18 jun. 2021.
- MARKLUND, S. L. **Pyrogallol Autoxidation**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 1985. Disponível em: <<https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781351072922-50/pyrogallol-autoxidation-stefan-marklund>>. Acesso em: 8 jun. 2021.
- MARTINS, M. C.; GARLET, T. M. B. Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 438, 2016. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/583e/acee0a837d16464ac1b5c756bc1ee00de248.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2021.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003269779907383>>. Acesso em: 7 jun. 2021.
- OZGOLI, G.; GOLI, M.; SIMBAR, M. Effects of ginger capsules on pregnancy, nausea, and vomiting. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 15, n. 3, p. 243–246, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19250006/>>. Acesso em: 14 jun. 2021.
- PEREIRA, M. C. L. et al. Estratégias para neurorestauração em modelos experimentais de doença de Parkinson. **Einstein**, v. 5, n. 4, p. 387–391, 2007. Disponível em: <[http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/808-Einstein_P1_Vol5N4_Miolo_Pag.387 a 391.pdf](http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/808-Einstein_P1_Vol5N4_Miolo_Pag.387%20a%20391.pdf)>. Acesso em: 20 set. 2021.
- SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308–313, 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbme/a/wwCFLrKpJhzX8fyYQG7zw5b/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 17 jun. 2021.
- STERN, C. D. The Chick: A Great Model System Becomes Even Greater. **Developmental Cell**, v. 8, n. 1, p. 9–17, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21547250/>>. Acesso em: 18 jun. 2021.
- STOLP, H. B. et al. Effects of neonatal systemic inflammation on blood-brain barrier permeability and behaviour in juvenile and adult rats. **Cardiovascular Psychiatry and Neurology**, v. 2011, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21547250/>>. Acesso em: 21 jun. 2021.
- TORRES, M. C. L.; SOARES, N. de F. F.; MAIA, J. F. Parâmetros cinéticos da Glutathione S-Transferase e sua ativação por extratos de vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 243–248, 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/SwxGqzmzNLVHMPcqJ53LhvNB/?lang=pt>>. Acesso em: 19 jun. 2021.
- VASCONCELOS, J.; VIEIRA, J. G. de P.; VIEIRA, E. P. de P. Plantas tóxicas: conhecer para prevenir. **Revista Científica da UFPA**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2009. Disponível em: <[http://www.gege.agrarias.ufpr.br/plantastoxicass/textos/euphorbia millii.pdf](http://www.gege.agrarias.ufpr.br/plantastoxicass/textos/euphorbia%20millii.pdf)>. Acesso em: 19 jun. 2021.
- WENDEL, A. Glutathione Peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, n. C, p. 325–333, 1981. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7329310/>>. Acesso em: 17 jun. 2021.

WOLPERT, L. et al. **Princípios de Biologia do Desenvolvimento**. 3. ed. [s.l.] Artmed, 2008.

ZHAO, Z. C.; LI, F.; MAIESE, K. Oxidative stress in the brain: Novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease. **Progress in Neurobiology**, v. 75, n. 3, p. 207–246, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15882775/>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

ZHENG, X. B. et al. Halogenated flame retardants during egg formation and chicken embryo development: Maternal transfer, possible biotransformation, and tissue distribution. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 8, p. 1712–1719, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24888473/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

EDIÇÃO GENÔMICA PELA TÉCNICA CRISPR-CAS9 EM CÉLULAS INFECTADAS PELO VÍRUS HIV: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA NARRATIVA

GENOMIC EDITING BY THE CRISPR-CAS9 TECHNIQUE IN HIV-INFECTED CELLS: A NARRATIVE LITERATURE REVIEW

Iara Dinik Santos Avelar¹, André Vessoni Alexandrino^{1*}

¹Centro Universitário Central Paulista – UNICEP, São Carlos, SP, Brasil.

*Autor correspondente: E-mail: alexandrino@unicep.edu.br Endereço: Rua Miguel Petroni, 5111 - CEP: 13563 470 – São Carlos-SP – Brasil. Telefone: (16) 9 9782-1331

RESUMO

A AIDS é uma doença crônica causada pelo vírus HIV e que compromete o sistema imunológico do hospedeiro, deixando-o vulnerável a infecções oportunistas. As terapias atualmente disponíveis reduzem a carga viral, porém, não são eficazes em eliminar as formas latentes do vírus. Além disso, efeitos adversos e psicossociais têm peso significativo na vida dos usuários. Como medida alternativa, ferramentas moleculares têm sido testadas e desempenham importância na supressão viral. A recente técnica CRISPR-Cas9 foi desenvolvida a partir de um sistema adaptativo de bactérias contra vírus. Fragmentos de material genético exógeno são inseridos no genoma bacteriano e ao serem transcritos, associam-se às proteínas Cas, constituindo um maquinário de clivagem sítio-específica. Neste trabalho de revisão bibliográfica narrativa, descrevemos três mecanismos pelos quais o sistema CRISPR-Cas9 foi utilizado no controle da infecção do HIV através de *knockout* gênico em células infectadas. Uma vez que o vírus é dependente do correceptor CCR5 para interagir com a célula hospedeira, a técnica foi capaz de desencadear mutações no gene CCR5. Outra medida foi a utilização de regiões essenciais para o HIV, promovendo mutações no seu genoma e truncando a expressão de proteínas virais. Além disso, CRISPR-Cas9 foi aplicada como alternativa para reativar as formas latentes pela indução transcricional utilizando sistemas direcionadores de ativadores de transcrição SunTag e SAM. Sendo assim, a utilização da técnica CRISPR-Cas9 permitiu resultados significativos nas aplicações pelas diferentes vias, demonstrando ser uma ferramenta molecular com potencial na erradicação do vírus HIV.

Palavras-chave: edição genômica, AIDS, CCR5, *knockout* gênico.

ABSTRACT

AIDS is a chronic disease caused by the HIV virus that compromises the host's immunological system, leaving it vulnerable to opportunistic infections. Currently available therapies reduce the viral charge, however, they are not effective in eliminating latent forms of the virus. In addition, adverse and psychosocial effects have a significant impact on users' lives. As an alternative measure, molecular tools have been tested and play a key role in viral suppression. The recent CRISPR-Cas9 technique was developed from an adaptative system of bacteria against viruses. Fragments of exogenous genetic material are inserted into the bacterial genome and, when transcribed, associate to Cas proteins constituting a site-specific cleavage machinery. In this narrative bibliographic review, we described three mechanisms by which the CRISPR-Cas9 was

used to control HIV infection through gene knockout in infected cells. Since the virus is dependent on the CCR5 co-receptor to interact with the host cell, the technique can trigger mutations in the CCR5 gene. Another measure was the use of essential regions for HIV, promoting mutations in its genome and truncating the expression of the viral proteins. Furthermore, CRISPR-Cas9 has been applied as an alternative to reactivate latent forms by transcriptional induction using SunTag and SAM transcriptional activator targeting systems. Thus, the use of the CRISPR-Cas9 technique allowed remarkable results in applications through different ways and proving to be a molecular tool with potential for the eradication of the HIV virus.

Keywords: genomic editing; AIDS, CCR5, gene knockout.

INTRODUÇÃO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é uma doença crônica causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) que compromete o sistema imunológico do hospedeiro, deixando-o suscetível a infecções oportunistas. Pelos dados do Programa Conjunto das Nações Unidas (UNAIDS), aproximadamente 38 milhões de pessoas no mundo estão vivendo com HIV. E mesmo com todos os esforços em medidas preventivas e tratamentos disponíveis, no Brasil foram diagnosticados 13.677 novos casos de infecção pelo HIV em 2020 (BRASIL, 2020).

A terapia antirretroviral (TARV) atua inibindo a reprodução do HIV, reduz a mortalidade dos portadores, garante uma melhora no sistema imunológico com relação às outras doenças, trazendo resultados positivos com a baixa disseminação viral para outras pessoas por reduzir a carga viral dos pacientes (SHEHU-XHILAGA *et al.*, 2005). Porém, tal terapia não é eficiente para erradicar a forma latente presente nas células (SAAYMAN *et al.*, 2016), na qual o material genético viral permanece inativo por longos períodos e, eventualmente, readquire a capacidade de voltar a se replicar, formando novas partículas virais que irão infectar outras células. Tais eventos, estimulados por mecanismos que ainda não são totalmente compreendidos, tornam o HIV um agente etiológico de uma doença crônica (XIAO; GUO; CHEN, 2019).

O Brasil disponibiliza acesso gratuito aos medicamentos e, apesar de existirem seis classes de drogas para o tratamento da infecção do vírus HIV, seu uso é complexo e traz impactos à vida dos pacientes (SEIDL *et al.*, 2007). Dentre os efeitos adversos, foram relatados casos de hipersensibilidade, acidose láctica e insuficiência renal aguda (TAN; WALMSLEY, 2013).

Identificado pela primeira vez em 1987 (ISHINO *et al.*, 1987), o *locus* CRISPR (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas, do inglês *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), associado à endonuclease de corte duplo Cas9, tornou-se uma ferramenta de edição genética com diversas potencialidades e aplicações (HATOUM-ASLAN; MARRAFFINI, 2014). Após estudos sobre CRISPR, foi descoberto que esse *locus* constitui um mecanismo de defesa de procariotos contra novas invasões de um mesmo material genético exógeno, servindo como memória adaptativa (MOJICA; GARCÍA-MARTÍNEZ; SORIA, 2005; WEISS; SAMPSON, 2014), semelhante à capacidade que células humanas têm de reconhecer patógenos após contato prévio e combatê-los através da imunidade adaptativa por meio de anticorpos. A versatilidade desse mecanismo torna possível o combate ao vírus HIV através da utilização de RNAs-guias para localizar o genoma viral de forma sítio-específica silenciando genes (KAMINSKI *et al.*, 2016) ou bloqueando sua entrada nas células hospedeiras (LI *et al.*, 2015a).

Outras técnicas de edição genética mostraram-se promissoras na terapia contra o HIV, como as nucleases dedo de zinco (do inglês, *zinc finger nucleases*, ZFNs), com sua capacidade de provocar mutação em um local preciso no genoma, conferindo deleção dos genes CCR5 e CXCR4, que são essenciais para a interação do vírus com a célula hospedeira (DIDIGU *et al.*, 2014; TEBAS *et al.*, 2014). Porém, devido aos altos custos, ao tempo necessário e à baixa especificidade desta técnica (KHALILI *et al.*, 2015), CRISPR-Cas9 tornou-se uma alternativa mais flexível, com baixo custo (CONG *et al.*, 2013), baixa frequência de efeitos *off-targets* e eficiência demonstrada em células eucarióticas (CHO *et al.*, 2013), o que incentiva a pesquisa em aprimorar a técnica para uso em humanos. Além disso, a versatilidade da técnica permite sua ampla aplicabilidade pelos pesquisadores, principalmente em vírus com altas taxas de mutações, o que poderia ocasionar falha na supressão viral. Os resultados obtidos por Ebina e colaboradores (2013) na primeira aplicação de CRISPR-Cas9 em infecções por HIV sugerem uma possível ferramenta capaz de eliminar o HIV e, dessa forma, curar a AIDS.

Diante disso, este trabalho compreende uma revisão bibliográfica narrativa acerca dos princípios e aplicações da técnica CRISPR-Cas9 na terapia gênica ao HIV pelas vias de inativação de genes virais, reativação de reservatórios latentes e mutação de receptor CCR5 como alternativas para contornar as limitações das terapias medicamentosas.

METODOLOGIA

Foi realizada revisão bibliográfica narrativa utilizando as bases de dados bibliográficas PubMed e Google Acadêmico com os seguintes descritores: CRISPR, Cas9, HIV, *gene therapy* e Cas9, tendo como critério artigos publicados no período de 1981 a 2020 nos idiomas inglês e português.

Para critério de inclusão, foram selecionados os artigos que continham a utilização de CRISPR para terapia gênica contra o HIV, experimentos em células humanas e análises de resultados com baixos efeitos *off-targets*. Como critérios de exclusão, foram retirados artigos que não englobavam a utilização da enzima Cas9 ou uma das três vias de utilização da técnica CRISPR-Cas9 referenciadas neste trabalho.

VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA – HIV

O HIV é um retrovírus envelopado do gênero *Lentivirus*, com genoma de duas fitas simples de RNA que é reversamente transcrito pela enzima transcriptase reversa em DNA no citoplasma da célula hospedeira (TURNER; SUMMERS, 1999). Seu genoma de aproximadamente 9,8 kb possui terminações repetitivas longas em cada extremidade (do inglês, *Long Terminal Repeats* – LTR). Embora ambas terminações tenham a mesma sequência, a região 5' LTR é essencial para que haja sinais regulatórios de transcrição, importantes para a integração do DNA viral no genoma hospedeiro, formando o DNA pró-viral. A 3' LTR atua na terminação da transcrição e poliadenilação, podendo atuar como promotor quando a integridade de 5' LTR está comprometida (FREED, 2001). Seu genoma é composto por genes responsáveis pela estrutura da partícula viral (*gag*, *pol* e *env*), genes acessórios (*vif*, *vpr* e *nef*) e genes regulatórios (*tat* e *rev*), responsáveis pela integração e manutenção da partícula viral (FANG *et al.*, 2013).

INFECÇÃO PELO VÍRUS HIV

As principais vias de transmissão do HIV são as relações sexuais sem uso de preservativo, o compartilhamento de agulhas e a transmissão vertical. Após a infecção, ocorre a interação entre as glicoproteínas 120 (gp120) e 41 (gp41) do envelope viral com o receptor de superfície CD4 principalmente de linfócitos T, interagindo com os correceptores CCR5 e CXCR4, variando pelo tropismo viral (XIAO; GUO; CHEN, 2019) formando poros de fusão e a liberação do material genético dentro da célula (TURNER; SUMMERS, 1999).

No citoplasma hospedeiro, o RNA viral é reversamente transcrito pela enzima transcriptase reversa na direção 5', sintetizando um DNA complementar ao RNA, movido em seguida para a extremidade 3' para continuar a síntese da fita de DNA, com o segmento híbrido sendo degradado pela enzima RNase H. A fita dupla de DNA termina de ser sintetizada pela transcriptase reversa e segue para o núcleo da célula para ser integrado no genoma celular pela enzima integrase, sendo, então, denominado provírus (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008; FREED, 2001).

Uma vez que a célula é ativada, o provírus será transcrito pela RNA polimerase II da célula infectada, resultando em pré-RNA que serão processados e enviados ao citoplasma para tradução das proteínas necessárias para a montagem de novas partículas virais, seguido do brotamento dessas partículas pela membrana da célula hospedeira para infecção de novas células (FREED, 2001).

Alguns vírus permanecem no interior da célula dentro de vacúolos formando reservatórios virais, os quais estão relacionados com o silenciamento gênico do provírus através de vários mecanismos (RUELAS; GREENE, 2013), podendo voltar a ser transcrito e produzir novas partículas virais (BIALEK *et al.*, 2016), sendo esta a principal dificuldade na terapia contra o HIV (MARTIN; SILICIANO, 2016). (XIAO; GUO; CHEN, 2019)

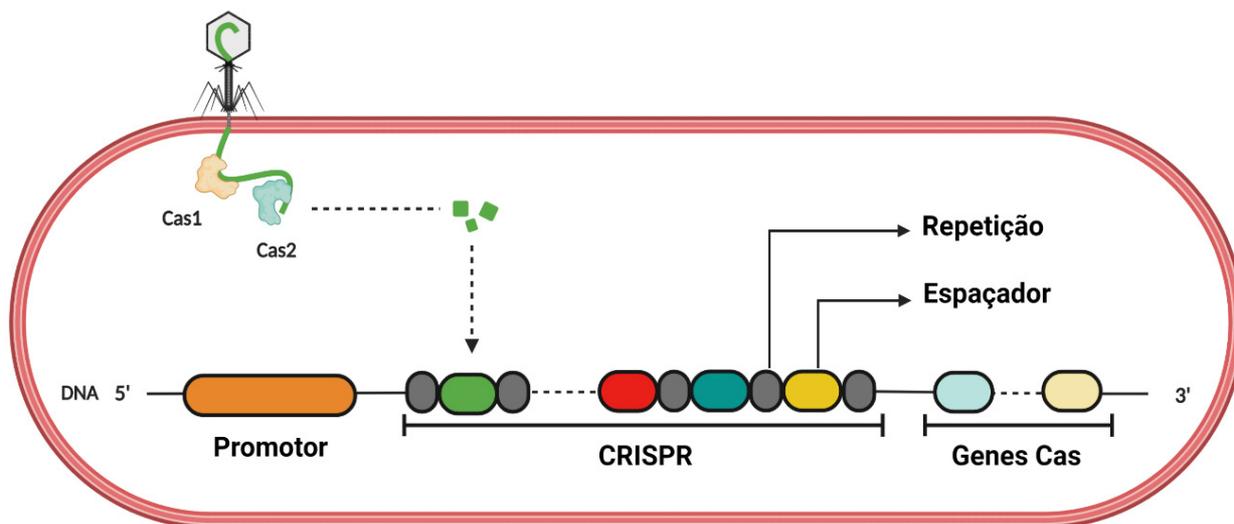
CRISPR-CAS9

CRISPR-Cas é uma maquinaria adaptativa que protege organismos procariotos contra invasões após contato prévio com DNA exógeno (HORVATH; BARRANGOU, 2010). A sigla CRISPR foi atribuída após consenso pela comunidade científica devido às sequências repetidas que possuem sequências espaçadoras intercaladas entre elas (JANSEN *et al.*, 2002). Essas sequências originam RNA-guias (crRNA – CRISPR-derived RNA) que direcionarão o complexo aos alvos específicos homólogos a cada espaçador (MAKAROVA *et al.*, 2011).

Essas sequências espaçadoras são produtos da clivagem do material genético exógeno que foram acrescentados para servir como memória adaptativa (MOJICA; GARCÍA-MARTÍNEZ; SORIA, 2005) (Figura 1), e que serão transcritas em RNAs-guias para localizar o material genético exógeno e destruí-lo. Bolotin *et al.* (2005) descreveram que não havia sucesso na infecção viral em bactérias que possuíam espaçadores compatíveis ao genoma do vírus.

Os genes *Cas* (CRISPR-associated) localizados próximos ao locus CRISPR codificam polimerases, nucleases e helicases que atuarão no genoma-alvo para depois inserir os fragmentos nos espaçadores, favorecendo a resistência em futuras invasões do mesmo material genético (PEREIRA, 2016) (Figura 1).

Figura 1 - Locus CRISPR. Aquisição de novos espaçadores pela atuação das enzimas Cas1 e Cas2 a partir do genoma viral desconhecido. Fonte: Autoria própria (figura criada com www.biorender.com).



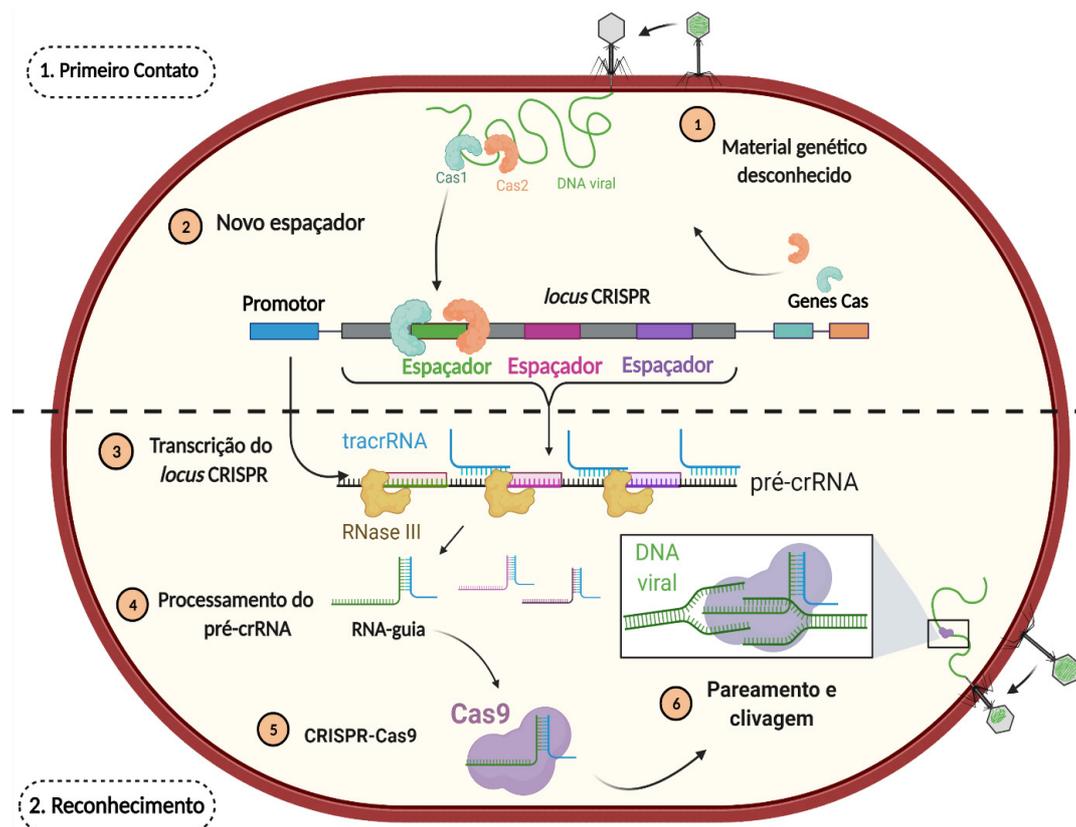
O locus CRISPR pode ter sido transmitido de um ancestral Archaea para o domínio Bacteria horizontalmente (MAKAROVA *et al.*, 2006), e apesar desse sistema não ser totalmente compreendido, CRISPR-Cas9 é uma ferramenta genética promissora que, além de possuir diversas outras aplicações (WRIGHT; NUÑEZ; DOUDNA, 2016), pode ser empregada na terapia contra o HIV pela possibilidade de atuar de forma sítio-específico.

MECANISMOS DE AÇÃO DO SISTEMA CRISPR-CAS9

A enzima Cas9 possui dois lóbulos em sua estrutura, um de reconhecimento (REC) e outro de atividade nucleásica (NUC). No lóbulo NUC estão presentes os domínios de clivagem e interação com PAM (Motivo Adjacente ao Protoespaçador, do inglês “*Protospacer Adjacent Motif*”), uma sequência de poucos nucleotídeos comum em diversos sistemas CRISPR, que auxilia no reconhecimento da Cas9 com o DNA-alvo (JINEK *et al.*, 2012). Devido à especificidade dessa sequência, Kleinstiver *et al.* (2015) estudaram mecanismos de utilizar Cas9 mutantes para serem compatíveis com variações de PAM.

São necessários dois RNAs para que a Cas9 seja ativada e exerça sua função no alvo. Em processos naturais, são necessários um crRNA e um tracrRNA (*trans-activating RNA*) (PEREIRA, 2016). O crRNA é produto dos espaçadores após ser processado e o tracrRNA é um RNA não codificante complementar ao crRNA (ISHINO; KRUPOVIC; FORTERRE, 2018) (Figura 2). Para tornar a técnica de edição mais prática, ambos foram fundidos para formar o sgRNA (RNA-guia) (CONG *et al.*, 2013; HSU; LANDER; ZHANG, 2014; JINEK *et al.*, 2012), testado em procariotos (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014). O sgRNA realiza o direcionamento da Cas9 e a interação com a sequência-alvo a ser clivada através do reconhecimento de PAM (PEREIRA, 2016).

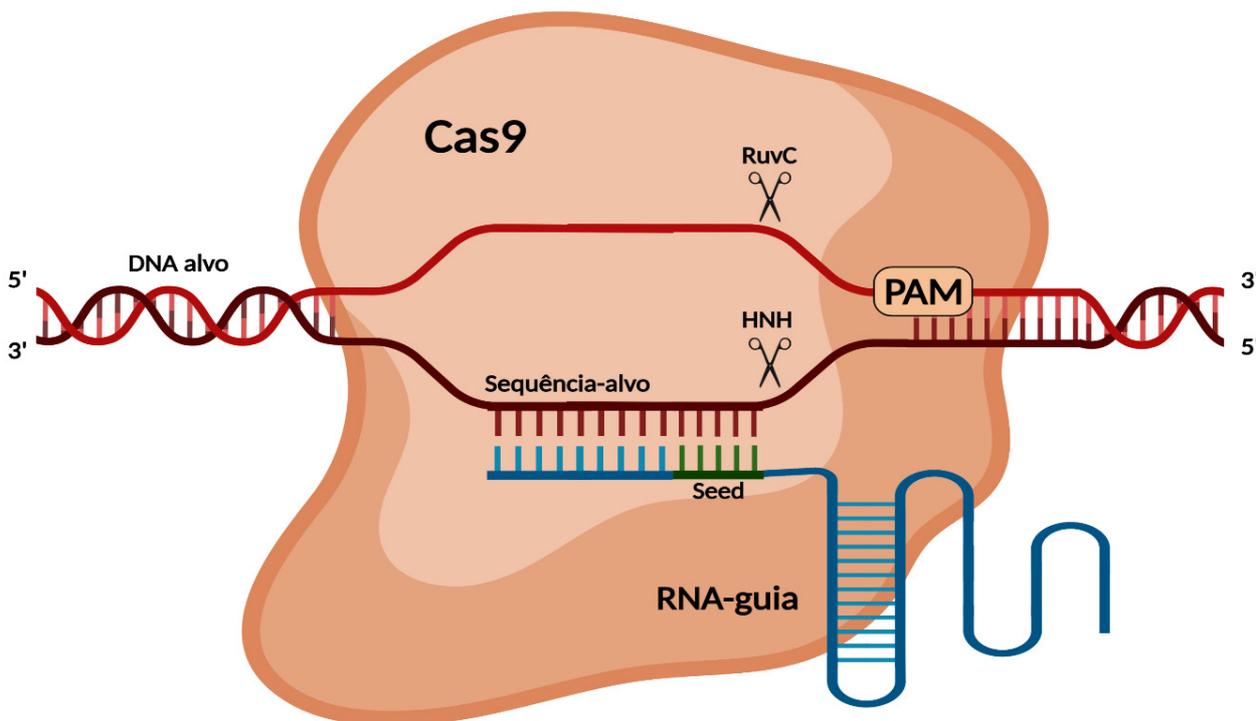
Figura 2 - Mecanismo CRISPR-Cas9. (1) O DNA desconhecido é injetado dentro da célula. (2) Enzimas sintetizadas a partir dos genes Cas realizam a clivagem do DNA e inserem fragmentos no locus CRISPR em forma de um novo espaçador. (3) O locus CRISPR é transcrito em um segmento de RNA (pré-crRNA) constituído de espaçadores e sequências repetidas que, após processamento (4) dará origem ao RNA-guia. (5) A enzima Cas9 é guiada ao DNA viral a partir do RNA-guia correspondente a ele. (6) Após o reconhecimento da sequência específica, a maquinaria CRISPR-Cas9 abre as fitas de DNA e realiza a clivagem do DNA exógeno. Fonte: Adaptado de "CRISPR-Cas9 Adaptive Immune System of *Streptococcus pyogenes* Against Bacteriophages" por BioRender.com (2021). Retirado de <https://app.biorender.com/biorender-templates>



Uma vez que o reconhecimento acontece, uma mudança na conformação de Cas9 faz com que haja interação com o domínio PAM (PEREIRA, 2016) e essa interação causa a separação das duas fitas do DNA-alvo (ANDERS *et al.*, 2014). Com a abertura das fitas, o domínio *seed*, presente na sequência-guia, interage com o sequência-alvo. A atuação de *seed* é essencial para garantir o pareamento entre as sequências (SEMENOVA *et al.*, 2011). Após o pareamento, a maquinaria Cas9 pode clivar as duas fitas do DNA-alvo (Figura 3).

No lóbulo NUC da Cas9, os domínios de clivagem RuvC e HNH, clivam a sequência da fita complementar e a sequência-alvo, respectivamente, formando extremidades abruptas (JINEK *et al.*, 2012), que serão reparadas por mecanismos naturais da célula: Ligação de extremidades não homólogas (do inglês, "Non-homologous end joining" – NHEJ) e reparo dirigido por homologia (do inglês, "Homology directed repair" – HDR). Quando não há homologia entre as pontas, o reparo é feito pelo mecanismo NHEJ que unirá as duas pontas causando mutação de inserção ou deleção de nucleotídeos (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014). Entretanto, se há homologia entre as pontas abruptas, ocorre recombinação homóloga entre extremidades (PEREIRA, 2016).

Figura 3 - Complexo CRISPR-Cas9. Reconhecimento da sequência-alvo por seed e alinhamento com PAM. Fonte: Autoria própria (figura criada com www.biorender.com).



BLOQUEIO DA ENTRADA DO VÍRUS HIV PELA DELEÇÃO DO GENE CCR5

Os correceptores de membrana CCR5 são os principais intermediários que permitem a interação entre o vírus HIV e a célula hospedeira através do receptor CD4 (COCCHI *et al.*, 1995). Os receptores CD4 desempenham importante papel funcional na imunidade, não sendo recomendável sua inativação (XIAO; GUO; CHEN, 2019). A utilização da Cas9 com sgRNA específico na região 3' a jusante do start códon (ATG) do gene CCR5 (NERYS-JUNIOR *et al.*, 2018) causa sua deleção, promovendo resistência às células pelo bloqueio da entrada do vírus (LI *et al.*, 2015b). A mutação natural no gene CCR5 é uma condição autossômica recessiva e estudos mostram que teve origem na Europa, onde há uma frequência de 10 a 20% (LIBERT *et al.*, 1998; NERYS-JUNIOR *et al.*, 2018). Entretanto, indivíduos que possuem a inativação do gene CCR5 podem viver de forma saudável (BITI *et al.*, 1997; SAMSON *et al.*, 1996).

Cho e colaboradores (2013) realizaram experimentos para avaliar a eficiência do sgRNA-Cas9 na inativação do gene CCR5 utilizando uma Cas9 recombinante para clivar uma sequência de 23 pb do gene humano CCR5 em um DNA plasmidial. A presença de um RNA sintético foi essencial para que a clivagem ocorresse, validando o controle com a ausência de clivagem no plasmídeo que não possuía a sequência alvo. Em seguida, foi testada a eficiência da técnica em células humanas HEK 293T com o uso do repórter RFP-GFP, obtendo resultados de expressão de 5% para 7% em três experimentos independentes somente com células que foram transfectadas com RNA quimérico e um plasmídeo que codificava uma Cas9, provando que a técnica é eficaz em células eucarióticas (CHO *et al.*, 2013).

A interrupção de um gene foi testada com o uso de uma endonuclease T7 tipo I que cliva sequências de DNA híbridas do tipo selvagem e mutante e depois foram analisadas por PCR, o que mostrou mutações no alvo. Além disso, indícios de clivagens precisas foram obtidos através de uma reprogramação no complexo sgRNA-Cas9, substituindo o alvo CCR5 para o C4BPB, no qual induções de mutações cromossômicas em células K562 obtiveram frequências de 5% para 33% em três experimentos independentes. Análise de PCR revelou inserções precisas de uma ou duas bases no sítio de clivagem, igualmente as que foram obtidas para o gene CCR5 (CHO *et al.*, 2013).

INATIVAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO HIV

O HIV-1 utiliza a maquinaria celular hospedeira e seus genes regulatórios precisam ser expressos para iniciar seu ciclo. As extremidades LTR são responsáveis por integrar o DNA viral no genoma hospedeiro e regular fatores de transcrição. Apesar da grande diversidade genética do HIV-1 e do fato de que mutações podem causar incompatibilidade com os gRNAs, a técnica de CRISPR-Cas9 está em constante evolução e sequências específicas podem ser desenvolvidas (MALI *et al.*, 2013).

Lebbink e colaboradores (2017) avaliaram a eficácia de CRISPR-Cas9 como ferramenta de edição genética utilizando gRNAs específicos para a região LTR (LTR6), matriz (MA3) e integrase (IN5) expressos em um vetor lentiviral juntamente à Cas9. Células Jurkat foram infectadas com uma linhagem geneticamente modificada do HIV e os vetores contendo os gRNAs LTR6, MA3 e IN5, separadamente. Análises das sequências mostraram eventos de inserções e deleções (*indels*) em frequências de 100% (LTR6), 76% (MA3) e 90.1% (IN5). Em seguida, os autores avaliaram se as mutações no genoma viral seriam eficientes no bloqueio da expressão gênica viral. Para isso, utilizaram a inserção de um gene repórter (GFP) no genoma viral que seria expresso sob estímulos de TNF- α , dois gRNAs, LTR4 e LTR6, para a região LTR (SPI e TAR respectivamente). Sob estímulo de TNF- α , foi observada a reativação de 35% das células infectadas latentes. Com a introdução dos gRNAs específicos para a LTR, houve redução significativa da expressão do GFP em 40% para o LTR4 e 95% para o LTR6, uma potencialização de mais de 98% de redução na combinação de ambos gRNAs.

O uso combinado de gRNA também previne o escape viral, uma vez que foi avaliada a eficiência da utilização separada e combinada de gRNAs (MA3 + PR2, MA3 + IN5 e PR2 + IN5). Os autores observaram que, separadamente, a replicação viral permanecia, uma vez que o reparo celular NHEJ causa mutações e facilita o escape viral. Entretanto, a utilização de duplos gRNAs para diferentes regiões previne o escape e interrompe a replicação viral (LEBBINK *et al.*, 2017).

Outros pesquisadores obtiveram resultados significantes na utilização de gRNAs duplos para supressão de genes do HIV-1 com algo nas regiões U3 e R de LTRs e remoção do genoma viral em linfócitos T CD4 (EBINA *et al.*, 2013; KAMINSKI *et al.*, 2016).

REATIVAÇÃO DOS RESERVATÓRIOS LATENTES DO HIV

A maior barreira para terapia contra o HIV continua sendo os reservatórios dormentes presentes nas células infectadas e que podem perdurar por anos (BRUNER; HOSMANE; SILICIANO, 2015). A ativação dos fatores de transcrição do provírus latente depende de vários mecanismos de indução celular que podem ocorrer de forma espontânea e recomeçar o ciclo reprodutivo viral (BIALEK *et al.*, 2016). A importância de induzir o ciclo viral nas células infectadas com a forma latente é imprescindível para

que as alternativas terapêuticas, imunológicas e medicamentosas alcancem e atuem nas partículas virais produzidas (LEBBINK *et al.*, 2017; XIAO; GUO; CHEN, 2019).

Medicamentos com ativadores dos fatores de transcrição LRAs (do inglês, *Latency Reversing Agents*) não se provaram eficientes em induzir os reservatórios do provírus em simulação *ex vivo* de células T-CD4⁺ (HO *et al.*, 2013), além de provocarem baixa redução dos reservatórios em células diferentes das CD4 (DARCIS *et al.*, 2015). Direcionar ativadores de transcrição diretamente no sítio de interesse pode sobrepular condições epigenéticas que interferem na eficácia de medidas terapêuticas, como os LRAs (BIALEK *et al.*, 2016).

O gRNA possui a capacidade de localizar o sítio-alvo através dos sistemas SunTag e SAM derivados de CRISPR-Cas9 (BIALEK *et al.*, 2016). O sistema SunTag é um complexo formado por uma sequência de peptídeos que se acoplam a uma dCas9 (*dead Cas9*) de atividade catalítica inativada de *Streptococcus pyogenes*, para amplificar sinais de fluorescência e é guiado por um gRNA. Cada peptídeo é reconhecido por um fragmento de anticorpo de cadeia simples scFv (do inglês *single-chain variable fragment*). A dCas9 pode ser fusionada a um tetrâmero da proteína VP16, formando uma VP64, que é um fator de transcrição do *Herpesvirus simplex* tipo 1, com receptor para acoplar o anticorpo GCN4 (BIALEK *et al.*, 2016).

O sistema SAM (do inglês, *Synergistic Activation Mediator*) é formado por uma fusão da dCas9-VP64, um gRNA modificado (mod. gRNA) é capaz de realizar ligação com a proteína de revestimento de bacteriófagos MS2, que pode se ligar às subunidades p65 e HSF1. A junção desses componentes potencializa a ativação transcricional no sítio-alvo (BIALEK *et al.*, 2016).

Os dois sistemas, SunTag e SAM, foram utilizados para realizar induções transcricionais em células com reservatórios e analisar a melhor região do DNA viral para induzir. A sequência U3 da região LTR 5', *loci* de fatores de transcrição viral, seriam os locais de abordagem mais eficiente. Para confirmação, foram utilizados em ambos sistemas nove gRNA desenhados especificamente para LTR 5', dando foco à região U3 (gRNAs 3-8) de células TZM-bl derivadas de HeLa, com HIV-LTR dependente de luciferase (BIALEK *et al.*, 2016). Os resultados mostraram que os dois sistemas reportaram forte expressão gênica nos alvos dos gRNAs 3-6. Porém, SAM mostrou maiores níveis expressos acima do controle negativo (gRNAs 5 e 6). Além disso, os gRNAs 3-6 mostraram que região entre 230 pb e 106 pb a montante do sítio de início de transcrição indica um local eficiente para alvo (BIALEK *et al.*, 2016).

CONCLUSÕES

As medidas terapêuticas disponíveis atualmente para o controle da AIDS possuem limitações devido à impossibilidade de eliminar o vírus HIV e ao impacto na qualidade de vida dos pacientes. O principal obstáculo para a cura da AIDS é a formação dos reservatórios virais que perduram por anos e podem voltar a replicar partículas virais em um ciclo contínuo.

As técnicas moleculares ampliam o alcance no controle de doenças, principalmente as que atuam de forma sítio-específica. CRISPR-Cas9 demonstrou grande efetividade em manipular o genoma viral com baixos efeitos *off-targets*. Pesquisas aqui referenciadas obtiveram êxito em bloquear a entrada do HIV-1 por meio da deleção do correceptor CCR5, que é fundamental para sua interação com a célula hospedeira, interromper a expressão gênica viral pela utilização de gRNA com sequências específicas para regiões que codificam proteínas essenciais e reativar as formas latentes pela utilização de sistemas com ativadores de transcrição.

Embora as aplicações dessa técnica sejam promissoras, é imprescindível discutir a respeito dos aspectos bioéticos relacionados à manipulação de DNA em humanos, mesmo que em prol de benfeitorias. Pesquisas com relatos a longo prazo dos efeitos *off-targets* causados pelas mutações causadas pela técnica são essenciais para a melhor compreensão e aprimoramento da ferramenta molecular. Portanto, os resultados obtidos pelos pesquisadores e descritos neste trabalho são pilares para o desenvolvimento seguro e aplicável da técnica CRISPR-Cas9 em ensaios com humanos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. [s.l.] Elsevier Brasil, 2008.
- ANDERS, C. *et al.* Structural basis of PAM-dependent target DNA recognition by the Cas9 endonuclease. **Nature**, v. 513, n. 7519, p. 569–573, 2014.
- ARGYRIS, E. G.; POMERANTZ, R. J. HIV-1 Vif versus APOBEC3G: newly appreciated warriors in the ancient battle between virus and host. **Trends in microbiology**, v. 12, n. 4, p. 145–148, 2004.
- BARTHOLOMEEUSEN, K. *et al.* Histone deacetylase inhibitors (HDACis) that release the positive transcription elongation factor b (P-TEFb) from its inhibitory complex also activate HIV transcription. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 20, p. 14400–14407, 2013.
- BIALEK, J. K. *et al.* Targeted HIV-1 latency reversal using CRISPR/Cas9-derived transcriptional activator systems. **PLoS one**, v. 11, n. 6, p. e0158294, 2016.
- BITI, R. *et al.* HIV-1 infection in an individual homozygous for the CCR5 deletion allele. **Nature medicine**, v. 3, n. 3, p. 252–253, 1997.
- BOLOTIN, A. *et al.* Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. **Microbiology**, v. 151, n. 8, p. 2551–2561, 2005.
- BOUR, S.; STREBEL, K. The HIV-1 Vpu protein: a multifunctional enhancer of viral particle release. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 11, p. 1029–1039, 2003.
- BRUNER, K. M.; HOSMANE, N. N.; SILICIANO, R. F. Towards an HIV-1 cure: measuring the latent reservoir. **Trends in microbiology**, v. 23, n. 4, p. 192–203, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico de HIV/Aids. Brasília. 2020. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hivaids-2020>. Acesso em: 09 de julho de 2021.
- CHEN, S.; YU, X.; GUO, D. CRISPR-Cas targeting of host genes as an antiviral strategy. **Viruses**, v. 10, n. 1, p. 40, 2018.
- CHO, S. W. *et al.* Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease. **Nature biotechnology**, v. 31, n. 3, p. 230–232, 2013.
- COCCHI, F. *et al.* Identification of RANTES, MIP-1 α , and MIP-1 β as the major HIV-suppressive factors produced by CD8⁺ T cells. **Science**, v. 270, n. 5243, p. 1811–1815, 1995.
- CONG, L. *et al.* Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. **Science**, v. 339, n. 6121, p. 819–823, 2013.

- DARCIS, G. *et al.* An in-depth comparison of latency-reversing agent combinations in various in vitro and ex vivo HIV-1 latency models identified bryostatin-1+ JQ1 and ingenol-B+ JQ1 to potentially reactivate viral gene expression. **PLoS Pathog**, v. 11, n. 7, p. e1005063, 2015.
- DIDIGU, C. A. *et al.* Simultaneous zinc-finger nuclease editing of the HIV coreceptors ccr5 and cxcr4 protects CD4+ T cells from HIV-1 infection. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 123, n. 1, p. 61–69, 2014.
- DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v. 346, n. 6213, 2014.
- DUAN, J. *et al.* Genome-wide identification of CRISPR/Cas9 off-targets in human genome. **Cell research**, v. 24, n. 8, p. 1009–1012, 2014.
- EBINA, H. *et al.* Harnessing the CRISPR/Cas9 system to disrupt latent HIV-1 provirus. **Scientific reports**, v. 3, n. 1, p. 1–7, 2013.
- FANG, X. *et al.* An unusual topological structure of the HIV-1 Rev response element. **Cell**, v. 155, n. 3, p. 594–605, 2013.
- FREED, E. O. HIV-1 gag proteins: diverse functions in the virus life cycle. **Virology**, v. 251, n. 1, p. 1–15, 1998.
- FREED, E. O. HIV-1 replication. **Somatic cell and molecular genetics**, v. 26, n. 1, p. 13–33, 2001.
- FRIEDMAN-KIEN, ALV. E. *et al.* Disseminated Kaposi's sarcoma in homosexual men. **Annals of internal medicine**, v. 96, n. 6, p. 693–700, 1982.
- GALLO, R. C. A reflection on HIV/AIDS research after 25 years. **Retrovirology**, v. 3, n. 1, p. 1–7, 2006.
- GARBIN, C. A. S.; GATTO, R. C. J.; GARBIN, A. J. I. Adesão à terapia antirretroviral em pacientes HIV soropositivos no Brasil: uma revisão da literatura. **Archives of Health Investigation**, v. 6, n. 2, 2017.
- GOTTLIEB, M. S. *et al.* Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 305, n. 24, p. 1425–1431, 1981.
- GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução à Genética**. 11ª ed. [s.l.] Guanabara Koogan, 2019.
- HATOUM-ASLAN, A.; MARRAFFINI, L. A. Impact of CRISPR immunity on the emergence and virulence of bacterial pathogens. **Current opinion in microbiology**, v. 17, p. 82–90, 2014.
- HE, J. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 viral protein R (Vpr) arrests cells in the G2 phase of the cell cycle by inhibiting p34cdc2 activity. **Journal of virology**, v. 69, n. 11, p. 6705–6711, 1995.
- HO, Y.-C. *et al.* Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure. **Cell**, v. 155, n. 3, p. 540–551, 2013.
- HORVATH, P.; BARRANGOU, R. CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. **Science**, v. 327, n. 5962, p. 167–170, 2010.
- HOU, P. *et al.* Genome editing of CXCR4 by CRISPR/cas9 confers cells resistant to HIV-1 infection. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1–12, 2015.
- HSU, P. D.; LANDER, E. S.; ZHANG, F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. **Cell**, v. 157, n. 6, p. 1262–1278, 2014.

- HU, W. *et al.* RNA-directed gene editing specifically eradicates latent and prevents new HIV-1 infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 31, p. 11461–11466, 2014.
- ISHINO, Y. *et al.* Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. **Journal of bacteriology**, v. 169, n. 12, p. 5429–5433, 1987.
- ISHINO, Y.; KRUPOVIC, M.; FORTERRE, P. History of CRISPR-Cas from encounter with a mysterious repeated sequence to genome editing technology. **Journal of bacteriology**, v. 200, n. 7, p. e00580-17, 2018.
- JANSEN, R. *et al.* Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. **Molecular microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1565–1575, 2002.
- JIANG, W.; MARRAFFINI, L. A. CRISPR-Cas: new tools for genetic manipulations from bacterial immunity systems. **Annual review of microbiology**, v. 69, p. 209–228, 2015.
- JINEK, M. *et al.* A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. **science**, v. 337, n. 6096, p. 816–821, 2012.
- KAMINSKI, R. *et al.* Elimination of HIV-1 genomes from human T-lymphoid cells by CRISPR/Cas9 gene editing. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1–15, 2016.
- KANG, H. *et al.* CCR5 disruption in induced pluripotent stem cells using CRISPR/Cas9 provides selective resistance of immune cells to CCR5-tropic HIV-1 virus. **Molecular Therapy-Nucleic Acids**, v. 4, p. e268, 2015.
- KHALILI, K. *et al.* Genome editing strategies: potential tools for eradicating HIV-1/AIDS. **Journal of neurovirology**, v. 21, n. 3, p. 310–321, 2015.
- KLEINSTIVER, B. P. *et al.* Engineered CRISPR-Cas9 nucleases with altered PAM specificities. **Nature**, v. 523, n. 7561, p. 481–485, 2015.
- LEBBINK, R. J. *et al.* A combinational CRISPR/Cas9 gene-editing approach can halt HIV replication and prevent viral escape. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017.
- LI, C. *et al.* Inhibition of HIV-1 infection of primary CD4+ T-cells by gene editing of CCR5 using adenovirus-delivered CRISPR/Cas9. **Journal of General Virology**, v. 96, n. 8, p. 2381–2393, 2015a.
- LI, C. *et al.* Inhibition of HIV-1 infection of primary CD4+ T-cells by gene editing of CCR5 using adenovirus-delivered CRISPR/Cas9. **Journal of General Virology**, v. 96, n. 8, p. 2381–2393, 2015b.
- LIBERT, F. *et al.* The Δ CCR5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. **Human molecular genetics**, v. 7, n. 3, p. 399–406, 1998.
- LIU, Z. *et al.* Genome editing of the HIV co-receptors CCR5 and CXCR4 by CRISPR-Cas9 protects CD4+ T cells from HIV-1 infection. **Cell & bioscience**, v. 7, n. 1, p. 1–15, 2017.
- MAKAROVA, K. S. *et al.* A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action. **Biology direct**, v. 1, n. 1, p. 1–26, 2006.
- MAKAROVA, K. S. *et al.* Unification of Cas protein families and a simple scenario for the origin and evolution of CRISPR-Cas systems. **Biology direct**, v. 6, n. 1, p. 1–27, 2011.

- MALI, P. *et al.* RNA-guided human genome engineering via Cas9. **Science**, v. 339, n. 6121, p. 823–826, 2013.
- MARTIN, A. R.; SILICIANO, R. F. Progress toward HIV eradication: case reports, current efforts, and the challenges associated with cure. **Annual review of medicine**, v. 67, p. 215–228, 2016.
- MATSUI, M. *et al.* Effects of HIV-1 Tat on expression of HLA class I molecules. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 11, n. 3, p. 233–240, 1996.
- MBONYE, U.; KARN, J. The molecular basis for human immunodeficiency virus latency. **Annual review of virology**, v. 4, p. 261–285, 2017.
- MOJICA, F. J. M.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.; SORIA, E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. **Journal of molecular evolution**, v. 60, n. 2, p. 174–182, 2005.
- NERYS-JUNIOR, A. *et al.* Comparison of the editing patterns and editing efficiencies of TALEN and CRISPR-Cas9 when targeting the human CCR5 gene. **Genetics and molecular biology**, v. 41, n. 1, p. 167–179, 2018.
- PEREIRA, T. C. Introdução à técnica de CRISPR. **Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética**, 2016.
- POLZER, S. *et al.* Loss of N-linked glycans in the V3-loop region of gp120 is correlated to an enhanced infectivity of HIV-1. **Glycobiology**, v. 11, n. 1, p. 11–19, 2001.
- QI, C. *et al.* Inducing CCR5 Δ 32/ Δ 32 homozygotes in the human Jurkat CD4+ cell line and primary CD4+ cells by CRISPR-Cas9 genome-editing technology. **Molecular Therapy-Nucleic Acids**, v. 12, p. 267–274, 2018.
- RATHORE, A. *et al.* CRISPR-based gene knockout screens reveal deubiquitinases involved in HIV-1 latency in two Jurkat cell models. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.
- RUELAS, D. S.; GREENE, W. C. An integrated overview of HIV-1 latency. **Cell**, v. 155, n. 3, p. 519–529, 2013.
- SAAYMAN, S. M. *et al.* Potent and targeted activation of latent HIV-1 using the CRISPR/dCas9 activator complex. **Molecular therapy**, v. 24, n. 3, p. 488–498, 2016.
- SAMSON, M. *et al.* Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. **Nature**, v. 382, n. 6593, p. 722–725, 1996.
- SEIDL, E. M. F. *et al.* Pessoas vivendo com HIV/AIDS: variáveis associadas à adesão ao tratamento anti-retroviral. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. 2305–2316, 2007.
- SEMENOVA, E. *et al.* Interference by clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) RNA is governed by a seed sequence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 25, p. 10098–10103, 2011.
- SHARP, P. M. *et al.* The origins of acquired immune deficiency syndrome viruses: where and when? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 356, n. 1410, p. 867–876, 2001.
- SHEHU-XHILAGA, M. *et al.* Antiretroviral compounds: mechanisms underlying failure of HAART to eradicate HIV-1. **Current medicinal chemistry**, v. 12, n. 15, p. 1705–1719, 2005.

- SIEGAL, F. P. *et al.* Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals, manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. **New England Journal of Medicine**, v. 305, n. 24, p. 1439–1444, 1981.
- SYMONS, J.; CAMERON, P. U.; LEWIN, S. R. HIV integration sites and implications for maintenance of the reservoir. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 13, n. 2, p. 152, 2018.
- TAN, D. H. S.; WALMSLEY, S. L. Management of persons infected with human immunodeficiency virus requiring admission to the intensive care unit. **Critical care clinics**, v. 29, n. 3, p. 603–620, 2013.
- TEBAS, P. *et al.* Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. **New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 10, p. 901–910, 2014.
- TURNER, B. G.; SUMMERS, M. F. Structural biology of HIV. **Journal of molecular biology**, v. 285, n. 1, p. 1–32, 1999.
- WANG, G. *et al.* CRISPR-Cas based antiviral strategies against HIV-1. **Virus Research**, v. 244, p. 321–332, 2018.
- WATSON, J. D. *et al.* **Biologia molecular do gene**. [s.l.] Artmed Editora, 2015.
- WEISS, D.; SAMPSON, T. CRISPR-Cas systems: new players in gene regulation and bacterial physiology. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 4, p. 37, 2014.
- WRIGHT, A. V; NUÑEZ, J. K.; DOUDNA, J. A. Biology and applications of CRISPR systems: harnessing nature's toolbox for genome engineering. **Cell**, v. 164, n. 1–2, p. 29–44, 2016.
- XIAO, Q.; GUO, D.; CHEN, S. Application of CRISPR/Cas9-based gene editing in HIV-1/AIDS therapy. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 9, p. 69, 2019.
- YE, L. *et al.* Seamless modification of wild-type induced pluripotent stem cells to the natural CCR5 Δ 32 mutation confers resistance to HIV infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 26, p. 9591–9596, 2014.
- ZHU, W. *et al.* The CRISPR/Cas9 system inactivates latent HIV-1 proviral DNA. **Retrovirology**, v. 12, n. 1, p. 1–7, 2015.

MERCADO DE TRABALHO DESEJADO POR ACADÊMICOS INGRESSANTES DO CURSO DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

RUNNING HEAD: JOB MARKET DESIRED BY ACADEMICS ENJOYING TO THE PHARMACY COURSE AT THE STATE UNIVERSITY OF PONTA GROSSA

Maria Elvira Gonçalves Borges¹, Cristina Barger Fadel¹, Manoelito Ferreira Silva Junior^{1*}

¹ Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Odontologia, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

*Autor correspondente: manoelito_fsjunior@hotmail.com. Endereço: Departamento de Odontologia, Av. Gen. Carlos Cavalcanti, 4748, Ponta Grossa, PR, 84030-900, Brasil. Telefone: (42) 3220-3142

RESUMO

O estudo teve por objetivo analisar os fatores associados ao tipo de mercado de trabalho desejado entre ingressantes do curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa. O estudo observacional, transversal e analítico foi realizado com acadêmicos ingressantes do curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa entre os anos de 2019, 2020 e 2021. A coleta de dados foi realizada por meio de um questionário autoaplicado, em 2019, de forma presencial na própria instituição, e em 2020 e 2021 de forma *on-line*. Do universo total de 132 acadêmicos, 88,6% aceitaram participar da pesquisa. A maior parte dos acadêmicos tinha 18 anos (47,0%), mulher (82,9%), solteiro (99,1%), sem filhos (98,3%), renda familiar entre 3 e 4 salários mínimos (34,2%) e com origem no município de Ponta Grossa - PR (64,1%). O principal motivo para escolha do curso de Farmácia foi pela profissão ter um grande campo de trabalho/atuação (58,1%). O mercado de trabalho público foi o principal tipo de serviço desejado enquanto recém-formado (65,2%) e ao longo da carreira (51,3%), com redução de interesse no serviço público ao longo da carreira profissional ($p = 0,017$). As mulheres apresentaram maior interesse no trabalho definitivo no serviço público ($p = 0,040$). Conclui-se que os ingressantes de farmácia possuem um perfil acadêmico de mulheres jovens. A amplitude do mercado de trabalho foi apontada como a principal motivação de escolha do curso. O interesse em trabalhar no serviço público foi associado às mulheres.

Palavras-chave: Estudantes de farmácia. Mercado de trabalho. Instituições de saúde, recursos humanos e serviços. Instituições de ensino superior.

ABSTRACT

The study aimed to analyze the factors associated with the type of job market desired among newcomers to the Pharmacy course at a public Brazilian university. The observational, cross-sectional, analytical study, with a quantitative approach, was carried out with students entering the Pharmacy course at the State University of Ponta Grossa between 2019, 2020 and 2021. Data were collected through a self-administered questionnaire. In 2019, the collection was carried out in person at the institution. In the years 2020 and 2021, because of unfeasibility, the collection was carried out online through a questionnaire via Google Forms. Of the total universe of 132 students, 88.6% of the students voluntarily agreed to take part in the research. Most were 18 years old (47.0%), female (82.9%), single (99.1%), without children (98.3%), family income between 3

to 4 minimum wages (34.2%) and from the city of Ponta Grossa - PR (64.1%). The main reason for choosing the Pharmacy course was because the profession has an extensive field of work/performance (58.1%). The public labor market was the main type of service desired both as recent graduates (65.2%) and definitively (51.3%), with a reduction in interest in the service definitively ($p=0.017$) and greater interest in women ($p=0.040$). The research showed a profile of young women academics, interested in working in the public service and the breadth of the labor market was identified as the intrinsic motivation for choosing the course.

Keywords: Students, Pharmacy. Labor Market. Health Care Facilities, Manpower, and Services. Higher Education Institutions.

INTRODUÇÃO

No início do século XXI, o setor privado correspondia a mais de 80% dos empregos da profissão farmacêutica (GIRARDI; CARVALHO, 2002), e os dados atuais mostram que o setor público vem crescendo ao longo dos anos, principalmente em decorrência do aumento no número de postos ocupados por farmacêuticos no âmbito do Sistema Único de Saúde, especialmente entre 2007 e 2015 (CARVALHO; LEITE, 2016). Em 2015, os farmacêuticos trabalhavam majoritariamente nos comércios varejistas de medicamentos (farmácias privadas) (58%), seguidos da administração pública, defesa e seguridade social (15%) e em atividades de atenção à saúde humana (15%) (CARVALHO; LEITE, 2016). Essa distribuição heterogênea se dá em razão da própria característica comercial da indústria farmacêutica e, especialmente, das farmácias privadas.

A partir da implantação e ampliação do sistema universal de saúde no Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS), evidenciou-se um descompasso entre o ensino dos cursos da área da saúde e a necessidade de saúde da população (FAÉ *et al.*, 2016). Ao longo do tempo, percebeu-se que o perfil de atuação dos profissionais formados nas faculdades e universidades do país não estava suficientemente adequado para um trabalho na perspectiva da saúde como um produto social e, tampouco, para o cuidado integral e equânime, princípios fundamentais do SUS (FAÉ *et al.*, 2016).

O SUS, do ponto de vista ético-legal, reconhece a formação profissional como fator relevante na construção de um sistema resolutivo. Nesse quesito, a partir de 1996, a mudança nos currículos de graduação tornou-se uma questão importante, dada inicialmente pela Lei de Diretrizes e Bases (LDB) da Educação (Lei nº 9.394/96), que preconizou mudanças no currículo, destituindo o currículo mínimo (BRASIL, 1996). Posteriormente, em 2002, foram criadas as Diretrizes Curriculares Nacionais (DCN) para os cursos de Farmácia (BRASIL, 2002), atualizadas em 2017 (BRASIL, 2017). As DCN estimularam a criação de currículos que pudessem contribuir para a formação de um novo perfil acadêmico e profissional, tornando os profissionais de saúde capazes de atuar com qualidade, eficiência e resolutividade no sistema de saúde vigente (BRASIL, 2002; BRASIL, 2017).

Além do aumento de cargos e vagas, algumas políticas públicas em saúde, como Assistência Farmacêutica, Política Nacional de Medicamentos e Núcleo Ampliado de Saúde da Família (NASF) otimizaram e facilitaram a inserção do farmacêutico no serviço público, possibilitando a esse profissional a participação de maneira efetiva na saúde pública brasileira (MARIN *et al.*, 2003; PEREIRA; FREITAS, 2008; CARVALHO; LEITE, 2016). No entanto, poucos estudos têm explorado as motivações profissionais e pessoais responsáveis pela escolha profissional dedicada à inserção pública.

Diversos aspectos podem influenciar a busca do serviço público como mercado de trabalho pelos farmacêuticos, tais como: vivências acadêmicas práticas no ambiente do SUS, mudança na diversidade sociocultural advindas das políticas indutoras de inclusão social nas universidades públicas, principalmente em cursos tradicionais, como os da área da saúde e boas perspectivas trabalhistas neste setor (HADDAD *et al.*, 2010; CASTELLANOS *et al.*, 2013; FURLANETTO, 2015).

Sendo assim, um estudo com acadêmicos recém-ingressos no curso de graduação pode identificar as perspectivas iniciais de escolha do curso e do mercado de trabalho, baseada no seu conhecimento prévio da área, sem ainda sofrer influência das perspectivas formativas do curso. Nessa perspectiva, o presente estudo teve como objetivo analisar os fatores associados ao tipo de mercado de trabalho desejado entre ingressantes do curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

MÉTODO

DESENHO DO ESTUDO, POPULAÇÃO E ASPECTOS ÉTICOS

O estudo transversal e analítico com abordagem quantitativa foi realizado com a totalidade dos ingressantes do curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Brasil, entre os anos de 2019, 2020 e 2021. O estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa (3.019.438).

CURSO

O curso de bacharelado em Farmácia da UEPG foi iniciado em 1956, e o seu Projeto Pedagógico do Curso (PPC) está na sua quinta versão e em vigência desde o ano de 2005.

Desde 2007, a UEPG conta com sistema de reserva de vagas. Deste modo, a inserção no Curso de Farmácia acontece por meio de vestibular ou Processo Seletivo Simplificado (PSS), sendo ofertadas 45 vagas anualmente, distribuídas da seguinte forma: 3 vagas para negros oriundos de escolas públicas, 14 para alunos oriundos de escolas públicas, 17 para o sistema universal e 11 destinadas ao PSS.

O curso apresenta cinco anos de integralização curricular, em turno integral, com um mínimo de 5.028 horas. Além das disciplinas teóricas, também são ofertadas aos acadêmicos vivências práticas, sendo destas, 850 horas de estágio supervisionado de caráter obrigatório, podendo haver uma maior carga horária caso o acadêmico opte por uma disciplina de diversificação em estágio. Tais práticas podem ocorrer dentro ou fora do âmbito do SUS, sendo desempenhadas sob a supervisão e orientação de professores e um responsável técnico.

Os estágios são realizados em uma Farmácia e um Laboratório Universitário situados dentro da própria instituição. No SUS, de caráter obrigatório, o curso conta com estágios extramuros em unidades básicas de saúde. Também dispõe de estágios de diversificação (optativas) na atenção terciária no ambiente do SUS, que acontecem em uma farmácia hospitalar ou em um laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário. Quanto às disciplinas de diversificação em estágio e estágio em indústria, o critério é do próprio acadêmico escolher o ambiente de atuação, podendo ser tanto no setor público quanto no privado, assim como a escolha da área de interesse também é de autonomia do acadêmico em questão. Desse modo, os estágios têm por objetivo mostrar com integralidade o campo de atuação farmacêutica, ofertando aos acadêmicos a vivência profissional em sua maior amplitude.

CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Os critérios de inclusão do estudo foram: acadêmicos que ingressaram no curso de Farmácia da UEPG em 2019, 2020 e 2021. Os critérios de exclusão foram: ser aluno retido por reprovação em alguma disciplina ou trancamento que signifique não ser ingressante no curso na instituição nos anos da coleta dos dados, ou, ainda, acadêmico transferido de outra instituição.

COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi realizada por meio de um questionário autoaplicado, desenvolvido pelos pesquisadores e validado junto a acadêmicos de outro curso da área da saúde, sob condições similares.

A coleta de dados aconteceu nos dois primeiros meses letivos dos anos de 2019, 2020 e 2021. No ano de 2019, a coleta foi realizada de forma presencial na própria instituição, em sala de aula. Nos anos de 2020 e 2021, devido à imposição de distanciamento social em virtude da pandemia da COVID-19, a coleta de dados foi realizada de forma *on-line* por meio do *Google Forms*.

ANÁLISE DOS DADOS

Os dados quantitativos de 2019 foram tabulados no Excel 2010 (Microsoft) e agrupados à planilha gerada pelo *Google Forms* (2020 e 2021).

A análise descritiva foi realizada por meio de frequências absolutas (n) e relativas (%). A análise de associação foi realizada entre as variáveis dependente (tipo de serviço de interesse como recém-formado e ao longo da carreira) e as variáveis independentes (idade, sexo, renda familiar, tipo de instituição do ensino médio, forma de ingresso no curso superior e tipo de vaga de ingresso concorrida) pelo teste Qui-quadrado ($p < 0,05$). A análise entre o tipo de serviço de interesse como recém-formado e ao longo da carreira foi realizado pelo teste McNemar ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os ingressantes do referido curso de Farmácia no triênio analisado totalizaram 132 acadêmicos, sendo 43 matriculados no ano de 2019, 44 em 2020 e 45 no ano de 2021. Deste total, 117 (88,6%) participaram voluntariamente da pesquisa. Onze (8,4%) acadêmicos optaram por não participar e 4 (3%) tratava-se de acadêmicos desistentes do curso, mas que ainda permaneciam matriculados na instituição.

Entre os participantes, a maior parte tinha 18 anos (47,0%), mulher (82,9%), solteiro (99,1%), sem filho (98,3%), renda familiar entre 3 e 4 salários mínimos (34,2%) e com origem do município de Ponta Grossa - PR (64,1%) (Tabela 1).

Tabela 1 - Características sociodemográficas dos ingressantes no curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil, 2019-2021.

Variável	n	%
Idade (anos)		
17	19	16,2
18	55	47,0
19	26	22,2
20	9	7,7
21	4	3,4
22	1	0,9
25	2	1,7
35	1	0,9
Sexo		
Mulher	97	82,9
Homem	20	17,1
Estado civil		
Solteiro	116	99,1
Divorciado	1	0,9
Filhos		
Não	115	98,3
Sim	2	1,7
Renda familiar		
1 a 2 salários mínimos	36	30,8
3 a 4 salários mínimos	40	34,2
5 a 6 salários mínimos	24	20,5
7 a 8 salários mínimos	6	5,1
Mais de 8 salários mínimos	11	9,4
Cidade de origem		
Carambeí-PR	4	3,4
Castro-PR	8	6,8
Curitiba – PR	1	0,9
Imbituva-PR	1	0,9
Ipiranga-PR	1	0,9
Irati-PR	4	3,4
Itapeva-SP	2	1,7
Itaporanga – SP	1	0,9
Itararé –SP	1	0,9
Jaguariaíva-PR	2	1,7
Laranjeiras do Sul-PR	1	0,9
Palmeira-PR	6	5,1
Piraí do sul-PR	1	0,9
Planalto-PR	1	0,9
Ponta Grossa-PR	75	64,1
Prudentópolis-PR	2	1,7
São José da Boa Vista-PR	1	0,9
São José das Palmeiras – PR	1	0,9
Telêmaco Borba-PR	3	2,6
Tibagi-PR	1	0,9

Os ingressantes, em sua maioria, eram oriundos de instituições de ensino privado (52,1%), não realizaram cursinho pré-vestibular (70,1%) e, entre aqueles que o realizaram, o fizeram no período de um ano (54,3%). O ingresso no curso foi principalmente pelo vestibular (76,9%), em vaga universal (61,5%), sem ter realizado vestibular para outro curso (59,8%) ou outra instituição de ensino (59,0%). Entre os que realizaram vestibular para outro curso, o curso de Medicina foi o principal, e em outra instituição, a Universidade Estadual do Centro Oeste (Unicentro) (Tabela 2).

O principal motivo para escolha do curso de Farmácia foi pela profissão ter um grande campo de trabalho/atuação (58,1%) (Tabela 2).

Tabela 2 - Características acadêmicas dos ingressantes no curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil, 2019-2020.

Variável	n	%
Tipo de Instituição que cursou o ensino médio		
Privada	61	52,1
Pública	55	47,0
Pública e privada	1	0,9
Realizou cursinho pré-vestibular		
Não	82	70,1
Sim	35	29,9
Quanto tempo de cursinho pré-vestibular (n=35)		
6 meses	8	22,9
1 ano	19	54,3
1 ano e meio	1	2,9
2 anos	3	8,6
3 anos	3	8,6
5 anos	1	3,8
Forma de ingresso no ensino superior		
Processo Seletivo Seriado	27	23,1
Vestibular	90	76,9
Vaga concorrida no ensino superior		
Universal	72	61,5
Cota social	40	34,2
Cota social e racial	5	4,3
Realizou vestibular para outro curso		
Não	70	59,8
Sim	47	40,2

continua

conclusão

Variável	n	%
Em qual outro curso realizou vestibular* (n=47)		
Administração	2	4,0
Agronomia	1	2,0
Biomedicina	4	8,0
Ciências Biológicas	4	8,0
Curso de Formação de Oficiais	1	2,0
Enfermagem	2	4,0
Engenharia(s)	4	8,0
Medicina	19	38,0
Direito	1	2,0
Odontologia	9	18,0
Psicologia	1	2,0
Química	2	4,0
Realizou vestibular em outra instituição		
Não	69	59,0
Sim	48	41,0
Qual(ais) instituição realizou vestibular* (n=48)		
IFPR	1	1,5
UEL	3	4,5
UEM	7	10,6
UENP	1	1,5
UFPR	11	16,7
Unesp	1	1,5
Unicentro	16	24,2
Unicesumar	1	1,5
Unioeste	5	7,6
Não informou	20	30,3
Principal motivo para escolha do curso		
Por achar que a profissão tem um grande campo de trabalho/atuação	68	58,1
Por influência de parentes, amigos ou outros	7	6,0
Por que eu gosto de química.	1	0,9
Por questões de realização profissional e pessoal	27	23,1
Por ser da área da saúde e atuar com pacientes	3	2,6
Por ser pública e gratuita	4	3,4
Qualidade da instituição	4	3,4
Referência do Curso	1	0,9
Ter tido experiência positiva na área	1	0,9
Não informou	1	0,9

*Ultrapassa 100,0% por poder responder mais de uma opção.

O curso de pós-graduação de maior interesse entre os ingressantes foi a especialização (83,8%) e capacitação/atualização (61,5%), e o menos desejado o *Master in Business Administration* (MBA) (11,1%) (Figura 1a). Entre os que desejaram realizar pós-graduação, houve uma tendência de realização

imediatamente após formado para as modalidades *lato sensu* (especialização e capacitação/atualização) e mais tardiamente para *stricto sensu* (mestrado e doutorado) (Figura 1b).

Figura 1a - Distribuição do tipo (a) desejada pós-graduação entre os ingressantes no curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, PR, Brasil, 2019-2021.

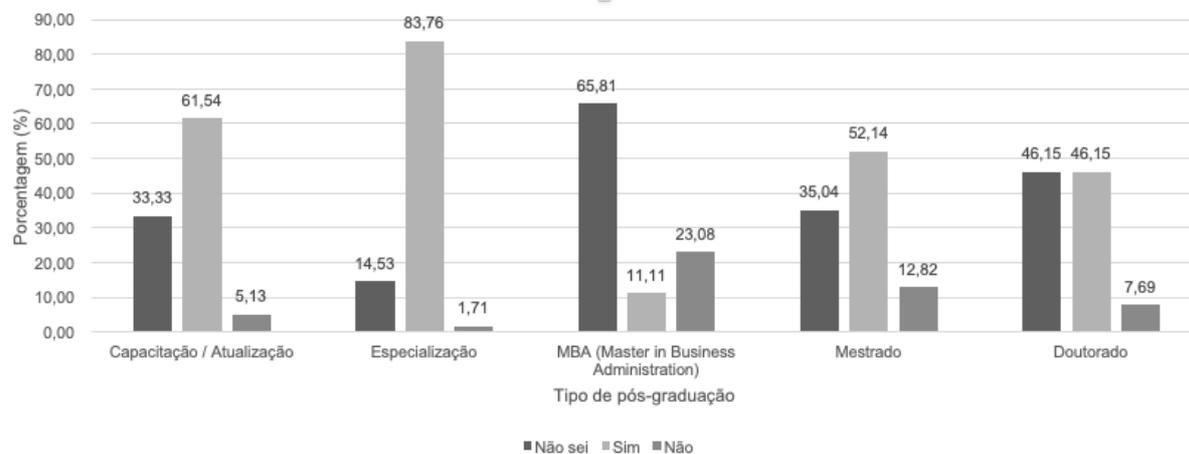
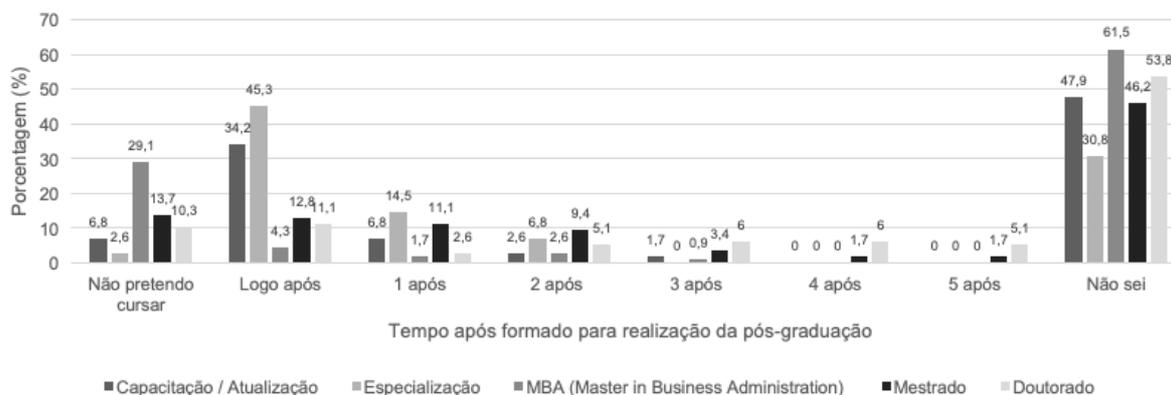
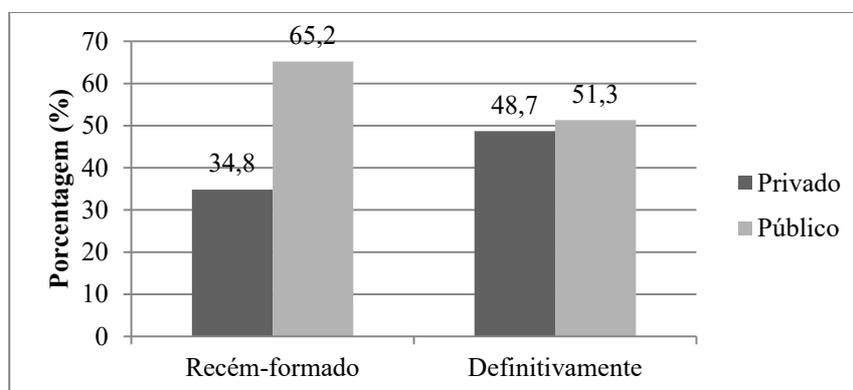


Figura 1b - Distribuição de quando (b) é desejada a pós-graduação entre os ingressantes no curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, PR, Brasil, 2019-2021.



O mercado de trabalho público foi a principal modalidade de serviço desejada entre os ingressantes, tanto enquanto recém-formados (65,2%) quanto ao longo da carreira (51,3%) ($p=0,017$; Teste McNemar) (Figura 2).

Figura 2 - Tipo de mercado de trabalho desejado quando recém-formado e definitivamente entre os ingressantes no curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil, 2019-2021 (n=115).(n=117).



As duas modalidades de serviço destacadas não foram associadas à idade, renda familiar, tipo de instituição do ensino médio, forma e tipo de vaga de ingresso no curso superior ($p > 0,05$). As mulheres apresentaram maior interesse no serviço público ao longo da carreira quando comparadas aos homens ($p = 0,040$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Associação entre fatores sociodemográficos e acadêmicos e tipo de mercado de trabalho desejado, enquanto recém-formado, e definitivamente entre ingressantes no curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil, 2019-2021.

Variáveis	Recém-formado		p-valor**	Definitivamente		p-valor**
	Privado* n (%)	Público n (%)		Privado n (%)	Público n (%)	
Idade (anos) (n=115)						
Até 18	23 (57,5)	50 (66,7)	0,331	36 (63,2)	37 (62,7)	0,960
19 ou +	17 (42,5)	25 (33,3)		21 (36,8)	22 (37,3)	
Sexo (n=115)						
Mulher	31 (77,5)	65 (86,7)	0,207	43 (75,4)	53 (89,8)	0,040
Homem	9 (22,5)	10 (13,3)		14 (24,6)	6 (10,2)	
Renda familiar (Salário Mínimo) (n=115)						
1 a 4	22 (55,0)	54 (72,0)	0,067	35 (61,4)	41 (69,5)	0,360
5 ou +	18 (45,0)	21 (28,0)		22 (38,6)	18 (30,5)	
Tipo de instituição de ensino médio (n=113)						
Privado	21 (52,5)	39 (53,4)	0,925	34 (59,6)	26 (45,6)	0,133
Público	19 (47,5)	34 (46,6)		23 (40,4)	31 (54,4)	
Forma de ingresso no curso superior (n=115)						
PSS	6 (15,0)	20 (26,7)	0,154	13 (22,8)	13 (22,0)	0,920
Vestibular	34 (85,0)	55 (73,3)		44 (77,2)	46 (78,0)	
Tipo de vaga concorrida no curso superior (n=115)						
Universal	24 (60,0)	47 (62,7)	0,779	38 (66,7)	33 (55,9)	0,236
Cotas	16 (40,0)	28 (37,3)		19 (33,3)	26 (44,1)	

*Somadas respostas de serviço privado e autônomo. **Teste qui-quadrado ($p < 0,05$). PSS: Processo Seletivo Seriado. Não totaliza 117 por apresentar dados perdidos.

DISCUSSÃO

Com relação ao perfil sociodemográfico dos ingressantes do presente estudo, a maioria foi de mulheres, o que corrobora os dados de outras pesquisas realizadas com estudantes de Farmácia (WILLIS *et al.*, 2008; CAVALCANTE *et al.*, 2018; ZHANG; BIAN, 2020). Segundo o Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (INEP), o número de mulheres que ingressam em cursos superiores é maior que o número de homens (BRASIL, 2015). Este dado está em consonância com o resultado do presente estudo e reforça o processo de feminilização nos cursos superiores, especialmente nos cursos da área da saúde (CARVALHO; LEITE, 2016; MATOS *et al.*, 2013).

A faixa etária dos acadêmicos variou entre 17 e 35 anos, sendo que a maioria dos estudantes tinha de 17 a 19 anos. Esses dados coincidem com outros estudos que sugerem a graduação em Farmácia mais atrativa para o público jovem (CAVALCANTE *et al.*, 2018; UBAKA *et al.*, 2013; SAVAGE *et al.*, 2009). O grande número de acadêmicos jovens pode estar relacionado com a idade que os estudantes concluem o ensino médio e sua maior chance de ingressar no ensino superior (CAVALCANTE *et al.*, 2018). Muitos autores consideram essa fase como o final da adolescência, propícia à tomada de decisões, quando o jovem se torna legalmente capaz de assumir responsabilidades (WETTERICH; MELO, 2007). Além disso, outro fator que deve ser considerado é a circunstância do curso estar estruturado em período integral, o que não possibilita conciliar trabalho e estudo. Sendo assim, a instituição pública, com cursos da área da saúde em tempo integral, acaba também por apresentar um perfil de acadêmicos que tenham a possibilidade de maior dedicação, como os mais jovens (WETTERICH; MELO, 2007).

No presente estudo, houve uma distribuição semelhante entre a proporção de estudantes oriundos de instituições de ensino médio privadas ou públicas, e apresentou baixo percentual de estudantes que referiram ter estudado em escola pública e privada. Esse resultado não corrobora um estudo realizado na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), que avaliou o acesso de estudantes na universidade pública, indicando que a maior parte era oriunda do ensino público (TREVISOL; NIEROTKA, 2016). Quanto ao ingresso, a maioria ingressou via vestibular e não realizou curso preparatório. Além disso, a predominância da inserção se deu pela concorrência universal, seguida pela cota social e, por fim, cota social e racial. A maior parte afirma não ter realizado vestibular para outro curso, em outra instituição de ensino superior. Com relação aos alunos que realizaram vestibular para outros cursos, a maior parte optou por cursos voltados para área da saúde. Estes dados compactuam com um estudo realizado no Reino Unido com estudantes de Farmácia, em que alguns igualmente citaram o interesse em realizar outros cursos voltados para área da saúde (WILLIS *et al.*, 2009). Essa questão pode levantar a hipótese de que os acadêmicos escolhem o curso pela afinidade ao setor e não necessariamente possuem uma definição concreta de um curso.

Sendo assim, há uma escolha da profissão baseada em diferentes motivações. No presente estudo, a escolha para o curso de Farmácia se deu principalmente pela percepção de que a profissão tem um grande campo de trabalho/atuação. Essa percepção de amplitude do campo de trabalho pelos ingressantes condiz com a realidade, uma vez que, de acordo com o Conselho Federal de Farmácia (CFF), existem aproximadamente mais de 70 áreas de atuação em que o farmacêutico pode atuar (CFF, 2001). Outro motivo da escolha da profissão prevalente foi por questões de realização profissional e pessoal. Esses dados corroboram estudos desenvolvidos em outras universidades, como na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em que foi verificado que 44% dos estudantes escolheram o curso devido à amplitude do mercado de trabalho farmacêutico (CAVALCANTE *et al.*, 2018). Um estudo atual aponta que a autogratificação, ou seja, preocupar-se com seu bem-estar próprio, gera

impactos significativos nas intenções de carreira dos alunos (ZHANG; BIAN, 2020). Por conseguinte, trabalhar com o que se tem habilidade e gosta pode auxiliar na satisfação com o trabalho.

As áreas de maior interesse apontadas pelos acadêmicos foram Análises Clínicas (21,4%), Estética (18,8%), Hospitalar (15,4%), Ciências Forenses (14,5%), Indústria (12%) e Pesquisa (10,3%). Alguns estudos realizados com estudantes de Farmácia em países como China, Nigéria, Reino Unido e Estados Unidos indicaram a predominância do interesse no setor hospitalar (CARVAJAL; HARDIGAN, 1999; WILLIS *et al.*, 2008; UBAKA *et al.*, 2013; ZHANG; BIAN, 2020). No entanto, outro estudo apontou a rede de farmácia varejista como a de maior escolha entre os acadêmicos da instituição *Samford University*, nos Estados Unidos (SAVAGE *et al.*, 2009).

Quanto ao interesse em pós-graduação, e quando realizá-la, a maior parte dos acadêmicos demonstrou interesse em realizar uma especialização logo depois de formado. Um estudo realizado em uma faculdade de Farmácia em Pernambuco mostrou que a maior parte dos alunos iniciava a pós-graduação logo após a finalização do curso (SILVA *et al.*, 2019). Logo, o interesse em realizar a pós-graduação de maneira precoce parece ser ainda mais atrativo. É de grande importância ressaltar a continuidade da vida acadêmica após a conclusão da graduação, sendo esta uma maneira de intensificar os conhecimentos e aplicá-los de maneira eficaz e segura (SILVA *et al.*, 2019).

O presente estudo mostrou que a maioria dos ingressantes demonstrou interesse em trabalhar no serviço público enquanto recém-formado, mas essa perspectiva não se manteve como modalidade de trabalho desejada ao longo da carreira, com redução estatisticamente significativa. Um estudo de 2008, no Reino Unido, com sistema de saúde universal bem mais antigo que o Sistema Único de Saúde do Brasil, também verificou uma maior intenção entre os estudantes de Farmácia em atividades relacionadas à comunidade na fase inicial da carreira quando comparada a intenções futuras, especificamente 10 anos após a inserção no mercado de trabalho (WILLIS *et al.*, 2008).

Embora seja relevante ressaltar que, mesmo sem o suporte formativo para uma formação universitária para o sistema de saúde vigente no Brasil (FAÉ *et al.*, 2016), os acadêmicos ingressantes apresentaram uma visão e perspectiva positiva do setor público, mesmo vislumbrando a princípio como um emprego inicial e temporário. Nesse sentido, para alinhar o interesse demonstrado antes mesmo de conhecer mais profundamente os princípios e diretrizes do sistema público, as instituições de ensino necessitam ter um Projeto Pedagógico do Curso (PPC) que considere e efetive as DCN. Havendo uma efetivação do conhecimento sobre o arcabouço legal do SUS, otimiza-se a empregabilidade e oportunidades futuras, com efetivação no mercado de trabalho a curto e longo prazo, permitindo que o sistema público não seja apenas um local interessante no início da carreira profissional do farmacêutico (VARELA *et al.*, 2016).

No presente estudo, as mulheres apresentaram maior interesse no serviço público durante toda a carreira profissional (definitivamente) quando comparado aos homens. Apesar da literatura ser escassa sobre essa discussão, um estudo com acadêmicos ingressantes de Odontologia da UEPG também verificou o maior interesse no serviço público por mulheres (RUTYNA, 2021). Esse dado levanta a hipótese em relação ao que se tem estabelecido na literatura quanto às práticas de cuidado, as mulheres têm maior frequência no uso de serviços preventivos (GOMES *et al.*, 2007; COSTA-JUNIOR; MAIA, 2009; BOTTON *et al.*, 2017) e têm procurado mais o trabalho no curso da saúde (MATOS *et al.*, 2013), e isso pode fazer com que tenham uma perspectiva de estabilidade e nas práticas de cuidado no SUS uma maior visibilidade de cuidado em saúde. Estudos futuros precisam aprofundar essa discussão.

O interesse no tipo de serviço de interesse não foi associado aos outros fatores sociodemográficos (idade e renda familiar) e acadêmicos (tipo de instituição do ensino médio, forma e tipo de vaga de ingresso no curso superior). No entanto, ressalta-se um resultado limítrofe em relação à renda familiar, com tendência de maior interesse no serviço público entre os ingressantes com menor renda familiar. Destaca-se a limitação do tamanho amostral do estudo. Embora a pesquisa tenha trabalhado com totalidade e não amostra, o quantitativo pode não ter tido poder estatístico suficiente para avaliar as associações.

Dessa forma, o acompanhamento de novas turmas poderá subsidiar uma compreensão maior acerca do fenômeno analisado, e auxiliar na verificação do impacto das políticas sociais indutoras de ingresso nas instituições de ensino superior têm efetivado em maior interesse e valorização da formação voltada para o serviço público de saúde.

CONCLUSÃO

Os acadêmicos ingressantes do curso de Farmácia, em sua maioria, são do sexo feminino, com idade entre 17 e 19 anos, com renda familiar entre 3 e 4 salários mínimos, e ingressaram pelo sistema universal via vestibular. O principal fator motivacional que levou à escolha do curso se dá pela grande amplitude do mercado de trabalho farmacêutico, sendo a maior área de interesse o campo das Análises Clínicas. Ainda foi possível constatar que a maioria dos acadêmicos tem o desejo de realizar pós-graduação logo depois de formados e demonstra interesse em ingressar no serviço público de maneira temporária, sendo que o interesse como serviço ao longo da carreira entre as mulheres é maior quando comparado aos homens.

Frente ao exposto, torna-se evidente a necessidade de as instituições de ensino superior atuarem em concordância com as DCN, as quais determinam a formação farmacêutica humanista, crítica, reflexiva e generalista, buscando formar profissionais com interesse em contribuir continuamente para o sistema de saúde vigente no país.

AGRADECIMENTOS

Programa Bolsa de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

REFERÊNCIAS

BOTTON, A.; CÚNICO, S. D.; STREY, M. N. Diferenças de gênero no acesso aos serviços de saúde: problematizações necessárias. **Mudanças-Psicologia da Saúde**, v. 25, n.1, p. 67-72, 2017.

BRASIL. Lei nº 9.394, de 20 de dezembro de 1996. Estabelece as diretrizes e bases da educação. **Diário Oficial da União**, 23 de dez. 1996, Capítulo IV, p. 20.

BRASIL. Ministério da Educação. CNE Conselho Nacional de Educação. Câmara de Educação Superior. Resolução CNE/CES nº. 2, de 19/02/2002. Institui as Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Farmácia. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 4 mar. 2002. Seção 1, p. 9.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego (MTE). **Bases Estatísticas RAIS e CAGED**, 2015. Disponível em: <http://bi.mte.gov.br/bgcaged/inicial.php>. Acesso em: 15 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Educação. Conselho Nacional de Educação. Câmara de Educação Superior. Resolução CNE/CES nº. 6, de 20/10/2017. Institui as Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Farmácia e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 4 mar. 2017. Seção 1, p. 30.

CARVAJAL, M. J.; HARDIGAN, P. First-job preferences and expectations of pharmacy students: intergender and interethnic comparisons. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 39, n.1, p. 32-40, 1999.

CARVALHO, M.; LEITE, S. Farmacêutico no mercado de trabalho farmacêutico no Brasil. **Escola Nacional dos Farmacêuticos**, v. 1, n. 1, p. 1-32, 2016.

CASTELLANOS, M. E. P. *et al.* Estudantes de graduação em saúde coletiva: perfil sociodemográfico e motivações. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 6, p. 1657-1666, 2013.

CAVALCANTE, J.A.G.; BATISTA, L.M.; SERRANO, R.M.S.M. Perfil Sócio-demográfico e Motivacional de Ingresso dos estudantes do curso de Farmácia da Universidade Federal da Paraíba do ano de 2014 a 2017. **Anais Eletrônicos da Revista Interdisciplinar de Ciências Médicas**, 2018. Disponível em: <https://docplayer.com.br/128216019-Perfil-sociodemografico-e-motivacional-de-ingresso-dos-estudantes-do-curso-de-farmacologia-da-universidade-federal-da-paraiba-do-ano-de-2014-a-2017.html>. Acesso em: 15 nov. 2021.

CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA. **A Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica**. Brasília: Conselho Federal de Farmácia, 2001.

COSTA-JÚNIOR, F. M. da; MAIA, A. C. B. Concepções de homens hospitalizados sobre a relação entre gênero e saúde. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 25, n. 1, p. 55-63, 2009.

SILVA, E. M. *et al.* Perfil dos egressos de Farmácia de uma Faculdade de Saúde. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 31, n. 4, p. 259-270, 2019.

FAE, J. M.; SILVA-JUNIOR, M.F.; CARVALHO, R. B.; ESPOSTI, C. D. D.; PACHECO, K. T. S. A integração ensino-serviço em Odontologia no Brasil. **Revista ABENO**, v. 16, n. 3, p. 7-18, 2016.

FURLANETTO, D. L. C. **Políticas indutoras (pró-saúde) e a reorientação da formação de profissionais da área da saúde para o fortalecimento do SUS**. Tese (Doutorado em Psicologia Clínica e Cultura) – Universidade de Brasília – UnB, Brasília, 2015.

GIRARDI, S. N.; CARVALHO, C.L. Configurações do mercado de trabalho dos assalariados em Saúde no Brasil. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde. Departamento de Gestão da Educação na Saúde. Projeto de Profissionalização dos Trabalhadores da Área de Enfermagem – PROFAE. **Mercado de trabalho em saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, set. 2002. p. 15-36. (Formação, n. 6). Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/profae/Revista2006.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2022.

GOMES, R.; NASCIMENTO, E. F. do; ARAÚJO, F. C. de. Por que os homens buscam menos os serviços de saúde do que as mulheres? As explicações de homens com baixa escolaridade e homens com ensino superior. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 3, p. 565-574, 2007.

HADDAD, A. E. *et al.* Undergraduate programs for health professionals in Brazil: an analysis from 1991 to 2008. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 3, p. 383-393, 2010.

MARIN, N. *et al.* O Sistema Único de Saúde. In: MARIN, N. *et al.* (org.). **Assistência Farmacêutica Para Gerentes Municipais**. Rio de Janeiro: OPAS/OMS, 2003.

MATOS, I. B.; TOASSI, R. F. C.; OLIVEIRA, M. C. de. Profissões e ocupações de saúde e o processo de feminização: tendências e implicações. **Athenea Digital: Revista de Pensamiento y Investigación Social**, v. 13, n. 2, p. 239-244, 2013.

PEREIRA, L. R. L.; FREITAS, O. de. A evolução da Atenção Farmacêutica e a perspectiva para o Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 601-612, 2008.

RUTYNA, A.H. **Fatores associados ao mercado de trabalho desejado por ingressantes do curso de Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa**. Paraná, 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, 2021.

SAVAGE, L. M.; BEALL, J. W.; WOOLLEY, T. W. Factors that influence the career goals of pharmacy students. **American Journal of Pharmaceutical Education**, v. 73, n. 2, p. 28-32, 2009.

TREVISOL, J. V.; NIEROTKA, R. L. Os jovens das camadas populares na universidade pública: acesso e permanência. **Revista Katálysis**, v. 19, n. 1, p. 22-32, 2016.

UBAKA, C. M.; OCHIE, U. M.; ADIBE, M. O. Student pharmacists' career choices: a survey of three Nigerian schools of pharmacy. **Pharmacy Practice**, v. 11, n. 3, p. 149-155, 2013.

VARELA, D. S. da S. *et al.* Diretrizes Curriculares Nacionais e a Formação de Profissionais para o SUS. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, v. 6, n. 3, p. 39-43, 2016.

WETTERICH, N. C.; MELO, M. R. A. C. Perfil sociodemográfico do aluno do curso de graduação em enfermagem. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 15, n. 3, p. 404-410, 2007.

WILLIS, S.; HASSELL, K.; NOYCE, P. Career intentions of pharmacy students. **Journal of Health Services Research & Policy**, v. 13, n. 2, p. 45-51, 2008.

WILLIS, S. C.; SHANN, P.; HASSELL, K. Pharmacy career deciding: making choice a "good fit". **Journal of Health Organization and Management**, v. 23, n. 1, p. 85-102, 2009.

ZHANG, T.; LI, L.; BIAN, Y. Final-year pharmacy undergraduate students' career intention and its influencing factors: a questionnaire study in northwest China. **BMC Medical Education**, v. 20, n. 1, p. 1-10, 2020.

ESTÁGIO NO PROGRAMA O BRASIL CONTA COMIGO DURANTE A PANDEMIA DA COVID-19: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA

INTERNSHIP AT THE O BRASIL CONTA COMIGO PROGRAM DURING THE COVID-19 PANDEMIC: NA EXPERIENCE REPORT

Larissa Chitz¹, Beatriz Essenfelder Borges^{1*}

¹Faculdades Integradas Santa Cruz de Curitiba, Curitiba, Paraná, Brasil

*Autor correspondente: Rua Airton Plaisant 970, Santa Quitéria, Curitiba. Telefone: 41 999975311.

Email: biaessenfelder@gmail.com

RESUMO

A pandemia da COVID-19 afetou drasticamente a vida e o cotidiano de todos, incluindo a realização dos Estágios Curriculares Supervisionados (ECS) de alunos da área da saúde. Nesse cenário, os Ministérios da Saúde e da Educação uniram forças para coordenar a estratégia "O Brasil Conta Comigo" a fim de auxiliar o serviço de saúde no enfrentamento à pandemia, com os alunos das universidades voltadas para a área da saúde, além de profissionais e residentes. Este trabalho é um relato de experiência, de cunho descritivo-reflexivo, que tem o objetivo de relatar as experiências adquiridas com o estágio de enfermagem no contexto da pandemia da Covid-19. Durante o estágio foi possível observar e participar ativamente de todas as mudanças nos fluxos, protocolos e rotinas do serviço. Foi possível vivenciar a pandemia no contexto da saúde e o seu impacto para a assistência, além de desenvolver as habilidades e conhecimentos preconizados. A troca com a equipe de saúde foi de muita valia, pois houve uma interação real entre ensino-serviço de muita produtividade. Assim, o serviço de saúde pôde contar com o amparo dos recursos humanos e os acadêmicos com experiências e aprendizados.

Palavras-chave: pandemia COVID-19, estágio de enfermagem, O Brasil Conta Comigo.

ABSTRACT

The Covid-19 pandemic has drastically affected everyone's lives and daily lives, including the realization of Supervised Curriculum Internships (SCI) for students in the health area. In this scenario, the Ministries of Health and Education joined forces to coordinate the "O Brasil Conta Comigo" strategy to help the health service fight the pandemic with students from universities focused on the health area, as well as professionals and residents. This work is an experience report, with a descriptive-reflective nature, which aims to report the experiences acquired with the nursing internship in the context of the Covid-19 pandemic. During the internship, it was possible to observe and actively participate in all changes in the flows, protocols and service routines, it was possible to experience the pandemic in the context of health and its impact on care, in addition to developing the recommended skills and knowledge. The exchange with the health team was very valuable, because there was a real interaction between teaching and service with a lot of productivity. Thus, the health service could rely on the support of human resources and academics with experiences and learning.

Keywords: COVID-19 pandemic, nursing internship, O Brasil Conta Comigo.

INTRODUÇÃO

O Coronavírus se tornou alvo de grande repercussão no Brasil e no mundo desde o seu aparecimento e identificação na província de Wuhan, na China, em 30 de dezembro de 2019, por representar um problema de saúde pública e, conseqüentemente, devido à grave crise sanitária que causou. Disseminou-se de forma rápida pelo mundo inteiro, sendo classificado enquanto pandemia global em 11 de março de 2020, o que afetou drasticamente a vida de todos, principalmente devido aos esforços que precisaram ser direcionados para sua contenção, assim como os protocolos de biossegurança que precisaram ser adotados e o risco real de morbimortalidade, impactando significativamente a dinâmica econômica, social, política e cultural do mundo inteiro (ANVISA, 2020; BRASIL, 2020; CASCELLA et. al., 2020; CRODA; GARCIA, 2020; DE OLIVEIRA et. al., 2020; FACCHINI, 2020; GOSTIC et. al., 2020; KAMPF et. al., 2020; KIM et. al., 2020; LI et. al., 2020; SARTI et. al., 2021; TEIXEIRA et. al., 2020; TIAN et. al., 2020).

Foi batizado pelo Comitê Internacional de Taxonomias dos Vírus (ICTV) como SARS-CoV-2 devido à sua similaridade viral com os outros vírus SARS. Já a doença foi intitulada Covid-19 pelo atual diretor geral em exercício da função, da Organização Mundial de Saúde (OMS) Tedros Adhanom, em referência ao tipo de vírus e ao ano de seu surgimento. Em 30 de janeiro de 2020, após um mês da confirmação da sua descoberta na China, o Coronavírus já havia se espalhado para cerca de 18 países e a OMS havia declarado Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (BRASIL, 2020a; CASCELLA et. al., 2020; CRODA; GARCIA, 2020; DE OLIVEIRA et. al., 2020; GOSTIC et. al., 2020; KAMPF et. al., 2020; KIM et. al., 2020; TEIXEIRA et. al., 2020).

Desde o início do ano de 2020, quando o Brasil ainda sofria apenas a ameaça da vinda do vírus, o Ministério da Saúde (MS) tem usado a comunicação e a disseminação de informações em massa, principalmente por meio da imprensa, como estratégia fundamental de prevenção e promoção de saúde. Disponibilizou também novos meios de atendimento ao público em regime de plantão, como por exemplo o teleatendimento, tudo para garantir o acesso a informações seguras sobre o momento, entendendo que o obscurantismo poderia agravar a situação (ANVISA, 2020; BRASIL, 2020d; BRASIL, 2020e; BRASIL, 2020k; BRASIL, 2020m; DE OLIVEIRA et. al., 2020; CRODA; GARCIA, 2020; GARCIA et. al., 2020; SARTI et. al., 2021; TEIXEIRA et. al., 2020; WHO, 2020).

Além do mais, a capacitação de recursos humanos e materiais e a ampliação da cobertura do Sistema Único de Saúde (SUS) têm sido importantes para o fortalecimento da assistência à saúde. Isso porque o serviço de saúde já carecia desses recursos em um momento anterior à pandemia. Esse déficit somado ao aumento expressivo da procura por atendimento representou um fator decisivo para o colapso iminente do sistema de saúde e aumento do número de óbitos. Aliás, a ameaça até então inexistente, tem como característica a vulnerabilidade imunológica da população e a carência de conhecimentos sobre suas condições, tornando urgente a necessidade do preparo dos profissionais e da população conforme as informações sobre a doença eram atualizadas, visto que dados e evidências científicas ainda estão sendo descritas (ANVISA, 2020; TEIXEIRA et. al., 2020; WHO, 2020).

Nesse cenário, os Ministérios da Saúde e da Educação uniram forças para coordenar uma estratégia que auxiliasse o serviço de saúde no enfrentamento à pandemia com os alunos das universidades voltadas à área da saúde, além de profissionais e residentes. A estratégia intitulada “O Brasil Conta Comigo” permitiu a inserção dos acadêmicos de último ano de Enfermagem, Fisioterapia e Farmácia e de alunos de 5º e 6º anos de Medicina no SUS, por meio da adesão dos Municípios, Estados e Distrito

Federal (BRASIL, 2020c; BRASIL, 2020e; BRASIL, 2020f; BRASIL, 2020g; BRASIL, 2020h; BRASIL, 2020i; BRASIL, 2020j; BRASIL, 2020l).

A estratégia mostrou-se benéfica para todos os envolvidos, pois houve o apoio ao serviço de saúde, em um momento em que muitos esforços precisaram ser reorientados, bem como a necessidade de reforço dos recursos direcionados para a área da saúde, e também para os alunos inscritos, que puderam observar e auxiliar em todos esses processos e, conseqüentemente, aprender sobre variados temas da assistência em saúde com a experiência em uma oportunidade única durante a pandemia.

Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo relatar experiências vividas durante o estágio, pela estratégia “O Brasil Conta Comigo”, em época de pandemia, e vinculá-las à teoria já escrita sobre o assunto.

MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um relato de experiência, de cunho descritivo-reflexivo sobre o estágio de enfermagem, no contexto da pandemia da Covid-19. O relato foi escrito por uma acadêmica a partir da observação, prática e discussões com a equipe de saúde e demais acadêmicos do curso de Enfermagem e de acordo com o diálogo ensino-serviço.

O estágio em questão foi realizado em uma Unidade de Atenção Primária à Saúde, vinculada à estratégia “O Brasil Conta Comigo”, no período de 13 de julho de 2020 a 29 de dezembro de 2020. A unidade realiza atendimentos relacionados à Atenção Básica e Estratégia de Saúde da Família à população pertencente ao seu território.

As experiências citadas foram vivenciadas durante a rotina de atendimentos ao serviço de saúde, atividades realizadas em parceria com a equipe de saúde e preceptoria e supervisão de uma enfermeira da unidade. Os dados foram discutidos de acordo com os referenciais do Ministério da Saúde, artigos e demais entidades envolvidas no combate à pandemia.

RESULTADOS

Durante o estágio foi possível observar e participar ativamente de todas as mudanças nos fluxos, protocolos e rotinas do serviço e também vivenciar a pandemia no contexto da saúde e o seu impacto para a assistência. Por ser uma doença emergente e ainda sem muito conhecimento a seu respeito, novas informações e a forma de atuação frente à doença eram repassadas quase que em tempo real.

Foi possível observar e aprender a se adaptar em meio à nova realidade, pois houve mudanças na atuação do serviço de saúde como um todo, ações que antes eram colocadas como prioridade, como por exemplo, a vinculação e o contato do paciente à unidade de saúde sempre que necessário, passaram a ser revistas e a orientação foi a de evitar as idas ao serviço de saúde. Unidades de porta aberta precisaram de barreiras que impedissem o livre acesso dos usuários até que fosse feita a classificação, enquanto sintomático ou não sintomático, para encaminhamento ao setor adequado. Programas e acompanhamento dos pacientes das ESF foram suspensos, cirurgias eletivas também, dentre inúmeras situações corriqueiras que, aos poucos, foram se adaptando à nova realidade, enquanto era necessário fortalecer as ações de promoção de saúde e prevenção de agravos, além de prestar atendimento ao paciente com as situações e problemas de saúde já conhecidas, o que normalmente caracterizava-o enquanto do grupo de risco.

Nesse momento, foi necessário desenvolver ainda mais o pensamento estratégico e a capacidade de adaptação dos estagiários e da equipe de saúde, assim como a comunicação efetiva entre todos os envolvidos para estabelecer o diálogo entre a situação com os pacientes atendidos, os demais profissionais e os protocolos e rotinas que estavam sendo formulados naquele momento, a fim de se prestar atendimento de saúde qualificado aos pacientes e orientá-los da melhor maneira possível.

No começo, como havia pouca informação a respeito da transmissibilidade e letalidade da Covid-19, bem como alguns dos sintomas, também não havia muito material nem EPI, enquanto que a demanda de pacientes começou a aumentar substancialmente. O desafio era trabalhar não apenas com o pânico da população, mas dos profissionais também, no entanto, atuar em um ambiente de incertezas possibilitou o desenvolvimento da resiliência em todos. Foi necessário resgatar os conhecimentos a respeito dos protocolos de biossegurança, colocação e retirada de EPI, lavagem de mãos e higienização de materiais e superfícies, além de fornecer essas informações para toda a população. Num primeiro momento todo aquele cuidado gerou certo impacto, afinal as vestimentas e a necessidade de higienização constante eram antes rotinas aplicadas em casos específicos, mas que passaram a ser realizadas incansavelmente e ainda não garantiam total segurança da prevenção do contágio.

Foi possível desenvolver e praticar sensibilidade e cautela para entender e acolher a situação do usuário que estava procurando a unidade naquele momento, cuidado com o encaminhamento e orientação desse paciente e prudência na hora de registrar os ocorridos, pois todos os sintomas eram levados em consideração, por menor que fosse a queixa, era preciso ser pontuado, por uma questão de biossegurança e também para alimentar corretamente o sistema com informações acerca do desenvolvimento da doença. A partir dessas informações era realizado o processo de vigilância epidemiológica de todos os pacientes sintomáticos, o que permitia a alteração de espaços físicos em áreas de alto ou baixo risco de contaminação, além de fluxogramas de pacientes e profissionais, tudo para monitorar os pacientes sintomáticos e evitar o contato desses com os não sintomáticos. Com isso, foi possível acompanhar o crescimento epidemiológico do vírus e as novas informações a seu respeito que apenas a prática poderia trazer, bem como entender as mudanças nos documentos publicados pelo Ministério da Saúde e como isso influenciava na epidemiologia como um todo.

Com o passar do tempo, a pandemia que todos acreditavam ser passageira foi permanecendo e os casos ficando cada vez mais graves, pacientes ou mesmo profissionais que entravam na unidade de saúde com sintomas leves, por vezes tinham um agravamento do caso que os levava a óbito ou recuperação com sequelas gravíssimas. Acompanhar esses casos foi deixando a equipe de saúde e os estagiários num estado de tensão cada vez maior, tanto pelo medo de contrair a doença e transmitir aos familiares, quanto de entender a responsabilidade de realizar o atendimento correto ao paciente afim de prevenir esses desdobramentos.

Nesse momento, foi necessário entender e enfrentar o peso das desigualdades sociais na realidade para a saúde. Apesar do risco real e do medo enfrentado por todos, era preciso perceber que nem todo paciente teria condições de seguir as recomendações, por vezes o discurso era de que não seria possível parar de trabalhar para não perder o sustento da família, pois pacientes com a doença confirmada por exame afirmavam que permaneceriam trabalhando para não perder o emprego. Foi preciso paciência para realizar o manejo verbal com esses pacientes, desenvolvendo atos de educação em saúde para cada situação em particular, às vezes até para as empresas e famílias envolvidas. Foi preciso entender o que diziam as resoluções e como esses pacientes estavam protegidos pela lei e orientá-los para evitar que o contágio aumentasse.

Em meio a tudo isso, no decorrer do estágio foi possível realizar procedimentos em condições minimamente seguras, avaliar a capacidade do serviço de saúde em realizar os atendimentos e como isso aconteceria em concordância à vigilância epidemiológica de cada região. Foi possível também realizar a testagem dos pacientes sintomáticos e o monitoramento de casos confirmados, principalmente os casos pertencentes a algum grupo de risco, bem como a administração de medicamentos e suporte respiratório quando preciso. Foi necessário fortalecer a educação permanente dos profissionais e educação em saúde para os usuários, para isso também foi importante agilizar meios digitais quando possível. Dentre outras ações e experiências que foram possíveis apenas durante a pandemia, além de suprir as demandas extras do serviço de saúde.

DISCUSSÃO

A estratégia intitulada “O Brasil Conta Comigo” foi instituída pelas portarias 492 de 23 de março de 2020 e 639 de 31 de março de 2020, publicadas no Diário Oficial da União, com o intuito de auxiliar os gestores do SUS e fornecer apoio em recursos humanos para as instituições, em caráter excepcional e temporário, enquanto durasse a pandemia. O programa fez-se necessário, pois desde que as aulas foram suspensas não houve mais atividades acadêmicas presenciais, o que incluía os estágios, e o serviço de saúde seguia necessitando de amparo. Assim, os alunos puderam retomar os estágios, contribuir com o serviço e aprender ao mesmo tempo, reforçando o ensino e qualificando-se por meio de uma experiência prática do que é aprendido na faculdade em teoria (BRASIL, 2020c; BRASIL, 2020e; BRASIL, 2020f; BRASIL, 2020g; BRASIL, 2020h; BRASIL, 2020i; BRASIL, 2020j; BRASIL, 2020l).

Os alunos puderam atuar em atenção primária, unidades de pronto atendimento, rede hospitalar e distritos sanitários especiais. Para isso foi necessário realizar um cadastro on-line e um curso, também on-line, sobre a Covid-19, e aos poucos os que estavam enquadrados nos requisitos do edital foram sendo chamados para os serviços de saúde, de acordo com a dinâmica epidemiológica do vírus em cada região (BRASIL, 2020e; BRASIL, 2020, f; BRASIL, 2020g; BRASIL, 2020h; BRASIL, 2020i; BRASIL, 2020j; BRASIL, 2020l).

As instituições também precisaram se inscrever da mesma forma, por endereço eletrônico, e os profissionais interessados se dispuseram a ser preceptores do programa, responsáveis por acompanhar e orientar os alunos. Dessa forma, ao se apresentar nas unidades em que foram chamados, os alunos eram amparados pelos profissionais preceptores, que apresentavam o local, o posto de atuação, a equipe, as responsabilidades, etc. (BRASIL, 2020e; BRASIL, 2020h; BRASIL, 2020i; BRASIL, 2020j; BRASIL, 2020l).

A realização do Estágio Curricular Supervisionado em Enfermagem (ECS), em contexto pandêmico, trouxe à tona inúmeros debates em que a inserção dos alunos em campo de estágio deu-se sob caráter emergencial, estratégia usada para fortalecer o quadro de profissionais e ampliar a cobertura de atendimento do SUS, o que trouxe implicações a respeito da manutenção da qualidade e segurança, tanto do ensino e dos alunos quanto da assistência em saúde e dos profissionais e pacientes, pois num contexto em que as condições laborais e os riscos biológicos, físicos e psicossociais estão em pauta é válida a ponderação do risco de colocar estudantes na linha de frente do combate à pandemia, somada à sobrecarga que o estágio pode acarretar (ESTEVEZ, et. al., 2018; FERNANDES et. al., 2021; MATOS et. al., 2020; MOREIRA; TONON, 2020; SOCCOL et. al., 2020; SOUZA et. al., 2020).

No entanto, até o momento não existe previsão de retorno à realidade conhecida antes da pandemia. Assim, as mudanças no cotidiano, trazidas pelo coronavírus, permanecem por tempo indeterminado, apesar de todos os esforços que estão sendo feitos para que tudo volte ao “normal”. Dessa forma, os desafios de manter o ECS continuam necessitando de atenção. A respeito do receio sentido pelos alunos ao atuar nesse cenário pandêmico, existe a escolha de permanecer no serviço de saúde ou não, sendo ela particular e levando-se em consideração a situação de saúde atual e a convivência com os familiares. Além disso, cursos e instruções sobre os cuidados necessários, risco de contaminação, documentos elaborados a partir das evidências construídas são constantes (FERNANDES et. al., 2021; SOUZA et. al., 2020).

O compromisso com a formação profissional durante o ECS inclui o ensino dos princípios éticos, senso de responsabilidade social e compromisso com a cidadania, além do reconhecimento de que a atuação em Enfermagem, por si só, exige a habilidade de atuar com adversidades e eficiência em priorizar as demandas, então um contexto desconhecido acabou por favorecer o desenvolvimento dessas competências (BRASIL, 2008b; ESTEVES, et. al., 2018; FERNANDES et. al., 2021; MATOS et. al., 2020; MOREIRA; TONON, 2020; SOCCOL et. al., 2020).

No Brasil, o SUS tem sido de extrema importância no manejo da pandemia, pois algumas ações preventivas tinham sido tomadas antes de o primeiro caso ter sido notificado em 26 de fevereiro de 2020, em São Paulo. Por exemplo, o Centro de Operações de Emergência (COE) do Ministério da Saúde estava acionado desde o dia 22 de janeiro, a Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) já havia sido declarada desde o dia 3 de fevereiro. O Plano de Contingência foi acionado dia 27 de fevereiro, quando medidas de prevenção foram reforçadas, tudo isso conforme a Portaria MS nº 188, e conforme o Decreto nº 7.616, de 17 de novembro de 2011. Sob coordenação da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS), medidas de segurança para planejamento, organização e monitoramento da situação epidemiológica foram agilizadas para o enfrentamento de uma, até então, possível pandemia.

As providências foram tomadas a partir da experiência de outros países e visavam que o contágio potencial das pessoas ocorresse gradualmente, de forma a impedir um alto número de infectados em um curto intervalo de tempo e, assim, sobrecarregar o sistema de saúde, o que permitiria que este pudesse continuar atuando de forma efetiva e com disponibilidade. Apesar disso, o avanço da doença foi acelerado e, com isso, em 17 de março ocorreu o primeiro óbito por Covid-19 no país. Em 20 de março de 2020 foi reconhecida a transmissão comunitária em todo o território nacional (ANVISA, 2020; BRASIL, 2011; BRASIL, 2020a; BRASIL, 2020d; BRASIL, 2020e; BRASIL, 2020h; BRASIL, 2020k; BRASIL, 2020m; DA SILVA et. al.; 2020; CRODA; GARCIA, 2020; DA SILVA et. al.; 2020; DE ARAÚJO et. al., 2020; DE OLIVEIRA et. al., 2020; FACCHINI, 2020; GONÇALVES, 2021; SARTI et. al., 2021; SEGATA, 2020; SOUZA, 2020; TEIXEIRA et. al., 2020.).

A despeito de uma nova crise sanitária que a pandemia causou, o SUS se tornou o protagonista em seu enfrentamento no Brasil, trazendo de volta ao país a sua importância, que até então estava se perdendo. Foi necessária a reestruturação do serviço, gestão e provisão de recursos em caráter excepcional, além de toda uma reorientação dos profissionais, tudo para lidar com uma doença que ainda não se sabia com exatidão a sua extensão (BOUSQUAT et. al., 2021; DA SILVA et. al.; 2020; DE ARAÚJO et. al., 2020; DOS SANTOS, 2020; FACCHINI, 2020; SILVA, 2018; SARTI et. al., 2020; SOUZA, 2020; TEIXEIRA et. al., 2020).

Faz parte do SUS a adoção de estratégias conhecidas como do âmbito da Saúde Coletiva, como planejamento baseado em dados, conhecimento do território, o acesso e o vínculo entre o usuário e a equipe de saúde, a integralidade da assistência, o monitoramento das famílias vulneráveis e o acompanhamento dos pacientes. São medidas tomadas sob a ótica de que os indivíduos inseridos em um meio, constroem e interferem na esfera da saúde mutuamente. Então, durante a pandemia foi fundamental redirecionar essa atenção para os casos suspeitos e confirmados, realizando o manejo dos casos leves, o direcionamento dos casos moderados e graves para evitar o agravamento, além da contenção da pandemia ao abordar problemas oriundos do isolamento social. Tudo isso somado aos problemas já vivenciados cotidianamente (BOUSQUAT, et. al., 2021; DA SILVA, et. al.; 2020).

Portanto, para coordenar o atendimento seguro e de qualidade houve o estabelecimento e atualização constante de fluxos e protocolos fornecidos pelo Ministério da Saúde, relacionados principalmente à capacitação dos profissionais, ao apoio na estruturação do fornecimento de medicamentos, suporte ventilatório, testes diagnósticos e exames complementares em grande número, estruturação de espaço físico adequado para acolher possíveis casos suspeitos, criação de hospitais de campanha e abertura de leitos, EPIs adequados em número e grau para os profissionais e pacientes sintomáticos. Estratégias importantes para aumentar a capacidade do sistema de saúde e prestação de serviços em contraposição à sua sobrecarga durante a pandemia (DE ARAÚJO, et. al., 2020; FACCHINI, 2020; SILVA, 2018; SARTI, et. al., 2020; SOUZA, 2020).

Devido à inexistência de cura e até a população mundial estar devidamente vacinada, a prevenção depende de ações não farmacêuticas, ou seja, é pautada nos princípios da biossegurança e tem como objetivo a contenção, a prevenção e a proteção de riscos inerentes à exposição ao vírus. Com o aumento do número de casos passaram a ser elaborados protocolos, normas, leis e uma diversidade de documentos técnicos para impedir ou diminuir a cadeia de transmissão do vírus. Para os profissionais de saúde, a biossegurança é uma ação educativa de construção de conhecimento, pois envolve o comportamento humano em sua tomada de decisão e representa uma forma de luta contra a precarização e exploração do serviço (GONÇALVES, 2021; SARTI et. al., 2021).

Essas estratégias usadas para conter ou minimizar a contaminação dependem tanto de ações governamentais, das autoridades sanitárias e políticas quanto da adesão por parte da população. Nesse cenário, a educação em saúde tem sido fundamental nos esforços para incentivar a adoção das práticas de prevenção e precaução corretas, associadas à compreensão do real risco da pandemia, sem gerar pânico. Para a população em geral, o momento tem sido de muito aprendizado, pois em um curto espaço de tempo assuntos que antes eram apenas do domínio de profissionais de saúde precisaram fazer parte da rotina de todos, sob um risco palpável de contrair a doença e até evoluir a óbito (ANVISA, 2020; SARTI et. al., 2021; SOUZA, 2020; WHO, 2020).

CONCLUSÃO

Toda essa vivência trouxe um enorme aprendizado e contribuiu muito para a formação profissional de muitos estagiários, colaborou para o desenvolvimento de uma identidade profissional e crescimento pessoal e, conforme preconizam as Diretrizes Nacionais Curriculares do curso de Enfermagem, durante as atividades do dia a dia, competências como comunicação, gestão, liderança e tomada de decisões se desenvolveram enquanto o medo e a insegurança foram transformados em autonomia.

A troca com a equipe de saúde foi de muita valia, pois houve uma interação real entre ensino-serviço de muita produtividade. Assim, o serviço de saúde pôde contar com o amparo dos recursos humanos e os acadêmicos com experiências e aprendizados.

REFERÊNCIAS

ANVISA: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BR). GVIMS/GGTES/ANVISA. **Nota técnica nº 04/2020**. Orientações para serviços de saúde: medidas de prevenção e controle que devem ser adotadas durante a assistência aos casos suspeitos ou confirmados de infecção pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). Diário Oficial da União: Brasília, DF. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/notas-tecnicas/nota-tecnica-gvims_ggtes_anvisa-04_2020-25-02-para-o-site.pdf. Acesso em: 23 jun. 2021.

BOUSQUAT, A.; AKERMAN, M.; MENDES, A.; LOUVISON, M.; FRAZÃO, P.; NARVAL, P. C. Pandemia de covid-19: o sus mais necessário do que nunca. **Revista Usp**, [S.L.], n. 128, p. 13-26, 6 maio 2021.

BRASIL. FN-SUS. Decreto nº 7.616, de 16 de novembro de 2011. Dispõe sobre a declaração de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional - ESPIN e institui a Força Nacional do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 17 nov. 2011, a. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2011/decreto/d7616.htm. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. Lei nº 11.788, de 24 de setembro de 2008. Dispõe sobre o estágio de estudantes. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF. set. 2008, 25 set. 2008, b. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11788.htm. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Alunos da área da saúde poderão ajudar no combate ao coronavírus**. Brasília, 2020, c. Disponível em: <https://www.gov.br/cgu/pt-br/governo-aberto/noticias/2020/4/alunos-da-area-de-saude-poderao-ajudar-no-combate-ao-coronavirus>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. CENTRO DE OPERAÇÕES DE EMERGÊNCIAS EM SAÚDE PÚBLICA COE-COVID-19. **Plano de contingência nacional para infecção humana pelo novo coronavírus COVID-19**. Brasília, DF, d. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/fevereiro/13/plano-contingencia-coronavirus-COVID19.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde/Gabinete do Ministro. Portaria n. 356, de 10 de março de 2020. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, 11 de março de 2020, ano 2020, e, p. 185. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-356-de-11-de-marco-de-2020-247538346>. Acesso em: 31 out. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde/Gabinete do Ministro. Portaria n. 492, de 22 de março de 2020. **Diário Oficial da União**: Seção 1-extra, Brasília, DF, 23 de março de 2020, f, ano 2020, p. 4. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-492-de-23-de-marco-de-2020-249317442>. Acesso em: 30 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde/Gabinete do Ministro. Portaria n. 639, de 30 de março de 2020. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, 31 de março de 2020, g, ano 2020, p. 76. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-639-de-31-de-marco-de-2020-250847738>. Acesso em: 31 out. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. MS/GM. Portaria nº 188, de 02 de fevereiro de 2020. Declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) em decorrência da Infecção

Humana pelo novo Coronavírus (2019-nCoV). **Diário Oficial da União**: [Brasília, DF] Seção Extra: 1, fev. 2020, h. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-188-de-3-de-fevereiro-de-2020-241408388>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. “**O Brasil Conta Comigo**” cadastra 500 mil profissionais de saúde para atuarem no combate à Covid-19. govBR Portal Único do Governo. Brasília, DF, 2020, i. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2020/04/201-co-brasil-conta-comigo201d-cadastra-500-mil-profissionais-de-saude-para-atuarem-no-combate-ao-coronavirus-pelo-brasil>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. “**O Brasil Conta Comigo**” convoca estudantes da saúde para atuarem no combate ao coronavírus. govBR Portal Único do Governo. Brasília, DF, 2020, j. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2020/04/201-co-brasil-conta-comigo201d-habilita-estudantes-da-saude-para-atuar-no-combate-ao-coronavirus>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 454, de 19 de março de 2020. Declara, em todo o território nacional, o estado de transmissão comunitária do coronavírus (Covid-19). **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 20 mar. 2020, k. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-454-de-20-de-marco-de-2020-249091587>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Recurso humano: iniciativa “O Brasil Conta Comigo” já possui 500 mil profissionais de saúde cadastrados**. govBR Portal Único do Governo. Brasília, DF, 2020, l. Disponível em: <https://www.gov.br/casacivil/pt-br/assuntos/noticias/2020/abril/recurso-humano-iniciativa-201-co-brasil-conta-comigo201d-ja-possui-500-mil-profissionais-de-saude-cadastrados>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. (Org.). Infecção humana pelo novo coronavírus (2019-nCoV). **Bol Epidemiol**. Brasília, DF, v. 1, n. 1. 17 p. 01, 2020, m. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/janeiro/28/Boletim-epidemiologico-SVS-28jan20.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2021.

CASCELLA, M.; RAJNIK, M.; ALEEM, A.; DULEBOHN, S. C.; DI NAPOLI, R. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). **StatPearls [internet]**. Treasure Island, FL, 2021.

CRODA, J. H. R.; GARCIA, L. P. Resposta imediata da Vigilância em Saúde à epidemia da COVID-19. **Epidemiol Serv Saúde**, Brasília, DF, v. 29, n. 1. 3 p, mar 2020.

DA SILVA, W. M. F.; RUIZ, J. L. S. A centralidade do SUS na pandemia do coronavírus e as disputas com o projeto neoliberal. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 3. 8 p, set 2020.

DE ARAÚJO, J. L.; DE OLIVEIRA, K. M.; DE FREITAS, R. J. M. Em defesa do Sistema Único de Saúde no contexto da pandemia por SARS-CoV-2. **Rev. Bras. Enferm**, [S. l.], v. 73, n. 2. 6 p, 2020.

DE OLIVEIRA, A. C.; LUCAS, T. C.; IQUIAPAZA., R. A. O que a pandemia tem nos ensinado sobre a adoção de medidas de precaução? **Texto Contexto Enferm [Internet]**, Florianópolis, v. 29. 15 p, mai 2020.

DE OLIVEIRA, W. K.; DUARTE, E.; DE FRANÇA, G. V. A.; GARCIA, L. P. Como o Brasil pode deter a COVID-19. **Epidemiol. Serv. Saúde**, [S. l.], v. 29, n. 2, 27 abr 2020.

DOS SANTOS, R. T. O neoliberalismo como linguagem política da pandemia: a Saúde Coletiva e a resposta aos impactos sociais. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 2. 9 p, 2020.

ESTEVES, L. S. F.; CUNHA, I. C. K. O.; BOHOMOL, E.; NEGRI, E. C. Supervised internship in undergraduate education in nursing: integrative review. **Rev Bras Enferm [internet]**, [S. l.], v. 71, n. 4. 12 p, 2018.

FACCHINI, L. A. COVID-19: Nocaute do neoliberalismo? Será possível fortalecer os princípios históricos do SUS e da APS em meio à pandemia? **Aps em Revista**, Pelotas, RS, v. 2, n. 1, p. 3-10, 15 abr 2020.

FERNANDES, J. D.; SILVA, N. O.; CORDEIRO, A. L. A. O.; TEIXEIRA, G. A. S. Estágio curricular supervisionado de enfermagem em tempos de pandemia da COVID-19. **Esc Anna Nery**, Salvador, BA, v. 25. 7 p, 28 abr 2021.

GARCIA, M. V. F.; GARCIA, M. A. F. Telemedicina, segurança jurídica e COVID-19: onde estamos? **J Bras Pneumol**, São Paulo, SP, v. 46, n. 4. 2 p, 2020.

GONÇALVES, M. E. S. A biossegurança e o trabalho de enfermagem no enfrentamento da Covid-19. **Rev Ed Amb em Ação**, [S. l.], v. XX, n. 76, set-nov 2021.

GOSTIC, K.; GOMEZ, A. C.; MUMMAH, R. O.; KUCHARSKI, A. J.; LLOYD-SMITH, J. O. Estimated effectiveness of symptom and risk screening to prevent the spread of COVID-19. **Elife**, [S. l.], v. 24, n. 9, feb 2020.

GRUBAUGH, N. D.; HODCROFT, E. B.; FAUVER, J. R.; PHELAN, A. L.; CEVIK, M. Public health actions to control new SARS-CoV-2 variants. **Cell**, [S. l.], v. 184, n. 5, 4 mar 2021.

KAMPF, G., TODT, T., PFAENDER, S., STEINMANN, E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. **J Hosp Infect**, [S. l.], v. 104, n. 3, mar 2020.

KIM, J. Y.; CHOE, P. G.; OH, Y.; OH, K, J.; KIM, J.; PARK, S. J.; PARK, J. H.; NA, H. K.; OH, M. D. The First Case of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia Imported into Korea from Wuhan, China: Implication for Infection Prevention and Control Measures. **J Korean Med Sci**. [S. l.], v. 10, n. 35, feb 2020.

MATOS, S. A.; SOUZA, A. B. M.; DA SILVA, F. V. S.; DE OLIVEIRA, S. A.; CORDEIRO, C. F.; PARENTE, E. P.; LOPES, M. L.; DE LIMA, N. P.; DANTAS, F. M.; VALÉRIO, F. K. P.; MONTEIRO, C. E. B. Estágio curricular supervisionado em enfermagem em tempos de pandemia por Covid-19 numa Unidade de Atenção Primária à Saúde no interior do Amazonas. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 9. 10 p, 24 jul 2021.

MOREIRA, C. L.; TONON, T. C. A. Desafios de estudantes concluintes do curso de bacharelado em enfermagem, diante do estágio supervisionado e a pandemia da Covid-19. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 7. 15 p, 21 jun 2021.

SARTI, T. D.; LAZARINI, W. S.; FONTENELLE, L. F.; ALMEIDA, A. P. S. C. Qual o papel da Atenção Primária à Saúde diante da pandemia provocada pela COVID-19? **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, DF, v. 29, n. 2. 5 p, 2020.

SEGATA, J. Covid-19, biossegurança e antropologia. **Horiz. antropol**, Porto Alegre, RS, v. 26, n. 57, p. 275-313, mai-ago 2020.

SILVA, C. S. Mendonça MHM, Matta GC, Gondim R, Giovanella L, organizadores. Atenção Primária à Saúde: conceitos, práticas e pesquisa. **Saúde Debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 1, p. 452-456, set 2018.

SOCCOL, K. L. S.; DOS SANTOS, N. O.; MARCHIORI, M. R. C. T. Estágio Curricular Supervisionado no contexto da COVID-19 e o desenvolvimento profissional de estudantes de Enfermagem. **Enferm. Foco**, [S.l.], v. 11, n. 2, p. 148-151, dez 2020.

SOUZA, D. O.; O subfinanciamento do Sistema Único de Saúde e seus rebatimentos no enfrentamento da Covid-19. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 3. 6 p, set 2020.

SOUZA, L. A. B.; NEVES, H. C. C.; AREDES, N. D. A.; MEDEIROS, I. C. L. J.; SILVA, G. O.; RIBEIRO, L. C. M. Estágio curricular supervisionado em enfermagem na pandemia Covid-19: experiência no programa Brasil Conta Comigo. **Rev Esc Enferm USP**, São Paulo, SP, v. 55. 8 p, mai 2021.

SOUZA, L. B.; SCHIR, D. G.; SOCCOL, K. L. S.; SANTOS, N. O.; MARCHIORI, M. R. C. T. Estágio curricular supervisionado em enfermagem durante a pandemia de Coronavírus: experiências na atenção básica. **J. nurs. health**, [S. l.], v. 10, n. 4, abr 2020.

TEIXEIRA, C. F. S.; SOARES, C. M.; SOUZA, E. A.; LISBOA, E. S.; PINTO, I. C. M.; DE ANDRADE, L. R.; ESPIRIDÃO, M. A. A saúde dos profissionais de saúde no enfrentamento da pandemia de Covid-19. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S. l.], v. 25, n. 9, 10 10, 28 ago-set 2020.

TIAN, H.; LIU, Y.; LI, Y.; WU, C, H.; CHEN, B.; KRAEMER, M. U. G.; LI, B.; CAI, J.; XU, B.; YANG, Q.; WANG, B.; YANG, P.; CUI, Y.; SONG, Y.; ZHENG, P.; WANG, Q.; BJORMSTAD, O. N.; YANG, R.; GRENFELL, B. T.; PYBUS, O. G.; DYE, C. The impact of transmission control measures during the first 50 days of the COVID-19 epidemic in China. **medRxiv**, [S. l.]. 29 p, mar 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Rational use of personal protective equipment (PPE) for coronavirus disease (COVID-19): **interim guidance**. Geneva (CH); 19, mar 2020.

INCIDÊNCIA DE TUBERCULOSE EM TEMPOS DE COVID-19

TUBERCULOSIS INCIDENCE IN TIME OF COVID-19

Laura Mendes Lopes¹, Matheus de Almeida¹, Artur Blos Lopes¹, Maressa Neves Ayer¹,
Thelma Skare¹, Renato Nishihara^{1*}

¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, Paraná.

*Corresponding author: Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Departamento de Medicina.
Rua Padre Anchieta, 2770 — Brasil CEP 80730-000 Tel.+55 41 99911 9572
E-Mail: renatonishihara@gmail.com; renato.nishihara@fempar.edu.br

RESUMO

Introdução: A taxa de detecção de tuberculose pode ter mudado durante a pandemia de COVID-19 pela nova realidade e hábitos criados para combater a pandemia. **Objetivo:** Analisar a incidência de tuberculose no Brasil durante os anos de 2018 a 2020; comparando-se os períodos e as populações vulneráveis. **Métodos:** Foram coletados dados presentes no Cadastro do Ministério da Saúde do Brasil sobre a incidência de tuberculose nos anos de 2018, 2019 e 2020, levando em consideração a distribuição por idade, sexo e grupos vulneráveis como moradores de rua, presidiários, profissionais de saúde e imigrantes. **Resultados:** Observou-se diminuição do número de novos casos de tuberculose no ano de 2020 comparado com 2018 e 2019. Não foram observadas diferenças na proporção de homens e mulheres e nem por faixa etária. Dentre os indivíduos vulneráveis, verificou-se que mantiveram, em 2020, a mesma proporção observada em 2018 e 2019. **Conclusão:** A detecção de novos casos de tuberculose diminuiu durante a pandemia de COVID19 em todos os segmentos da população estudada.

Palavras-chave: Tuberculose; pandemia; populações vulneráveis.

ABSTRACT

Introduction: The detection rate of tuberculosis may have changed during the COVID-19 pandemic due to the new reality and habits created to combat the pandemic. **Objective:** To analyze the incidence of tuberculosis in Brazil during the years 2018 to 2020; comparing the detection rate during this period in general and vulnerable populations. **Methods:** Data on the incidence of tuberculosis in the years 2018, 2019, and 2020 were collected from the Registry of the Brazilian Ministry of Health, taking into account the distribution by age, sex, and affiliation to vulnerable groups such as homeless people, inmates, health professionals and immigrants. **Results:** The overall number of new tuberculosis cases in 2020 was lower than in 2018 and 2019. There was no difference in the percentage of men and women or between age groups. The incidence of tuberculosis among people belonging to vulnerable groups remained the same in 2020 as in 2018 and 2019. **Conclusion:** New cases of tuberculosis decreased equally in all segments of the population studied during the COVID-19 pandemic.

Keywords: Tuberculosis; pandemic; vulnerable populations.

INTRODUCTION

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis* is an infectious disease recognized since antiquity. However, it is still one of the main infectious causes of death in the world, despite the great advances in its diagnosis and treatment (1,2). According to the WHO, it is estimated that in 2019, about 10 million people around the world became ill with TB, and approximately 1.4 million deaths from the disease were accounted for (3). The prevalence and incidence of the infection is influenced by individual patient factors, social, community and health system aspects (4) and is more common among the marginalized population and those with low socioeconomic status (2). About 95% of new TB cases appear in countries with few economic resources (4). In 2015, the WHO launched a “Strategy to End TB 2016–2035”, with the aim of universally aligning the fight against TB, addressing not only aspects of the disease, but also its social and economic determinants (5).

In late 2019, a novel coronavirus was recognized as the cause of pneumonia cases in Wuhan, China. This infection spread rapidly, resulting in a global pandemic, causing the interruption of many routine health services, including those intended for the treatment of TB (6-8). *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2 are infectious agents that, although they belong to different groups of microorganisms, are both spread by airborne transmission, although SARS-CoV-2 is much more infectious (9). A WHO (World Health Organization) survey in 165 countries showed that 42% of them had interruptions in their tuberculosis detection and treatment strategies (7).

In countries such as Peru, the COVID-19 pandemic has negatively impacted health programs focused on TB, due to the diversion of resources to control the pandemic. Consequently, combat measures, epidemiological surveillance of tuberculosis cases were affected and data point to an increase in the number of cases, especially of multidrug-resistant tuberculosis, and to the underdiagnosis of the disease (10). In Brazil, data are available at the Ministry of Health databases, and knowledge and discussion of such numbers is important for health professionals involved in the fight against TB. Although the provision of services to combat TB has not been interrupted in Brazil, the demand for them by patients may have been impacted by the fear of contamination by SARS-CoV-2.

This study aims to analyze the detection rate of new tuberculosis cases in the years 2018 and 2019 compared to 2020 in Brazil, assessing the impact of the pandemic.

METHODS

Information on tuberculosis comes from the “Sistema de Informação de Agravos de Notificação” (Sinan), publicly available in the internet in the DATASUS database (11). Thus, submission to the Research Ethics Committee was waived. TB incidence data were obtained from the Brazilian Ministry of Health Registry in the years 2018, 2019 and 2020. Stratification was performed according to the patient’s sex and age. The incidence of TB in vulnerable groups was studied, such as inmates, homeless, immigrants and health professionals. TB cases were grouped into quarters and compared.

STATISTICAL ANALYSIS

The collected data were spread out using the Excel® program. Statistical analyzes are descriptive and expressed in absolute numbers and percentages. P values lower than 5% were considered statistically significant.

RESULTS

Table 1 and **figure 1** show the numbers of cases over the years studied according to sex and age emphasising the decrease of the total detections as well as 2020. Previously, before the lockdown period, the number of new cases was similar to earlier years, between 23 and 24 thousand cases in the quarter. From the second quarter of 2020 onwards, there was an important reduction of the number of detected cases (-25.8%) in the months of April, May and June 2020. The same situation would remain in the last two quarters of 2020 with lower numbers than 2018 and 2019.

There was no significant difference ($P = 0.62$) between the proportion of men and women; the same occurs in the different age groups.

Table 1 - Numbers of TB cases over the years 2018, 2019 and 2020 according to sex and age.

Quarters	2018				2019				2020			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
TOTAL	23861	24185	24958	23651	23861	24185	24958	23651	24936	18501	21765	20958
MEN	16757	17061	14400	16469	16757	17061	14400	16469	17632	13097	15318	14675
WOMEN	7102	7119	7557	7180	7102	7119	7557	7180	7304	5404	6447	6283
Age												
Until 9 years	185	280	318	280	371	444	512	493	389	282	331	322
Until 19 years	1640	1672	1825	1693	1575	1556	1597	1509	1502	990	1230	1207
20- 49 years	14 447	15162	15787	14835	15127	15244	15849	14868	15599	11857	13699	13020
50- onwards	6408	6704	18970	23446	6784	6931	6988	6730	6988	4986	6040	5938

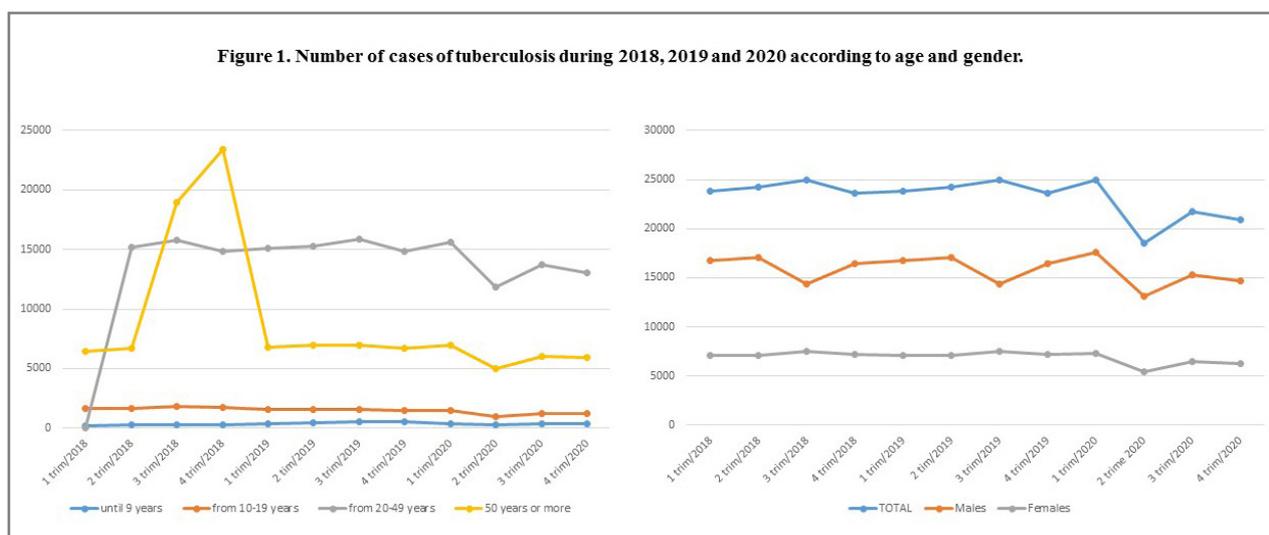


Table 2 shows the distribution of tuberculosis incidence in risk groups in the three years studied. No significant differences were observed in the proportion of cases in these groups during this period of years. However, it is interesting to observe that there was a reduction in the number of cases between 2019 and 2020. Nevertheless, it was -10.8% lower than that observed in the general population. In all the vulnerable populations evaluated, the reduction in the number of cases was around 10%, being the most expressive among health professionals, which it was observed a reduction of 13.4%.

Table 2 - Incidence of tuberculosis cases in high-risk populations during the years 2018, 2019 and 2020.

	2018 (n=94,720)	2019 (n=96,655)	2020 (n=86,166)
Homeless people	3432 (3.6%)	3683 (3.8%)	3530 (4.0%)
Healthcare professionals	1225 (1.2%)	1167 (1.2%)	1324 (1.5%)
People deprived of liberty	10885 (11.5%)	11755 (12.1%)	10514 (12.2%)
Immigrants	681 (0.7%)	646 (0.6%)	586 (0.6%)

DISCUSSION

The data raised into account some questions about the reduction of tuberculosis cases reported in Brazil in 2020 comparing the two previous years. The beginning of March 2020 was marked by the beginning of Covid-19 cases in Brazilian territory, that increased exponentially over the months. Therefore, social distancing and personal care measures were implemented by the Brazilian government to stop the spread of the pandemic in Brazil. Mandatory use of masks in public places and the establishment of restrictions on agglomerations were required (12). It can be said that the general population was apprehensive about the circulation of the new virus and adhered to such measures, including when circulation was restricted.

Our results showed that in 2020 there was a decrease in the total number of TB detections, without changes in the pattern according to sex, age group or presence of high risk of contagion. This reduction was also observed by other authors. Migliori et al. (13) studying 32 centers in several countries, observed a reduction of 27 (84%) of them in the first 4 months of 2020 when compared to the same period of 2019.

The reduction observed in new cases may have several explanations. It can be inferred that the use of masks and social distancing may have helped to reduce contamination. A study published in 2020 linked the use of masks during the Covid-19 pandemic and the decrease in active cases of Influenza. The circulation of the virus dropped rapidly after the implementation of social restriction measures, and in about 2 weeks there was a significant reduction in transmissions (14). Thus, the fact of using masks and maintaining distance can be important factors in reducing the notification of tuberculosis cases in Brazil. Additionally, it is possible that there has been a decrease in the use of health services (15). Therefore, this reduction may represent the non-detection of new cases, which is a worrying situation. Although there are no corroborating publications, it is possible to hypothesize that the health system itself may have diverted resources destined for TB care centers to use in the fight against COVID-19. Another possibility is that the patients themselves have not looked for treatment centers due to the fear of contamination by COVID-19. Not treating tuberculosis infection or treating it improperly can favor future spread of the disease and increase the risk of drug resistance (1,2). Efforts must be made to ensure that care for TB patients is preserved during the COVID-19 pandemic. The use of telemedicine has been proposed as an alternative to improve this situation (13). However, it must be kept in mind that the poorest population (that is, the most vulnerable and most susceptible to tuberculosis infection) may not have access to this resource.

In this study, it was not possible to detect a special group of the population that was more susceptible to treatment interruption, in which it was able to concentrate efforts to reverse the problem. It seems to affect all studied segments of society. It is noteworthy, however, that among

the most vulnerable populations, there was a smaller reduction (about 10%) in relation to the general population. This fact may be associated with the lower incorporation of restrictive habits and mask use by this segment of the population.

In conclusion, this study reports a decrease in the detection of new TB cases in Brazil during the COVID-19 pandemic, a decrease that equally affected men and women of all age groups, as well as segments of the population considered to be more vulnerable. As tuberculosis is an entity with a high impact on morbidity and mortality, the possibility of not detecting new cases and consequently not instituting treatment is worrying and could have serious repercussions on public health. Therefore, it is necessary that not only government entities remain in charge of the diagnosis and monitoring of tuberculosis. Nevertheless, the entire medical community should be alert to the possible detection of new cases.

REFERENCES

- 1- Natarajan A, Beena PM, Devnikar AV, Mali S. A systemic review on tuberculosis. *Indian J Tuberc.* 2020; 67(3):295-311. doi: 10.1016/j.ijtb.2020.02.005.
- 2- Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis. *Lancet.* 2019; 393(10181):1642-1656. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30308-3.
- 3- World Health Organization. Global tuberculosis report 2020. [Acesso em 8 ago. 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>.
- 4- Laycock KM, Enane LA, Steenhoff AP. Tuberculosis in adolescents and young adults: emerging data on tb transmission and prevention among vulnerable young people. *Trop Med Infect Dis.* 2021;6(3):148. doi: 10.3390/tropicalmed6030148.
- 5- Lönnroth K, Raviglione M. The WHO's new End TB Strategy in the post-2015 era of the sustainable development goals. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2016;110(3):148-50. doi: 10.1093/trstmh/trv108.
- 6- World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19-11; 2020. [Acesso em 31 ago. 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-mediabriefing-on-covid-19—11-march-2020>.
- 7 - World Health Organization. Pulse survey on continuity of essential health services during the COVID-19 pandemic: interim report, 27 August 2020; 2020. [Acesso em 31 ago. 2021]. Disponível em: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-EHS_continuitysurvey-2020.1.
- 8 - World Health Organization. Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020. [Acesso em 12 ago. 2021]. Disponível em: <http://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>.
- 9 - Silva DR, Mello FCQ, D'Ambrosio L, Centis R, Dalcolmo MP, Migliori GB. Tuberculosis and COVID-19, the new cursed duet: what differs between Brazil and Europe? *J Bras Pneumol.* 2021;47(2):e20210044. doi: 10.36416/1806-3756/e20210044.
- 10 - Khan FMA, Kazmi Z, Hasan MM, Dos Santos Costa AC, Ahmad S, Essar MY. Resurgence of tuberculosis amid COVID-19 in Peru: Associated risk factors and recommendations. *Int J Health Plann Manage.* 2021; 27. doi: 10.1002/hpm.3291.

- 11 - Brasil, Ministério da Saúde. Banco de dados do Sistema Único de Saúde - DATASUS, Informações de Saúde, Rede assistencial. [Acesso em 31 ago. 2021] Disponível em <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/tubercbr.def>.
- 12 - Coronavírus Brasil. [Internet]. 2018. [Acesso em 28 jun. 2021]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br>.
- 13 - Migliori GB, Thong PM, Akkerman O, Alffenaar JW, Álvarez-Navascués F, Assao-Neino MM, et al. Worldwide Effects of Coronavirus Disease Pandemic on Tuberculosis Services, 2020 jan./abr. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(11):2709-2712. doi: 10.3201/eid2611.203163.
- 14 – Olsen SJ. et al. Decreased influenza activity during the COVID-19 pandemic—United States, Australia, Chile, and South Africa. *Am. J. Transplant.* 2020 dez.; 20 (12): 3681-3685. doi: 10.1111/ajt.16381.
- 15 - Comella-Del-Barrio P, De Souza-Galvão ML, Prat-Aymerich C, Domínguez J. Impact of COVID-19 on Tuberculosis Control. *Arch Bronconeumol.* 2021 abr.; 57 (2): 5-6. doi: 10.1016/j.arbres.2020.11.016

DL50 DE EXTRATOS VEGETAIS DE *EUGENIA CATHARINENSIS* EM EMBRIÕES DE *GALLUS SP*

DL50 OF *EUGENIA CATHARINENSIS* VEGETABLE EXTRACTS IN *GALLUS SP* EMBRYOS

Sheila Wayszceyk^{1*}; Debora Delwing Dal Magro¹, Micheli Debiasi Alberton³;
Claudia Almeida C Albuquerque².

¹ Departamento de Medicina, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

² Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

³ Departamento de Química, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

* Autor correspondente: Rua Antônio da Veiga, 140, Blumenau, SC, Brasil. CEP 89030-903,
Fone (47) 3321-0200, sheilaw@furb.br.

RESUMO

O conhecimento da biodiversidade vegetal, além de ser considerada uma fonte de modelos químicos para a síntese de novas moléculas, também deve ser incentivado como um recurso natural com possível atividade farmacológica. Ao longo do desenvolvimento embrionário, os sistemas orgânicos estão sujeitos à ação de fatores exógenos e endógenos que podem interferir na expressão do padrão estrutural e funcional da espécie animal. Neste estudo foi avaliado a DL50 dos extratos vegetais (hidroalcoólico, diclorometano e acetato de etila) de *Eugenia catharinensis* em embriões de *Gallus domesticus*. Os resultados preliminares demonstram elevada mortalidade (100%) dos extratos vegetais acetato de etila e diclorometano, enquanto o hidroalcoólico se mostrou menos tóxico (cerca de 30%) aos embriões. A partir destes dados iniciais, o extrato hidroalcoólico será avaliado isoladamente, determinando-se outras análises bioquímicas ou morfológicas.

Palavras-Chave: embriotoxicidade; embrião; dose letal; extratos vegetais; desenvolvimento.

ABSTRACT

Knowledge of plant biodiversity, besides being considered a source of chemical models for the synthesis of new molecules, should also be encouraged as a natural resource with possible pharmacological activity. Throughout embryonic development, organic systems are subject to the action of exogenous and endogenous factors that may interfere with the expression of the structural and functional pattern of the animal species. In this study, we evaluated the LD50 of plant extracts (hydroalcoholic, dichloromethane and ethyl acetate) of *Eugenia catharinensis* in *Gallus domesticus* embryos. Preliminary results show high mortality (100%) of plant extracts ethyl acetate and dichloromethane, while hydroalcoholic was less toxic (about 30%) to embryos. From these initial data, the hydroalcoholic extract will be evaluated separately, determining other biochemical or morphological analyzes.

Keywords: embryotoxicity; embryo; lethal dose; plant extracts; development.

INTRODUÇÃO

Diversas espécies da família Myrtaceae são utilizadas popularmente, como a *Eugenia uniflora*, que tem finalidade antirreumática, antidiabética, adstringente, analgésica, hipoglicemiante, diurética e reguladora do sistema digestório (KIRTIKAR; BASU, 2006; SERAFIN et al., 2007; SAHA et al., 2013). Dentre os compostos já identificados nas espécies da família Myrtaceae, temos os taninos, flavonoides, ácidos, triterpenos, sesquiterpenos e saponinas (SERAFIN et al., 2007; NERI-NUMA et al., 2013). Flavonoides e compostos fenólicos já foram isolados de espécies do gênero *Eugenia* (TIMBOLA et al., 2002; KUSKOSKI et al., 2003; EINBOND et al., 2004). Dentre as atividades biológicas dos flavonoides, a antioxidante é a mais estudada. Esta atividade está ligada a uma combinação de suas excelentes propriedades quelantes de ferro e sequestradoras de radicais livres, além da inibição de muitos outros sistemas que participam de processos pró-oxidantes, sendo também capazes de ativar sistemas antioxidantes endógenos (TRUEBA, 2003).

Porém, dentro desta realidade surgem preocupações acerca do uso popular e tradicional sem avaliação toxicológica dos recursos vegetais, sendo apenas o uso empírico insuficiente para validar eticamente as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006; DE FÁTIMA AGRA; DE FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; AGRA et al., 2008). As reações adversas provenientes do uso de plantas ou extratos vegetais podem ser decorrentes de seus componentes, contaminantes ou de sua preparação (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006). Estes efeitos podem também ocorrer por substâncias isoladas de plantas, como diversos compostos orgânicos, produtos do metabolismo primário e secundário, e que podem exercer efeitos benéficos ou maléficos sobre o organismo. Para assegurar o uso das plantas, é imprescindível a realização de testes de eficácia, segurança e qualidade, utilizando-se métodos para a obtenção de informações toxicológicas pré-clínicas através de pesquisas *in vitro* e *in vivo* (ZÖLLNER; SCHWARZ, 2013). No entanto, tais estudos de toxicidade de plantas medicinais são pouco realizados (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005; CLEFF et al., 2008).

Buscando avaliar a toxicidade de extratos vegetais, foram escolhidos três principais extratos de *Eugenia catharinensis* (hidroalcoólico, diclorometano e acetato de etila) para calcularmos a DL50 em embriões de galinha.

MATERIAIS E MÉTODOS

Na presente análise, foram testados os efeitos dos extratos hidroalcoólico, diclorometano e acetato de etila em ovos embrionados de *Gallus domesticus in vivo* (CEUA:05/2017). Os ovos foram incubados pelo período de 7 dias a 37°C em incubadora com umidade controlada (55%), sendo avaliada a viabilidade embrionária diariamente através de uma abertura na parede lateral da casca do ovo, local onde eram administrados 50µL de cada concentração dos extratos vegetais estudados. Foram utilizados seis ovos embrionados para cada concentração testada (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, e 6.4 µg/g do extrato hidroalcoólico, diclorometano e acetato de etila). Durante a preparação das concentrações, foi utilizado o Tween 80 nas maiores doses testadas. O tratamento foi realizado em E3 e analisados após uma semana em E9, de acordo com Hamburger e Hamilton (1993). Durante este período, foram mantidas as aberturas das cascas dos ovos, protegidas com fita adesiva transparente atóxica.

Após a administração das concentrações, era realizada a observação diária até o fim do experimento para verificar a mortalidade embrionária. Nos ovos não viáveis (morte embrionária), ou ao final

de sete dias, era realizada a eutanásia para análise morfológica externa do embrião (aspecto geral) e, após, os embriões eram coletados de forma asséptica, fixando-os em formol 10%. Para a determinação da DL50, foi contabilizado o número de animais eventualmente mortos para a determinação da dose responsável pela morte de 50% dos animais experimentais (DL50), com limite de confiança de 95%, segundo o método de Litchfield e Wilcoxon (1949), no qual se conta o número de animais mortos para cada grupo e se calcula o percentual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio para determinação do grau de toxicidade através da investigação da dose letal 50% (DL50), apresentado pelos extratos vegetais hidroalcoólicos, diclorometano e acetato de etila de *Eugenia catharinensis*, houveram mortes de embriões conforme Tabela I. Os dados revelaram uma elevada taxa de mortalidade nos embriões do grupo acetato de etila e diclorometano. A elevada toxicidade destes extratos pode estar relacionada à preparação da dose de tratamento em que os extratos foram emulsionados em Tween 80 para facilitar a entrada da substância nas células dos tecidos dos embriões. Tween é um tensoativo não iônico, pouco tóxico para membranas biológicas (REGE; KAO; POLLI, 2002), constituído por ésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitol. Esta substância é utilizada como detergente, aumentando a permeabilidade das membranas biológicas, e com isso a velocidade de transporte através da membrana (AZMIN et al., 1985; REGE; KAO; POLLI, 2002). Neste sentido, os ésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitol pode provocar alterações morfológicas na estrutura da membrana das células embrionárias, podendo, nas doses mais altas, atuar toxicamente. Embriões de *Gallus domesticus* têm sido amplamente usados para avaliar a embriotoxicidade de produtos químicos (SHEPARD, 1976). Uma das formas de avaliação se refere às análises de várias substâncias, cujos produtos químicos afetam diretamente o embrião, e tanto com mortes como a observação de malformações, que desta forma podem ser monitoradas e melhor estudadas (DOMOWICZ et al., 2011).

Os resultados mostraram que a dose de 0,05 µg/g extrato hidroalcoólico foi responsável por 33,3% das mortes, enquanto os extratos de diclorometanos provocaram o óbito de 50% e de acetato de etila obteve 66,7% dos óbitos. Pode-se ainda verificar, entre os embriões analisados, alterações no padrão de desenvolvimento embrionário, de acordo com o estágio do desenvolvimento.

Tabela I - Taxa de mortalidade e determinação da DL50 dos embriões de *G. domesticus*.

Dose (µg/g)	Extratos de <i>Eugenia catharinensis</i>		
	Hidroalcoólico	Diclorometano	Acetato de etila
0,05	33,3	50,0	66,7
0,1	33,3	66,7	83,3
0,2	33,3	66,7	100,0
0,4	50,0	66,7	100,0
0,8	83,3	83,3	100,0
1,6	83,3	83,3	100,0
3,2	100,0	100,0	100,0
4	100,0	100,0	100,0

Fonte: Compilação dos autores.

Os embriões mortos, frequentemente, exibiam múltiplas malformações. Havia, em média, mais de duas malformações por embrião morto. As malformações em alguns órgãos vitais poderiam estar relacionadas com a mortalidade do embrião. A maioria das mortes ocorreu em embriões entre os estágios E4 e E5. A Tabela II relaciona as principais alterações morfológicas.

Tabela II - Análise qualitativa dos achados morfológicos observados nos embriões de *Gallus domesticus* tratados com os extratos vegetais.

Extratos	Características morfológicas (membros, mandíbula e tóraco-abdominal)	%
Extrato Hidroalcoólico	membros presentes, sem desenvolvimento mandibular e abertura tóraco-abdominal	15
Extrato Diclorometano	membros presentes, sem desenvolvimento mandibular e abertura tóraco-abdominal	42
Extrato Acetato de Etila	membros presentes, sem desenvolvimento mandibular e abertura tóraco-abdominal	43

Fonte: Compilação dos autores.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, foram descritos alguns parâmetros de embriotoxicidade que podem ser importantes para trabalhos futuros com os extratos de *E. catharinensis*. A observação dos embriões e a determinação da DL 50 de embriões tratados com várias doses dos extratos hidroalcoólico, diclorometano e a acetato de etila, demonstraram que compostos vegetais podem ser tóxicos para embriões dependendo da dose e do veículo, como verificado por Heinz *et al.* (2009), e foi demonstrado que a fração hidroalcoólica foi a menos tóxica para embriões de aves, servindo de base para testes futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M. D. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472–508, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/fC7snvLkwzFsMv3mfVRGNc/?lang=en>>. Acesso em: 17 jun. 2021.
- AZMIN, M. N. et al. The effect of non-ionic surfactant vesicle (niosome) entrapment on the absorption and distribution of methotrexate in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 37, n. 4, p. 237–242, 1985. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2860220/>>. Acesso em: 30 jun. 2021.
- CLEFF, M. B. et al. Toxicidade pré-clínica em doses repetidas do óleo essencial do *Origanum vulgare* L. (Orégano) em ratas Wistar. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 5, p. 704–709, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/230813682_Toxicidade_Pre-Clinica_em_Doses_Repetidas_do_Oleo_Essencial_do_Origanum_vulgare_L_Oregano_em_Ratas_Wistar>. Acesso em: 21 jun. 2021.
- DE FÁTIMA AGRA, M.; DE FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/mK3xKRWQ5tK6WHBKJKGGpxD/?lang=en>>. Acesso em: 20 jun. 2021.
- DOMOWICZ, M. S. et al. Astrocyte precursor response to embryonic brain injury. **Brain Research**, v. 1389, p. 35–49, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21396923/>>. Acesso em: 1 jul. 2021.

- EINBOND, L. S. et al. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 23–28, 2004. Disponível em: <<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.489.3434&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2021.
- HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. A series of normal stages in the development of the chick embryo. **Journal of morphology**, v. 88, n. 1, p. 231–272, 1993. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1304821/>>. Acesso em: 14 jun. 2021.
- HEINZ, G. H. et al. Species differences in the sensitivity of avian embryos to methylmercury. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 56, n. 1, p. 129–138, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18421496/>>. Acesso em: 19 jun. 2021.
- KIRTIKAR, K. R.; BASU, B. D. **Indian Medicinal Plants**. India: M/s Bishen Singh Mahendra Pal Singh, 2006.
- KUSKOSKI, E. M. et al. Characterization of anthocyanins from the fruits of Baguagçu (Eugenia umbelliflora Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5450–5454, 2003. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf030014z>>. Acesso em: 1 jul. 2021.
- LITCHFIELD, J. T.; WILCOXON, F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 96, n. 2, p. 99–113, 1949. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18152921/>>. Acesso em: 27 jun. 2021.
- NERI-NUMA, I. A. et al. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (Eugenia stipitata Mc Vaugh - Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 70–76, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912003912>>. Acesso em: 2 jul. 2021.
- REGE, B. D.; KAO, J. P. Y.; POLLI, J. E. Effects of nonionic surfactants on membrane transporters in Caco-2 cell monolayers. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 4–5, p. 237–246, 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12208453/>>. Acesso em: 19 jun. 2021.
- SAHA, S. et al. Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract and fractions of Eugenia jambolana root bark and isolation of phytoconstituents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 4, p. 651–661, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X13700826>>. Acesso em: 28 jun. 2021.
- SERAFIN, C. et al. Avaliação do potencial antimicrobiano de Plinia glomerata (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 578–582, 2007. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/QkjQcgFQMDHBhfscjhsPXHr/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 25 jun. 2021.
- SHEPARD, T. H. **A Catalog of Teratogenic Agents**. 2. ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1976.
- TIMBOLA, A. K. et al. A new flavonol from leaves of Eugenia jambolana. **Fitoterapia**, v. 73, n. 2, p. 174–176, 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11978436/>>. Acesso em: 29 jun. 2021.
- TRUEBA, G. P. Los flavonoides: Antioxidantes o prooxidantes. **Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas**, v. 22, n. 1, p. 48–57, 2003. Disponível em: <<http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v22n1/ibi07103.pdf>>. Acesso em: 25 jun. 2021.
- TUROLLA, M. S. dos R.; NASCIMENTO, E. de S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289–306, 2006.

Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbcf/a/Jtb4HWgGG7zPtpyw9zDmkTs/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 23 jun. 2021.

VEIGA, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/CHhqMPvgfDyKcv9XD3HSBsc/?lang=pt>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

ZÖLLNER, T.; SCHWARZ, M. Herbal reference standards: Applications, definitions and regulatory requirements. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 1–21, 2013. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/qH5NzbbkrTwRsYgWG9YSx6z/abstract/?lang=en>>. Acesso em: 4 jul. 2021.