

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

***Caenorhabditis elegans* como plataforma pluriversitária de extensão
integrando ensino, pesquisa e inovação em saúde única na educação básica**

Douglas Correia de Souza
Doctor Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

DOUGLAS CORREIA DE SOUZA

***Caenorhabditis elegans* como plataforma pluriversitária de extensão integrando ensino, pesquisa e inovação em saúde única na educação básica**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Jackson Victor de Araujo

Coorientadora: Maria A. S. Moreira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S729c
2025 Souza, Douglas Correia de, 1990-
Caenorhabditis elegans como plataforma pluriversitária de
extensão integrando ensino, pesquisa e inovação em saúde única
na educação básica / Douglas Correia de Souza. – Viçosa, MG,
2025.

1 tese eletrônica (125 f.): il. (algumas color.).

Texto em português e inglês.

Inclui anexo.

Orientador: Jackson Victor de Araújo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Veterinária, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.339>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Caenorhabditis elegans*. 2. Biotecnologia. 3. Alimentos -
Qualidade. 4. Saúde - Estudo e ensino. 5. Extensão universitária.
I. Araújo, Jackson Victor de, 1962-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 592.57

DOUGLAS CORREIA DE SOUZA

***Caenorhabditis elegans* como plataforma pluriversitária de extensão integrando ensino, pesquisa e inovação em saúde única na educação básica**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Douglas Correia de Souza
Autor

Jackson Victor de Araujo
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pelo autor em 30/05/2025 às 10:09:35 e pelo orientador em 30/05/2025 às 11:44:50. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **Q9NJ.YL8G.7KTQ** e clique no botão 'Validar documento'.

Aos alunos que fizeram desta jornada acadêmica
uma experiência ainda mais transformadora.

AGRADECIMENTOS

Obrigado Eder e Luiz por serem minha família e por todo apoio durante esse processo.

Agradeço especialmente por toda colaboração: Ao Prof. Rodrigo Miranda; Dra. Francine Coa, Dra. Priscila Gubert e aos membros da Liga acadêmica de estudos em *Caenorhabditis elegans* (LaeCe); ao Grupo de Estudos sobre Educação em Medicina Veterinária (GEEduVet) e ao Grupo de Estudos e Pesquisas em Políticas Públicas e Formação de Profissionais da Educação (GEPPFOR).

Aos orientadores, professores e funcionários da Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Medicina Veterinária e dos colégios participantes pela oportunidade de realizar o projeto nas instituições.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Muito obrigado a todos meus professores do ensino básico até aqui.

Por fim, agradeço ao Douglas criança, que sonhou em ser cientista sem saber que esse sonho o traria até aqui.

*Pelo que foi e pelo que poderia ser
Pelo que temos, pelo que pode vir a faltar
Para o que vier e para este momento
Um brinde a quem resiste*
“René Pérez, Eduardo Cabra e Ileana Cabra Joglar

RESUMO

SOUZA, Douglas Correia de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Caenorhabditis elegans** como plataforma pluriversitária de extensão integrando ensino, pesquisa e inovação em saúde única na educação básica. Orientador: Jackson Victor de Araujo. Coorientadora: Maria Aparecida Scatamburlo Moreira.

Esta tese de doutorado explora a integração entre ensino, pesquisa, inovação e extensão (IEPIE) por meio do uso metodologias ativas com técnicas laboratoriais e experimentação animal com o uso de organismos modelo invertebrados, em especial *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). O trabalho se guia dentro de dois conceitos base: Pluriversidade Solidária (PS) e Saúde-Única. A PS é apresentada como uma forma de se desenvolver projetos de extensão que promova a integração entre conhecimento acadêmico e saberes tradicionais com impacto direto em uma comunidade, sendo idealizados e realizados horizontalmente pela própria comunidade. Essa abordagem busca descentralizar o ensino e a pesquisa, tornando-os mais acessíveis às comunidades e incentivando a formação de redes colaborativas entre estudantes, professores, pesquisadores e populações locais. Já Saúde-Única é um conceito que busca reconhecer a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental. O objetivo da tese foi investigar a aplicabilidade desses organismos como ferramentas biotecnológicas para controle de qualidade de alimentos, prospecção de agentes bioativos e educação científica no ensino básico. O trabalho é apresentado em forma de artigos, onde o primeiro capítulo contém o desenvolvimento da tese. Os demais capítulos são artigos científicos desenvolvidos a partir das metodologias de ensino utilizadas em conjunto com as instituições de ensino básico, seus professores e alunos, abordando diversas aplicações dos organismos. Foram desenvolvidos trabalhos com controles de qualidade alternativos para bebidas industriais e Whey Protein. O nematoide também foi utilizado como bioindicador de agrotóxicos superficiais em vegetais e como animal experimental para pesquisa de tratamentos para intoxicações por plantas. Trabalhos com potencial sustentável foram desenvolvidos, onde a atividade nematicida do leite equino e do óleo essencial de *Citrus arantium* foram evidenciados pela primeira. Os resultados reforçam o potencial de *C. elegans* como uma ferramenta acessível, ética e eficiente para análises biotecnológicas e no ensino, fortalecendo a relação entre ciência e sociedade.

Palavras-chave: Biotecnologia; Ensino de Saúde; Metodologias Ativas.

ABSTRACT

SOUZA, Douglas Correia de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. ***Caenorhabditis elegans* as a pluriversity extension platform integrating teaching, research and innovation in health and healthcare in basic education.** Adviser: Jackson Victor de Araujo. Co-adviser: Maria Aparecida Scatamburlo Moreira.

This doctoral thesis explores the integration between teaching, research, innovation and extension (IEPIE) through the use of active methodologies with laboratory techniques and animal experimentation using invertebrate model organisms, especially *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). The work is guided by two basic concepts: Solidarity Pluriversity (PS) and One Health. PS is presented as a way of developing extension projects that promote the integration between academic knowledge and traditional knowledge with a direct impact on a community, being idealized and carried out horizontally by the community itself. This approach seeks to decentralize teaching and research, making them more accessible to communities and encouraging the formation of collaborative networks between students, teachers, researchers and local populations. One Health is a concept that seeks to recognize the interconnection between human, animal and environmental health. The aim of this thesis was to investigate the applicability of these organisms as biotechnological tools for food quality control, prospecting for bioactive agents, and scientific education in primary education. The work is presented in the form of articles, where the first chapter contains the development of the thesis. The remaining chapters are scientific articles developed based on teaching methodologies used in conjunction with primary education institutions, their teachers, and students, addressing various applications of the organisms. Work was developed with alternative quality controls for industrial beverages and Whey Protein. The nematode was also used as a bioindicator of surface pesticides in vegetables and as an experimental animal for research into treatments for plant poisoning. Work with sustainable potential was developed, where the nematicidal activity of equine milk and *Citrus arantium* essential oil was evidenced for the first time. The results reinforce the potential of *C. elegans* as an accessible, ethical and efficient tool for biotechnological analysis and teaching, strengthening the relationship between science and society.

Keywords: Biotechnology; Health Education; Active Methodologies.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fotos do material básico de aula pática utilizado nos projetos.	22
Figura 2 - Apresentação de <i>Caenorhabditis elegans</i> e Saúde-Única.	26
Figura 3 - Controle de Qualidade em Alimentos na perspectiva de Saúde-Única.	28
Figura 4 - Prospecção de uma farmácia viva comunitária em Saúde-Única.	32
Figura 5 - Fotos registradas pelos alunos durante as aulas de microscopia.	35
Figura 1- <i>Caenorhabditis elegans</i> em ensaio laboratorial.....	56
Figura 1 - Processo de sincronização alcalina.	88
Figura 2 - Esquema da metodologia utilizada no desenvolvimento de <i>Caenorhabditis elegans</i> como bioindicador de agrotóxicos superficiais de frutas e legumes <i>in natura</i>	88
Figura 3 - Processo de lavagem dos alimentos.	88
Figura 4 - Montagem do experimento com os alunos.	89
Figura 5 - Desenvolvimento do experimento.	89

LISTA DE TABELAS

Quadro 1 - Principais dados a serem preenchidos pelos alunos no Portfólio educativo online.	34
Quadro 2 - Continuação do Portfólio educativo online.	35
Tabela 1 - Sobrevivência de <i>Caenorhabditis elegans</i> expostos a amostras de refrigerantes.	57
Table 1 - Survival results of <i>Caenorhabditis elegans</i> after 24 hours of exposure to equine, goat, cow, and UHT bovine milk samples.	65
Tabela 1 - Resultados da sobrevivência de <i>Caenorhabditis elegans</i> expostos por 24 horas a amostras de <i>Whey Protein</i> e aos controles.	74
Quadro 1 - Evolução de <i>Caenorhabditis elegans</i> como organismo modelo.	84
Tabela 1 - Resultados da sobrevivência de <i>Caenorhabditis elegans</i> expostos 24 horas a água residual da lavagem de vegetais comercializados localmente.	90
Tabela 1 - Taxa de mortalidade de <i>Caenorhabditis elegans</i> expostos por 30 minutos a diferentes óleos essenciais de fitoterápicos.	103
Tabela 2 - Taxa de mortalidade de <i>Caenorhabditis elegans</i> expostos por 30 minutos a diferentes hidrolatos de plantas medicinais.	104
Tabela 1 - Resultados das médias de mortalidade de <i>Caenorhabditis elegans</i> tratados com fitoterápicos antes da exposição ao extrato de <i>Ricinnus communis</i> .	114

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3. CAPÍTULO 1- <i>Caenorhabditis elegans</i> como plataforma pluriversitária de extensão integrando ensino, pesquisa e inovação em saúde-única na educação básica	15
3.1 Introdução ao artigo	15
3.2 Introdução	17
3.3 Pluriversidade Solidária, Ensino de Saúde, Saúde-Única e <i>Caenorhabditis elegans</i>	18
3.4 Material e Métodos	22
3.5 Metodologias ativas de ensino desenvolvidas	24
3.5.1 Apresentação de <i>Caenorhabditis elegans</i> e Saúde-Única	24
3.5.2 Controle de qualidade em alimentos na perspectiva de Saúde-Única	26
3.5.3 Prospecção de uma farmácia viva comunitária em Saúde-Única	29
3.5.3.1 Portfólio educativo online como ferramenta de avaliação e produção científica	33
3.6 Resultados e Discussão	35
3.7 Conclusões	42
3.8 Referências	42
4. CAPÍTULO 2- Desenvolvendo um controle de qualidade alternativo para bebidas industriais: utilizando o organismo modelo <i>Caenorhabditis elegans</i> no ensino básico	51
4.1 Introdução ao artigo	51
4.2 Resumo	52
4.3 Introdução	53
4.4 Materiais e Métodos	54
4.5 Resultados e Discussão	57
4.6 Conclusões	59
4.7 Referências	60
5. CAPÍTULO 3 Nematicidal activity of Equine milk in <i>Caenorhabditis elegans</i>	63
5.1 Introdução ao artigo	63
5.2 Abstract	64
5.3 Introduction	64
5.4 Material and Methods	64
5.5 Results	65
5.6 Discussion	66

5.7 Conclusion	66
5.8 References	66
6. CAPÍTULO 4 <i>Caenorhabditis elegans</i> como um bioindicador de contaminações para controle de qualidade de Whey Protein.....	68
6.1 Introdução ao artigo.....	68
6.2 Resumo	69
6.3 Introdução.....	70
6.4 Material e Métodos.....	71
6.4.1 Seleção das amostras	71
6.4.2 Cultivo e Sincronização dos nematoides	72
6.4.3 Design do experimento.....	73
6.4.5 Estatística.....	73
6.5 Resultados e Discussão.....	73
6.6 Conclusões.....	75
6.7 Referências	75
7. CAPÍTULO 5 Desenvolvimento de um bioindicador de agrotóxicos superficiais em alimentos <i>in natura</i> utilizando <i>Caenorhabditis elegans</i> no ensino básico.....	79
7.1 Introdução ao artigo.....	79
7.2 Resumo	80
7.2 Introdução.....	81
7.2.1 <i>Caenorhabditis elegans</i> como modelo e seu potencial pluriversitário.....	82
7.4 Materiais e Métodos	86
7.4.1 Local de execução e Cultivo de <i>C. elegans</i>	86
7.4.2 Sincronização dos vermes	86
7.4.3 Design do experimento.....	87
7.5 Resultados e Discussão.....	90
7.6 Conclusões.....	92
7.7 Referências	92
8. CAPÍTULO 6 Atividade nematicida de fitoterápicos utilizando <i>Caenorhabditis elegans</i>: uma abordagem integrativa com metodologia ativa no ensino básico.....	96
8.1 Introdução ao artigo.....	96
8.2 Resumo	97
8.3 Introdução.....	98
8.4 Materiais e Métodos	100
8.4.1 Seleção dos fitoterápicos e Local de Análise	100
8.4.2 Cultivo dos nematóides	100

8.4.3 Sincronização dos vermes	101
8.4.4 Experimento de exposição aguda	101
8.4.5 Estatística.....	102
8.5 Resultados e Discussão.....	102
8.6 Considerações finais	105
8.7 Referências	105
9. CAPÍTULO 7 <i>Caenorhabditis elegans</i> como animal experimental para pesquisa de tratamentos contra intoxicações por plantas tóxicas.....	107
9.1 Introdução ao artigo.....	107
9.2 Resumo	108
9.3 Introdução.....	109
9.4 Materiais e Métodos	110
9.4.1 Local do estudo e Considerações éticas	110
9.4.2 Seleção de plantas e extração do extrato aquoso	110
9.4.3 Extração aquosa do <i>Ricinus Communis</i>	111
9.4.4 Cultivo de <i>Caenorhabditis elegans</i>	111
9.4.5 Sincronização dos vermes	111
9.4.6 Teste de sobrevivência.....	112
9.4.7 Seleção dos tratamentos pré-exposição	112
9.4.8 Experimento de exposição aos organismos	112
9.4.9 Estatística.....	113
9.5 Resultados e Discussão.....	113
9.6 Conclusões.....	116
9.7 Referências	116
10. CONCLUSÕES GERAIS	121
11. REFERÊNCIAS.....	122
12. ANEXOS.....	124
12.1 Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais- CEUA/UFV	125

1. INTRODUÇÃO GERAL

A integração entre ensino, pesquisa, extensão e inovação (IEPIE) é essencial para promover uma educação crítica e interdisciplinar que atenda aos desafios em todos os níveis e áreas educacionais. Dentre os inúmeros desafios de aprimorar a IEPIE, o campo de biologia e saúde tem seus desafios e aplicabilidades únicas. Assim, esse trabalho se guia por dois conceitos centrais: Saúde-Única e Pluriversidade Solidária (PS) (NOVAES *et al.*, 2022).

Saúde-Única é um conceito trabalhado em medicina humana e veterinária, nutrição e outras áreas da saúde. Dentro deste conceito, se visualiza as interconexões entre a saúde humana, animal e ambiental de forma integrada. Assim, tem alcance em várias áreas correlacionadas, trazendo uma proposta interdisciplinar ao conteúdo (HEUCKMANN & ZEYER, 2022).

Pluriversidade ou Pluriversidade Solidária, conceito desenvolvido por Boaventura de Souza Santos, propõe o desenvolvimento de projetos de extensão focados na horizontalidade e participação ativa de uma comunidade em pesquisas e divulgação científica com potencial de gerar transformações sociais (SOUZA SANTOS, 2008).

Este trabalho teve como objetivo explorar o uso de organismos invertebrados, em especial *C. elegans*, como ferramentas biotecnológicas para ações de extensão pluriversitárias no âmbito da Saúde-Única, abordando questões relacionadas à segurança alimentar, sustentabilidade e educação científica. *C. elegans* é um nematoide de vida livre, com cerca de 1 milímetro de tamanho quando adulto e que vive cerca de 21 dias em condições laboratoriais. Foi evidenciado pela primeira vez por Emile Maupas no final do século XX, porém ganhou destaque mundial quando se tornou organismo modelo pelas mãos de Sydney Brenner (FRÉZAL; FÉLIX, 2015; HEUCKMANN; ZEYER, 2022).

Utilizando treinamento em técnicas laboratoriais como metodologias ativas, *C. elegans* foi aplicado como ferramenta biotecnológica para análises em diferentes contextos, incluindo alimentos industriais e produtos de origem animal, e como recurso didático em atividades educacionais no ensino básico.

A tese desdobrou-se em capítulos que, de maneira integrada, demonstram a aplicabilidade de *C. elegans* e outros modelos em pesquisas científicas com impacto direto na formação acadêmica e no fortalecimento da relação entre ciência e sociedade.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral do trabalho foi desenvolver metodologias ativas de ensino utilizando técnicas laboratoriais com o uso de organismos modelo invertebrados, com foco em *Caenorhabditis elegans*. O trabalho está alinhado ao conceito de Pluriversidade Solidária e Saúde-Única, promovendo a conscientização sobre a interdependência entre saúde humana, animal e ambiental e estimulando uma abordagem crítica e ética na educação científica de forma horizontal.

2.2 Objetivos Específicos

- Revisar a literatura sobre o uso de *C. elegans* como modelo didático e sua aplicabilidade na educação científica e na perspectiva de Saúde-Única.
- Desenvolver e aplicar metodologias ativas utilizando *C. elegans* como ferramenta educacional para o ensino de biologia em escolas de ensino básico.
- Desenvolver trabalhos científicos onde sejam utilizados os organismos modelo em aplicações em Saúde-Única com participação de alunos do ensino básico.
- Divulgação dos trabalhos realizados por meio de eventos e artigos científicos.

3. CAPÍTULO 1- *Caenorhabditis elegans* como plataforma pluriversitária de extensão integrando ensino, pesquisa e inovação em saúde-única na educação básica

3.1 Introdução ao artigo

Este trabalho apresenta o desenvolvimento da tese de doutorado e do uso de *C. elegans* e outros organismos modelo invertebrados como ferramentas biotecnológicas pluriversitárias e integradas de ensino, pesquisa, extensão e inovação no ensino básico em Saúde-Única (GONÇALVES, 2016; KAHN, Laura H., 2017). Ao desenvolver ações didático-pedagógicas interdisciplinares em Saúde-Única, o trabalho buscou promover a construção do conhecimento científico de forma acessível e inclusiva, alinhada aos princípios de uma Pluriversidade Solidária, com impactos diretos na formação crítica e social dos estudantes (GLATER, 2022; KAHN, LH *et al.*, 2008, SOUZA SANTOS, 2008).

Assim, o trabalho ressalta a importância de metodologias ativas e da democratização do acesso às práticas científicas, estimulando a autonomia e o protagonismo dos alunos no processo educacional pluriversitário.

***Caenorhabditis elegans* COMO FERRAMENTA PLURIVERSITÁRIA DE EXTENSÃO INTEGRANDO ENSINO, PESQUISA E INOVAÇÃO EM SAÚDE-ÚNICA NA EDUCAÇÃO BÁSICA**

Resumo

A indissociabilidade entre ensino, pesquisa, inovação e extensão (IEPIE) pelas Universidades representa um desafio em todas as áreas do saber. A extensão, em especial por sua complexidade, apresenta dificuldades para a implementação de práticas educacionais integradas e com impacto social. Nesse contexto, a Pluriversidade Solidária (PS) apresenta-se como uma abordagem para extensão de conhecimentos importantes de forma comunitária, horizontal e interdisciplinar. Este estudo propõe a utilização de organismos modelo invertebrados, em especial o nematoide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como ferramenta didática. Esses organismos foram utilizados no ensino de biologia, alinhando-se ao conceito de Saúde-Única. O trabalho inclui uma revisão da literatura sobre o uso do modelo no ensino, a metodologia utilizada na implementação das atividades didáticas e a análise dos impactos gerados. Os resultados demonstram a viabilidade do uso dessas biotecnologias a partir dos conceitos de PS e Saúde-Única, evidenciando o potencial de metodologias ativas para estimular o pensamento crítico, a interdisciplinaridade e a participação ativa dos estudantes na construção do conhecimento científico que impacte sua comunidade.

Palavras-Chave: Metodologias ativas; Ensino de Saúde; Organismo modelo.

Abstract

The inseparability of teaching, research, innovation and extension (IEPIE) by universities represents a challenge in all areas of knowledge. Extension, in particular, due to its complexity, presents difficulties for the implementation of integrated educational practices with social impact. In this context, Solidarity Pluriversity (PS) presents itself as an approach for the extension of important knowledge in a community-based, horizontal and interdisciplinary way. This study proposes the use of invertebrate model organisms, especially the nematode *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) as a teaching tool. These organisms were used in biology teaching, in line with the concept of One Health. The work includes a review of the literature on the use of the model in teaching, the methodology used in the implementation of teaching activities and the analysis of the impacts generated. The results demonstrate the viability of

using these biotechnologies based on the concepts of PS and One Health, highlighting the potential of active methodologies to stimulate critical thinking, interdisciplinarity and the active participation of students in the construction of scientific knowledge that impacts their community.

Keywords: Active Methodology; Health Education; Pluriversity.

3.2 Introdução

A indissociabilidade entre ensino, pesquisa, inovação e extensão (IEPIE) nas Universidades é uma prática complexa que exige abordagens multifacetadas por parte de pesquisadores, professores e suas comunidades (Brasil, 1988; Castro & Alves, 2017). Embora os conceitos de ensino, pesquisa e inovação sejam bem definidos, a extensão universitária permanece intrinsecamente complexa, com instituições de ensino superior enfrentando desafios para estabelecer projetos com impacto científico e social significativo (Cabral, 2012; de Souza Santos, 1997; Souza Santos, 2008).

Nesse contexto, os conceitos de Pluriversidade e Pluriversidade Solidária (PS) emergiram como propostas para criar formas de extensão mais concretas e instrumentalizadas, promovendo a difusão de conhecimentos importantes (Guilherme et al., 2015). A PS enfatiza a criação de ambientes de aprendizagem inclusivos, onde o conhecimento é gerado, compartilhado e valorizado em comunidade, incentivando o diálogo interdisciplinar e a ocupação de espaços onde diferentes abordagens possam ser desenvolvidas e compartilhadas (Souza Santos, 2008).

A interdisciplinaridade na educação é essencial para formar indivíduos críticos capazes de compreender múltiplos aspectos históricos e as demandas sociais da atualidade (Brasil, 1931; Castro & Alves, 2017). Na educação brasileira, a interdisciplinaridade tem ganhado destaque no ensino básico, se tornando base nas Diretrizes Curriculares Nacionais para o Ensino Médio, visando formar cidadãos participativos e transformadores da sociedade (Brasil, 2013).

Na área saúde, o conceito de Saúde-Única também tem se destacado como uma abordagem inovadora que considera e projeta soluções para a saúde humana, animal e ambiental de forma integrada (Delgado & Kovacevic, 2021). Como abordagem interdisciplinar tem sido aplicada com grande potencial em diversas áreas, como nutrição, medicina, ecologia e sociologia, promovendo a saúde de forma integrada (Casemiro et al., 2014).

O uso de organismos modelos como *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) no ensino e pesquisa tem se mostrado promissor. É um modelo de pesquisa comunitário colaborativo

mundial com iniciativas importantes de difusão de conhecimento científico de forma livre e aberta. *C. elegans* é um nematoide não patogênico, de baixo custo de manutenção e com características biológicas que o tornam ideal para estudos interdisciplinares e aplicações no ensino básico (Doke & Dhawale, 2015; Yue et al., 2021). Além disso, por ser um invertebrado, seu uso não requer aprovação de comitês de ética, o que facilita sua aplicação em ambientes de pesquisa e educacionais (Andersen et al., 2008).

Este trabalho propõe a utilização de *C. elegans* e outros organismos invertebrados como ferramentas biotecnológicas comunitária e horizontal de extensão e ensino, integrando pesquisa e inovação em escolas de ensino básico. Assim, o estudo se guia pela seguinte pergunta de pesquisa: De que maneira a utilização de *C. elegans* e do conceito de Saúde-Única podem ser viabilizadas de um modo pluriversitário para contribuir na integração dos diferentes aspectos entre o alcance da ciência em uma comunidade? Dessa forma, o objetivo foi desenvolver e avaliar a aplicabilidade de métodos que executem a IEPIE no eixo da PS, permitindo que os alunos do ensino básico realizem pesquisas de impacto em Saúde-Única durante suas aulas e gerem conhecimentos aplicáveis em suas realidades.

O artigo se estrutura iniciando com uma revisão de literatura sobre PS, ensino de Saúde-Única e *C. elegans* como ferramenta educacional, seguida dos materiais e métodos utilizados na aplicação das aulas propostas. Por fim, são discutidos os resultados da aplicação dos métodos nos colégios participantes e sistematizadas considerações relevantes para o aprofundamento e enriquecimento das metodologias propostas.

3.3 Pluriversidade Solidária, Ensino de Saúde-Única e *Caenorhabditis elegans*

De acordo com Boaventura, projetos pluriversitários de divulgação científica onde os alunos de escolas de ensino básico participam e aprendem com pesquisas científicas já existem. O Projeto Ciência Viva em Portugal tem destaque. O projeto é uma iniciativa que busca incentivar a popularização da ciência e da tecnologia junto à sociedade portuguesa, especialmente entre os jovens estudantes (Souza Santos, 2008).

Ele foi criado em 1996 e tem como objetivo despertar a curiosidade científica nos alunos das escolas de ensino básico e secundário, por meio de atividades experimentais e interativas, visitas a laboratórios e museus, workshops e outras atividades. O projeto envolve uma rede de centros e clubes Ciência Viva espalhados por todo o país, que oferecem diversas atividades para os estudantes e professores, como oficinas, palestras, exposições e experimentos científicos.

Além disso, o projeto também promove a realização de concursos e feiras de ciência, onde os estudantes podem apresentar suas próprias pesquisas e projetos (Nunes, 2021).

Outro projeto recente, idealizado pelo economista Rogério Roque Amaro, criou em bairros desfavorecidos de Lisboa em Portugal uma Pluriversidade Comunitária. Onde os moradores desses bairros, juntamente com acadêmicos, decidem os temas e desenvolvem aulas que circulam conhecimentos com potencial impacto para essas comunidades (Reis, 2022). Essas importantes iniciativas de PS são formas de divulgação científica que buscam aproximar a ciência da sociedade, estimulando o interesse e a curiosidade nos estudantes e promovendo o desenvolvimento da educação científica em diversas áreas do saber, como o ensino de Saúde.

Aprender sobre Saúde gera desafios únicos de ensino, pois necessita conectar conhecimentos técnicos com a vivência dos alunos, alinhando novas perspectivas ao acesso e difusão do conhecimento científico. Uma plataforma que necessita ser difundida dentro do ensino de Saúde e que pode agregar no ensino de Biologia é o conceito de Saúde-Única. Abordagem integrada e colaborativa para a saúde humana, animal e ambiental (Heuckmann & Zeyer, 2022; Kahn et al., 2008).

O conceito trabalha em reconhecer que a saúde de todas essas três áreas está interconectada. Portanto, devem ser tratadas de forma conjunta para se alcançar melhores resultados na promoção de saúde e na prevenção de doenças em todas as esferas da vida. Assim, do ponto de vista de ensino, é um campo de estudo interdisciplinar, principalmente em Biologia, pois ao se visualizar um conceito biológico técnico ligado a saúde, cria-se na sala de aula conexões entre o indivíduo e seu ambiente em diversos níveis sociais (Heuckmann & Zeyer, 2022; Kahn et al., 2008).

Apesar de poucas associações com Saúde-Única, *C. elegans* é uma plataforma em total consoante com o conceito. Possui diferentes metodologias para análises que envolvem amostras biológicas de humanos e animais, além de outras como controle de qualidade de medicamentos, dá água, solo, de efluentes, pesquisa com defensivos agrícolas e inocuidade alimentar (Aballay, 2002; Clavijo et al., 2016; Von Mikecz, 2022). *C. elegans* e suas aplicações vêm se estabelecendo como uma importante base metodológica para análises ambientais como: da qualidade da água, do solo, do ar e de outros compostos compatíveis através do desenvolvimento da norma internacional de padronização ISO (International Organization for Standardization) 10872 (Höss et al., 2012; Höss & Römbke, 2019).

O uso do modelo na busca de soluções para problemas em Saúde tem tido grande impacto em diferentes subáreas, como em pesquisas na busca de novos agentes antimicrobianos, antifúngicos e antivirais, contra a crescente resistência a multidrogas.

Utilizando o nematoide como modelo de infecção com microrganismos patogênicos é possível estudar fatores ligados com a patogenicidade desses microrganismos utilizando métodos de genética reversa. Também tem destaque em ensaios toxicológicos, possuindo inúmeras metodologias para avaliação da qualidade e viabilidade de nanomateriais, extratos naturais, alimentos e outros produtos de uso humano e animal (Frézal & Félix, 2015; Von Mikecz, 2022).

Doenças que acometem animais e o ambiente e como nós humanos gerenciamos esses agravos tem direto efeito sobre a nossa saúde. Assim, é importante criar a percepção entre os alunos que ciências, a saúde individual e coletiva faz parte de um empreendimento humano/social. Onde o processo educacional crie um ambiente de construção de conhecimento sobre o mundo natural, consolidando ações que podem vir a somar na resolução dos nossos problemas. As ciências por serem uma atividade realizada por humanos, usa da crítica como forma de analisar o ambiente de forma reflexiva. Atualidades no campo da educação apontam para a necessidade de incorporar no ensino por investigação a concepção de que esse processo seja “interativo e dialógico, baseado em atividades capazes de criar a possibilidade os alunos a entenderem as explicações científicas para além dos discursos autoritários, prescritivos e dogmáticos” (Pinheiro et al., 2007; Munford & Lima, 2007).

A primeira aparição de *C. elegans* como plataforma de ensino partiu de Sydney Brenner que iniciou um projeto de utilização de nematoides em escolas de ensino básico na década de 70 em Singapura, porém não se tem muitas informações sobre como se procedeu esse projeto (Corsi et al., 2015).

Outra iniciativa grande foi o portal educacional WormClass, que oferece diversos artigos, modelos, material de aulas e estudos utilizando o nematoide. Infelizmente o projeto também não se prolongou, não sendo mais atualizado, porém continua online e seu material disponível (Lu et al., 2007). As plataformas de informações sobre o nematoide como WormAtlas e WormBook são atualizadas frequentemente e formam uma excelente base de dados para estudos com o verme. A alta acessibilidade de informações sobre o verme, mesmo que em inglês, abrem inúmeros caminhos para sua difusão como ferramenta de ensino em aulas de biologia (WormAtlas, 2024; WormBook, 2024).

Apesar de um grande dispêndio de trabalho nos sites institucionais e educacionais com o modelo, poucas iniciativas organizacionais mais complexas são observadas. Onde apenas alguns trabalhos com pequenos grupos isolados utilizando o verme como ferramenta de ensino são encontrados.

Lu e colaboradores desenvolveram aulas e avaliaram o aprendizado de estudantes utilizando os sites institucionais de *C. elegans* e aulas práticas focando no ensino sobre divisões

celulares e desenvolvimento embrionário. Nestes trabalhos, os autores ressaltam a importância de metodologias inovadoras para o ensino de biologia focado no desenvolvimento embrionário, onde foi avaliado que os estudantes possuem dificuldades em compreender conceitos básicos, como a constância do volume durante a clivagem e a formação dos eixos corporais (Lu et al., 2007, 2008).

No mesmo estudo, a utilização de vídeos e outros recursos visuais dos sites institucionais, como imagens de embriões de *C. elegans*, permitiram aos alunos, acesso a novas ferramentas de ensino, potencializando a sua compreensão sobre biologia celular. A incorporação de recursos adicionais, como embriões de diferentes organismos e a utilização de vídeos de organismos geneticamente modificados com proteínas fluorescentes para visualizar padrões de expressão gênica, pode representar um caminho com grande potencial de aprofundar o ensino de biologia (Lu et al., 2007, 2008).

Também foram desenvolvidas aulas sobre RNA de interferência (RNAi, do inglês *RNA interference*) e suas aplicações com o verme, onde foi possível silenciar genes junto aos alunos utilizando bactérias geneticamente modificadas. A abordagem experimental apresentada pelos autores, permitiu que os estudantes compreendessem conceitos fundamentais de genética ao manipularem diretamente a expressão gênica e analisarem fenótipos resultantes, como a contração muscular alterada no gene *unc-22* e a deficiência de quimiotaxia no gene *lsy-2*. De acordo com os autores, o impacto educacional do modelo demonstrou grande acessibilidade para o ensino laboratorial. Proporcionando uma alternativa eficaz para o aprendizado experimental sem o uso de vertebrados e preparando futuros pesquisadores e profissionais da saúde para aplicações biotecnológicas emergentes (Andersen et al., 2008).

Groth e colaboradores utilizaram o verme em cursos sobre biologia do câncer para demonstrar e aprofundar conceitos fundamentais relacionados à proliferação celular desregulada e mutações ontogênicas. O trabalho permitiu que os estudantes analisassem os efeitos de mutações no verme, correlacionando genótipo e fenótipo de maneira prática e interativa. A abordagem incluiu a caracterização fenotípica de mutações de perda e ganho de função, além da genotipagem e análise de sequências proteicas, promovendo uma compreensão integrada dos mecanismos moleculares do câncer. De acordo com os autores, essa estratégia ampliou a acessibilidade ao ensino experimental em instituições de ensino básico com infraestrutura limitada, já que se utilizou dos laboratórios de ponta da Universidade como ponte para extensão integrada ao ensino. Os autores reforçam que trabalhos como estes fortalecem a formação dos estudantes ao proporcionar experiência em biologia molecular, genética e

bioinformática, demonstrando o potencial de *C. elegans* como ferramenta educacional versátil e eficaz (Groth, 2019).

Em outro trabalho, o uso de *C. elegans* em projetos de ensino e pesquisa de curta duração foi evidenciado como altamente vantajoso devido a características técnicas e éticas, como biologia bem caracterizada, ciclo de vida curto e facilidade de manipulação em laboratório. No entanto, de acordo com os autores, a introdução desse organismo em atividades didáticas pode ser desafiadora para educadores sem experiência prévia (Glater, 2022).

Deffit e colaboradores desenvolveram projetos curtos envolvendo o comportamento do animal, mostrando bons resultados em relação ao interesse dos alunos. Segundo os autores, o uso de *C. elegans* como organismo modelo em um modelo de pesquisa com módulo laboratorial curto (de quatro a cinco dias) permitiu que alunos do ensino básico desenvolvessem suas perguntas de pesquisa, trabalhassem na elaboração de hipóteses, conduzissem seus experimentos e análise dos seus dados, promovendo uma experiência autêntica de pesquisa científica. Essa abordagem facilitou a compreensão do processo científico e incentivou a interação entre estudantes, professores e pesquisadores, fortalecendo a conexão entre a educação básica e a prática científica realizadas na Universidade. Os resultados desse modelo de ensino/pesquisa indicaram um aumento no interesse dos estudantes por carreiras em biologia e uma redução na percepção negativa sobre a disciplina, evidenciando o potencial do ensino investigativo para transformar o aprendizado e estimular futuras vocações científicas (Deffit et al., 2017).

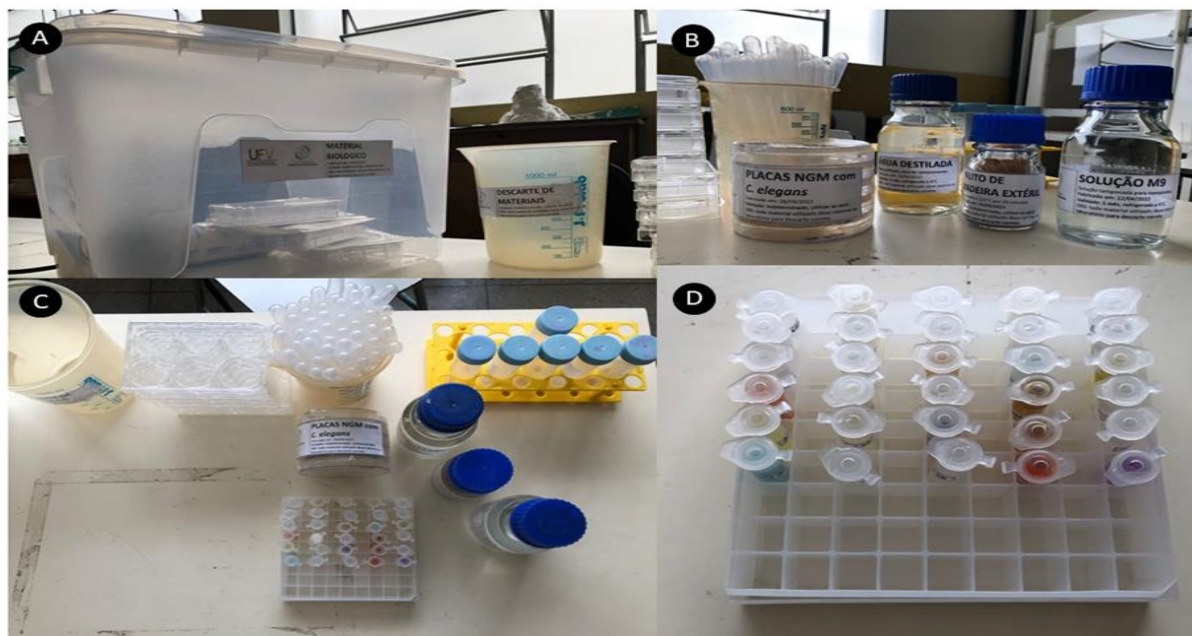
Apesar do uso de *C. elegans* no ensino de Biologia para ilustrar conceitos e processos de forma interativa, sua aplicação no ensino voltado para a Saúde ainda não foi explorado. Os trabalhos analisados demonstram grande versatilidade do organismo como ferramenta biotecnológica, com potencial para integrar abordagens inovadoras no ensino de Saúde-Única e na educação sobre doenças e impactos ambientais. No entanto, há lacunas a serem preenchidas na utilização do modelo para fomentar a percepção interdisciplinar entre biologia, saúde e sociedade, abrindo espaço para novas iniciativas educacionais que ampliem essa conexão.

3.4 Material e Métodos

Após os primeiros contatos com os Professores de Biologia e Ciências das instituições de ensino selecionadas, as coordenações das instituições receberam o projeto sobre as aulas a serem apresentadas aos alunos. Com aceite formal da instituição autorizando a execução do projeto,

foram programadas aulas para diversas turmas dos anos finais do ensino fundamental e ensino médio. Para todas as aulas práticas foram confeccionados kits de pesquisa (Figura 1).

Figura 1. Fotos do material básico de aula prática utilizado nos projetos. A- Todo material foi esterilizado e após seu uso teve obrigatoriamente que voltar para os laboratórios da Universidade para descarte de acordo com protocolos da instituição. B- Meios de cultivo e *Caenorhabditis elegans*, Água destilada, Palitos de madeira e Solução Tampão. C- Placa de 6 poços, Pipeta Pasteur e tubos Falcon. D- Amostras numeradas com diferentes compostos.



Fonte: Autores (2025).

Esse conjunto de materiais produzidos e esterilizados nos laboratórios do Departamento de Medicina Veterinária, variaram a cada prática. Em geral continham meios de cultivo com cepas de *C. elegans* e *Escherichia coli* (fonte de alimento para os vermes), meios tamponados, materiais para exposição como micropipetas automáticas e ponteiras, além das amostras utilizadas. Foi utilizado a norma ISO 10852 de 2020 e o Guia Básico para Pesquisadores em *Caenorhabditis elegans* para padronizar os meios, metodologias, formas de exposição e testes utilizando o modelo (Gubert, 2022; ISO, 2020).

Para segurança dos alunos foram utilizadas placas de petri, pipetas e outros materiais de plástico para evitar acidentes com perfurocortantes como vidro e agulhas. Todas as amostras utilizadas nos testes são de alimentos e produtos atóxicos previamente evidenciados. O nível de biossegurança necessário para trabalhar com o modelo depende das circunstâncias específicas e do uso pretendido dos organismos. Em geral, *C. elegans* é considerado um organismo de baixo risco e requer um nível baixo de biossegurança. No entanto, medidas de biossegurança ainda devem estar em vigor para garantir o manuseio seguro e responsável dos organismos.

Assim, como essas práticas foram desenvolvidas para não conter nenhum agente perigoso aos estudantes, os mesmos utilizaram os materiais de laboratório sem a necessidade obrigatória do uso de equipamentos individuais de segurança. Atentando somente para boas práticas de manuseio dos meios e do uso dos equipamentos.

Foram utilizadas cepas de *C. elegans* e de *E. coli* OP50 de origem do *Caenorhabditis Genetics Center* (CGC). Outros modelos utilizados, como Artêmias, *Paramecium* sp, *Drosophila* sp e *Aedes aegypti* foram isoladas do ambiente, adquiridos em sites especializados ou doados pelo Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa e cultivados de acordo com protocolos estabelecidos (Caravaca & Lei, 2016; Fernandes Salgueiro et al., 2018; Miranda, 2012; Nova et al., 2023).

Todos os materiais utilizados voltaram para os laboratórios do departamento após as aulas propostas para descarte de acordo com o programa de resíduos de pesquisa da instituição.

3.5 Metodologias ativas de ensino desenvolvidas

3.5.1 Apresentação de *Caenorhabditis elegans* e Saúde-Única

Esse primeiro modelo de aula foi planejado para ter duração média de uma hora e meia (dois horários no modelo dos colégios). Assim, apresentou para os alunos o nematoide organismo modelo como um ponto central no conceito de Saúde-Única. Sua história e características técnicas e éticas foram elucidadas nas aulas teóricas e em sequência foram realizadas as práticas em laboratório.

Os alunos visualizam como nematoides são classificados de acordo com seu habitat. Existem nematóides de vida livre, como *C. elegans* que não parasitam nenhum animal em nenhuma etapa do seu ciclo de vida. Há também nematóides que parasitam plantas e outros animais. Os nematóides parasitas causam mortes e doenças em humanos, animais e plantas. Isso gera incontáveis perdas econômicas no tratamento em humanos e animais e com o uso de agrotóxicos para manejo de plantações. O uso indiscriminado e sem controle de agrotóxicos causa danos à vida de toda a população através da água, do ar e de alimentos contaminados. Esses agravos se intensificam em mulheres, crianças, indígenas e pessoas que vivem perto dessas fontes de contaminação (Bombardi, 2023).

Outra característica importante é a capacidade dos nematoides se tornarem resistentes a drogas e agrotóxicos. Assim, existe a demanda de inovação em agentes nematicidas para o uso em humanos, animais e como defensivos agrícolas agroecológicos. Nessa discussão os alunos

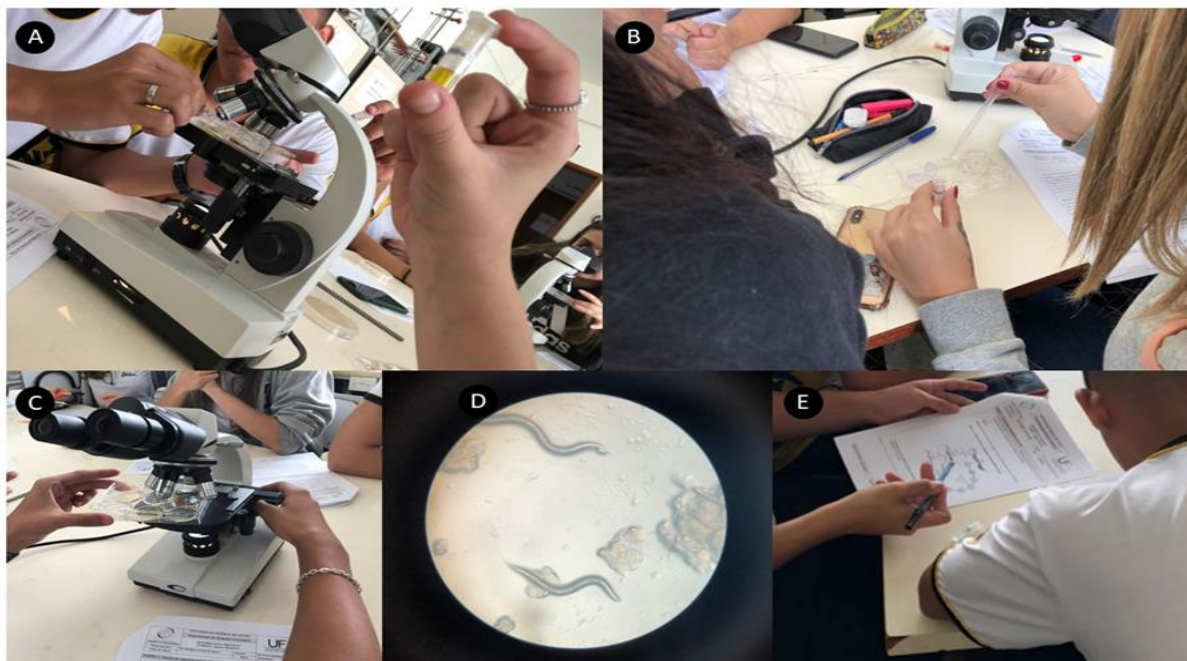
evidenciaram em grupo como a experimentação com animais invertebrados, podem ser úteis para de forma simples evidenciar novos materiais com bioatividades úteis para a solução de problemas em Saúde-Única. Como agentes nematicidas, aqueles que têm capacidade de gerar mortalidade ou servir como controle biológico de parasitas para esses animais. Os alunos na prática podem a partir de métodos científicos analisar produtos cotidianos e de fácil alcance que possam apresentar essas bioatividades e gerar inovação biotecnológica para ajudar a solucionar esse tipo de problema (BURNS et al., 2015).

Para esse modelo de aula foram selecionados alimentos, fitoterápicos, infusões e chás (Figura 1-D). Amostras de água filtrada de consumo dos alunos no colégio também foram utilizadas. Para cada aluno foi sorteada uma amostra. Cada aluno recebeu um relatório a ser preenchido durante a prática e que serviu de método avaliativo para a disciplina de Biologia com o professor. O primeiro passo da prática foi uma análise sensorial da amostra recebida, onde o aluno avaliou a cor, turbidez, viscosidade e cheiro (Figura 2-A).

Em sequência, os alunos utilizaram os meios tamponados para coletar os animais das placas e expor suas amostras. Um rápido treinamento para o uso das pipetas pasteur para a manipulação dos materiais foi realizado. As amostras foram expostas na proporção de 50% em meio tamponado por meia hora. Durante o tempo de exposição, os alunos aprenderam e puderam visualizar a anatomia de vermes em todos seus estágios larvais no microscópio. Com um breve treinamento de microscopia, puderam visualizar seus sistemas digestório e reprodutor, a cutícula e outras estruturas. Foi apresentado para os alunos todas as fases larvais dos vermes, salientando sobre o ciclo de vida do animal.

Ao fim do tempo de exposição os alunos colocaram as placas nos microscópios e filmaram com seus aparelhos de celular os nematoides para avaliar o efeito de cada composto sobre aquelas populações em relação ao seu grupo controle (Foi utilizado o meio tamponado). Alguns alunos verificaram que nada aconteceu, todos os vermes expostos estavam se mexendo enquanto que em algumas amostras se apresentou 100% de letalidade, onde os vermes não apresentaram nenhum movimento após ser observado por alguns segundos.

Figura 2. Apresentação de *Caenorhabditis elegans* e Saúde-Única. A- Avaliação sensorial do material recebido. B- Pipetagem e exposição do verme ao composto. C- Após meia hora de exposição foi realizada a leitura das placas. D- Foto tirada pelos estudantes utilizando os seus próprios aparelhos de celular. E- Relatório preenchido por cada aluno durante a aula prática.



Fonte: Autores (2025).

Os alunos preencheram os relatórios com seus resultados (Figura 2-E). No final da aula proposta os alunos tiveram que justificar no relatório se há possibilidade do uso desse material como um possível vermífugo natural para humanos e animais e/ou como um defensivo agrícola agroecológico. Com esse modelo de aula os alunos tiveram contato com uma pesquisa de agentes nematicidas dentro do conceito de Saúde-Única.

3.5.2 Controle de qualidade em alimentos na perspectiva de Saúde-Única

Juntamente com o professor de biologia foi desenvolvida esse modelo de aula foi aplicado em duas turmas de segundo ano do ensino médio. As atividades em laboratório foram realizadas fora do horário de aula com intuito dos alunos construírem trabalhos científicos para a feira de ciências do colégio.

Essas aulas aplicadas tiveram duração de duas tardes por 3 horas, totalizando cerca de 6 horas por grupo de pesquisa. Participaram cerca de 60 alunos. Na parte teórica das aulas de biologia dada juntamente com o professor os alunos participaram de uma palestra sobre contaminações em alimentos na perspectiva de Saúde-Única. Dessa forma, os alunos visualizaram que as intoxicações alimentares representam um desafio substancial para a saúde

pública. Essas intoxicações são causadas por diferentes fontes de contaminação, como substâncias químicas, microrganismos e/ou seus subprodutos tóxicos. Intoxicações alimentares geram uma extensa variedade de agravos à saúde, incluindo casos com sequelas irreversíveis e fatais (Bernardes et al., 2018).

De acordo com a OMS (2015), anualmente, cerca de 420 mil pessoas morrem e 600 mil têm danos à sua saúde após ingerirem alimentos contaminados (WHO, 2015). Assim, é indicado monitorização ampla e constante desses alimentos para reduzir tais riscos. A série de óbitos associados ao consumo de alimentos contaminadas, com destaque para cervejas contaminadas por dietilenoglicol, e a consequente repercussão midiática, evidenciam a relevância dos riscos à saúde pública. Esse exemplo atual demonstra para os alunos que a contaminação de alimentos e bebidas, demanda análises aprofundadas dos processos de produção e controle de qualidade (CQ) (Caldeira et al., 2021; Mansur, 2022).

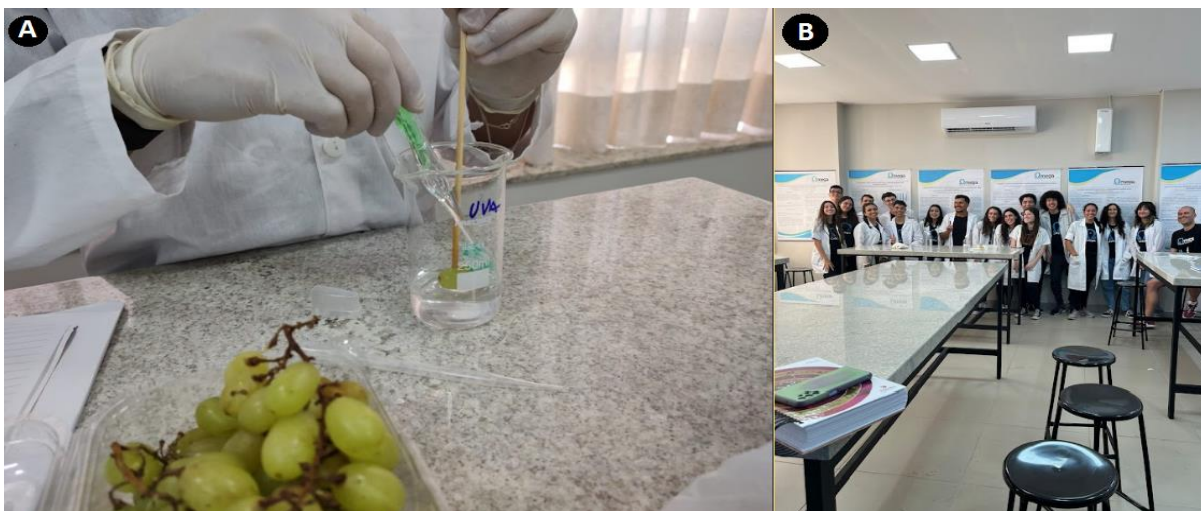
Existem lacunas significativas na detecção de desvios na cadeia produtiva de alimentos e na mitigação de potenciais riscos. Isso destaca a necessidade contínua de pesquisa e inovação no CQ desses produtos. Assim, além de inovação nesses CQ, é importante o desenvolvimento de formas da própria comunidade realizar testes do que consome, somando aos já realizados pelo estado e iniciativa privada (Teixeira & Gemal, 2014).

Foi proposto que os alunos desenvolvessem controles de qualidade alternativos utilizando o modelo para monitoramento de alimentos. As duas turmas se dividiram em 6 grupos, assim, para esses trabalhos os alunos tiveram a oportunidade de escolher quais alimentos iriam analisar utilizando o modelo.

Um grupo analisou a presença de agentes tóxicos na superfície de alimentos *in natura*. Agrotóxicos podem ser classificados de acordo com sua presença no alimento. Os sistêmicos estão em toda a massa do alimento. Enquanto, os agrotóxicos de superfície se encontram nas cascas dos vegetais. Isso se deve a características de aplicação desses agrotóxicos. Não é possível retirar os agrotóxicos sistêmicos dos alimentos. Para os de superfície, as agências de vigilância sanitária indicam a lavagem e higienização para retirar o máximo possível desses agentes tóxicos. Nesse modelo de aula o principal objetivo foi demonstrar para os alunos de forma prática a existência de agentes tóxicos nos alimentos capazes de gerar mortalidade em populações de vermes.

Foram selecionados os vegetais pimentão, uva, tomate cereja e goiaba, todos adquiridos no comércio local de Viçosa-MG, em diferentes estabelecimentos para a testagem com *C. elegans*. Cerca de 300 gramas dos alimentos foram lavados por fricção em 30ml de água destilada com escovas de dente novas e higienizadas (Figura 3-A).

Figura 3. Controle de Qualidade em Alimentos na perspectiva de Saúde-Única. A- Lavagem de uvas em água destilada a fim de concentrar os resíduos da superfície desses alimentos para exposição ao *C. elegans*. B- Apresentação dos pôsteres na feira de ciência do colégio com os alunos do segundo ano do ensino médio.



Fonte: Autores (2025).

Dos 12 alimentos testados, em 5 houve média de mortalidade significativa dos nematóides testados em relação ao controle ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste (Fay, 2013). Este trabalho foi apresentado em forma de pôster para o Simpósio de Integração Acadêmica de 2023 da UFV.

Os outros grupos selecionaram 25 amostras de diferentes alimentos industriais comercializados localmente. Os alunos alocaram em eppendorfs alíquotas de diferentes lotes de refrigerantes, águas minerais e sucos de frutas, além de amostras de Whey Proteína, totalizando 125 amostras. Essas amostras foram mantidas no laboratório em temperatura ambiente e protegidas da luz até o momento da análise. As análises foram realizadas no laboratório de ciências do colégio fora do horário de aula. Em todas as amostras de refrigerantes, água mineral e Whey Proteína não houve diferença estatística relevante entre a sobrevivência dos vermes em relação ao controle negativo após 24 horas de exposição. Esses grupos experimentais, incluindo o controle negativo (nematóides expostos apenas ao meio tamponado), apresentaram taxas de sobrevivência superiores a 97%, indicando que não houve efeito tóxico agudo desses alimentos nas condições testadas. O controle positivo (NaClO a 10%) apresentou 100% de mortalidade, indicando a já conhecida toxicidade aguda do Hipoclorito de Sódio no modelo.

Foi possível evidenciar a mortalidade de animais com relevância estatística em relação ao controle negativo nas populações de vermes expostos a algumas amostras de suco de uva e cerveja testadas (Fay, 2013). Para essas amostras, mais testes devem ser realizados para se evidenciar o que causou a mortalidade e se a metodologia é compatível com o produto.

A escolha de *C. elegans* como bioindicador foi fundamentada na sua alta sensibilidade a diversos agentes tóxicos encontrados em alimentos e na facilidade de manipulação em laboratório. Estudos anteriores já utilizaram o modelo na detecção de toxicidade em outros tipos de amostras alimentares, como água, sucos, e outras bebidas industriais (Clavijo et al., 2016; Mudd & Liceaga, 2022; Zhang et al., 2022).

A ausência de mortalidade dos nematóides expostos nas amostras de refrigerantes, água mineral e Whey Proteína sugere que esses alimentos analisados são seguros em termos de toxicidade de agentes sensíveis ao nematóides sob as condições experimentais empregadas. Os resultados foram apresentados em forma de pôster durante a feira de ciências do colégio (Figura 3-B).

3.5.3 Prospecção de uma farmácia viva comunitária em Saúde-Única

Durante o ano letivo de 2024 se desenvolveu junto ao colégio uma disciplina quinzenal com o tema Biotecnologia e Saúde-Única. Essa metodologia de ensino foi ofertada para 7 turmas, 5 dos anos finais do ensino fundamental e 2 de ensino médio, totalizando cerca de 200 alunos. Essa disciplina se constituiu de várias aulas teóricas e práticas.

As aulas práticas eram realizadas no laboratório do colégio, que é um local espaço com ar condicionado e que possui pias com armários, um microscópio com câmera ligado a uma Tv de LCD. Possui também um kit de micropipetas, vidrarias básicas e alguns modelos anatômicos humanos. O intuito principal era a partir de teorias sobre Saúde-Única e práticas em laboratório, que os alunos aumentassem seu crivo de informações sobre o tema e construíssem durante este processo um trabalho científico prospectando bioatividades de interesse em Saúde-Única. Para cada aula teórica os alunos tiveram uma aula prática em laboratório. Para se desenvolver um trabalho complexo com esses alunos, uma série de práticas foram realizadas a fim desses estudantes adquirirem capacidades técnicas importantes.

As aulas teóricas seguiram o sistema de cores da biotecnologia, onde em cada aula se abordou um tema referente aquela área de conhecimento dentro de uma perspectiva de Saúde-Única. Na aula de apresentação da disciplina abordamos a estética Solarpunk como forma de se imaginar futuros possíveis. Essas visualizações de futuro se opõem à estética Cyberpunk,

que combina elementos de alta tecnologia a baixa qualidade de vida, onde se imagina um futuro distópico e a decadência urbana. Na visão de futuros possíveis sobre a ótica Solarpunk, imagine-se futuros sustentáveis e otimistas, onde a tecnologia se desenvolveu para ser utilizada em harmonia com a natureza, criando condições materiais para uma vida saudável de humanos, animais e do ambiente, sendo socialmente justos e alimentados por energias renováveis (Reina-Rozo, 2021).

A partir dessa aula teórica, foram abordados temas referentes a suas áreas. Na biotecnologia Vermelha, falamos sobre as principais causas de câncer, órgãos vitais sendo projetados por meio de cultivos celulares e a ética nessas pesquisas utilizando o caso Henrietta Lacks (Paiva, 2019). Na aula de biotecnologia Verde, discutimos sobre o “Dust Bowl”, evento climático de efeito humano sobre regiões produtivas nos Estados Unidos. Esse evento culminou no que ficou conhecido como “primeira verde”, o início do uso de fertilizantes químicos e agrotóxicos em larga escala. Foi evidenciado com os alunos, estudos sobre o uso de Glifosato, e seus efeitos à saúde de humanos e animais (Rodrigues et al., 2021).

Durante a aula de biotecnologia roxa, se abordou sobre neurobiologia e neuroinformática, os alunos conheceram o projeto OpenWorm, parceria internacional de diversos cientistas que trabalham com o verme em construir uma plataforma comunitária de conhecimentos sobre o animal e uma versão online do animal para pesquisa. Na biotecnologia Azul, falamos sobre o impacto de ações humanas sobre os oceanos e como isso afeta a vida no planeta. O plástico, microplástico e nanoplástico como contaminantes e agentes disruptivos do sistema endócrino, levando a evidências do seu efeito sobre a fertilidade de animais e humanos (Bugatti et al., 2023; Silva & Melo Júnior, 2023). Utilizamos pesquisas sobre a síndrome de Ftalatos em crianças e adultos como base de discussão em sala de aula (Rodrigues et al., 2021).

Na biotecnologia amarela, houve uma roda de discussão sobre alimentos funcionais e como poderíamos utilizar agentes naturais para conservar esses alimentos e potencializar suas bioatividades. Na biotecnologia Roxa, discutimos sobre ética na experimentação animal e humana. Discutimos sobre o julgamento de Nuremberg e como os acontecimentos da segunda guerra mundial influenciaram a ética e as legislações nas próximas décadas (Fischer et al., 2023). Abordamos temas como o tratado de Nuremberg e os 3R's da experimentação animal de Rush and Brush. Todas as aulas teóricas foram projetadas com objetivo de se evidenciar ao máximo as conexões entre a saúde humana, animal e ambiental (Cancino Rodezno & Zapata Clavería, 2023).

Para as práticas se seguiu uma lógica crescente de treinamentos onde objetivo foi cadenciar uma sequência de treinamentos básicos que se complementassem para desenvolver a

prospecção de agentes naturais com bioatividades de interesse em Saúde-Única ou avaliassem os efeitos sobre materiais e alimentos de uso humano. As primeiras séries de aulas foram conduzidas como uma base para os momentos em laboratório serem produtivos seguindo boas práticas.

Uso de equipamentos de proteção individual e coletivos e noções de biossegurança foram abordados. Em sequência os alunos receberam o manual do aparelho microscópio e foram treinados para seu uso. Foram desenvolvidas práticas que construísssem com os alunos os métodos de cultivo e preparação das amostras e do modelo para exposição. Os estudantes apreenderam sobre a técnica de sincronização, utilizada para se obter cultivos de animais com a mesma idade e estagio larval. E de filtração em cascata da ISO 10852 para se obter larvas juvenis para determinados testes (Gubert, 2022; ISO, 2020).

Também aprenderam como avaliar a sobrevivência dos animais através do teste de estímulo mecânico. Assim, como os meios tamponados para exposição e a técnica de diluição seriada, para realizarem os testes de exposição e visualizarem os efeitos dos seus materiais de teste em diferentes concentrações (Gubert, 2022; ISO, 2020).

Os alunos foram divididos em grupos de três a quatro pessoas. Cada grupo escolheu seus componentes e um material para análise. Formaram-se cerca de 40 grupos de pesquisa. Os alunos selecionaram os seguintes agentes naturais e de uso humano para análise:

- Óleos essenciais de: Açafrão-da-terra (*Curcuma ionga*), Copaíba (*Copaifera reticulata*), Laranja-azedada (*Citrus arantium*), Alecrim-do-campo (*Bacharis dracunculifolia*), Erva-baleeira (*Cordia verbenacea*), Alecrim (*Rosmarinus Officinalis*), Alfazema (*Lavandula angustifolia*), Eucalipto (*Eucalyptus Globulus*), Hortelã Pimenta (*Mentha x piperita*), Citronela (*Cymbopogon nardus*), Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), Limão-Siciliano (*Citrus limon*);
- Hidrolatos: Capim-Limão (*Cymbopogon citratus*), Goiaba (*Psidium guajava*), Curcuma (*Curcuma longa*) e Alecrim-Pimenta (*Lippia sidoides*);
- Alimentos e outros: Creatinina Monohidratada, Essência natural de *Vanilla planifolia* e *Vicia faba*, Essência artificial de baunilha, Suco *in natura* de acerola (*Malpighia emarginata*), Extrato de Própolis com mel, Sal de cozinha, mistura pronta para Cappuccino, Vinagre de limão, Babosa *in natura* (*Aloe vera*), Açúcar cristal, Iogurte caseiro, Pó compacto (maquiagem).

Figura 4. Prospecção de uma farmácia viva comunitária em Saúde-Única A- Treinamento de micropipetagem e diluição seriada realizada pelos alunos B- Alunos visualizando os nematóides projetados do microscópio para TV. C- Aluno realizando o experimento de Estresse Oxidativo. D. Esquema anatômico de *C. elegans* feito pelos alunos.



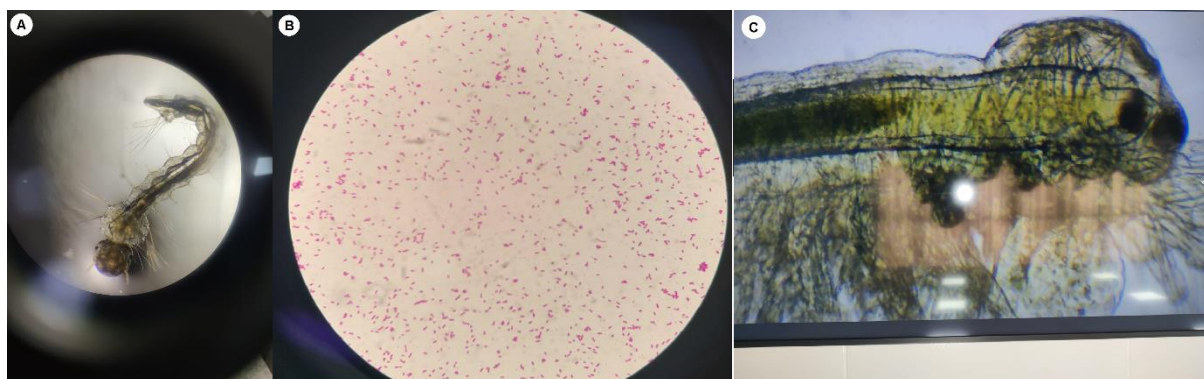
Fonte: Autores (2025).

Após avaliarem a atividade nematicida dos seus materiais os alunos puderam prospectar a resistência do animal ao estresse oxidativo causado pelo Peróxido de Sódio (água oxigenada) em concentrações controladas, onde o material escolhido foi utilizado como tratamento prévio antes do stress. Também foram realizados testes acessíveis, como de resistência ao choque térmico utilizando refrigeradores do colégio e técnicas de coloração com reagentes acessíveis, como a coloração da barreira intestinal do animal com Sal dissódico de erio glucina e do glicogênio intracelular com iodo de Lugol (Bhatla & Horvitz, 2015; Castiglioni & Elena, 2024; Jardim; Silva; Avila, 2024).

Os alunos que participaram das aulas não tinham o costume de utilizar o laboratório do colégio e aparelhos como as micropipetas e microscópio. As sequências de práticas foram realizadas nas turmas e se caso não fosse possível um tempo considerável dos alunos para treinar e estarem seguros sobre a metodologia, essas práticas eram repetidas. Dessa forma, em algumas turmas os alunos aprenderam a utilizar o microscópio, micropipeta e outros equipamentos em várias aulas prática. Foram utilizados outros organismos modelo como o protozoário *Paramecium sp*, os crustáceos *Artêmias sp*, os fungos de leveduras do fermento biológico, a mosca da fruta *Drosophila sp* e o mosquito *Aedes aegypti* nas práticas de

microscopia. A bactéria *E. coli* OP50 e a coloração de Gram também foi utilizada nessas aulas (Figura 5). Os alunos também avaliaram a atividade larvicida de fitoterápicos em *A. aegypti* expostos por 24 horas.

Figura 5. Fotos registradas pelos alunos durante as aulas de microscopia. A- Larva de *Aedes aegypti*. B- *Escherichia coli* OP50 (Coloração de Gram). C- Larva de *Artemia* sp.



Fonte: Autores (2025).

3.5.3.1 Portfólio educativo online como ferramenta de avaliação e produção científica

Para a disciplina de Biotecnologia em Saúde-Única foi desenvolvido com os alunos um portfólio educativo online como forma de avaliação e para que cada grupo desenvolvesse seus textos científicos (Barros Soares Batista et al., 2024). Os alunos poderiam ser avaliados em Insatisfatório/Satisfatório nos dois primeiros bimestres. Para cada turma uma planilha de Excel online foi criada e seu link direcionado para os e-mails dos alunos. Essa planilha (Quadro 1) continha informações a serem preenchidas pelos alunos de acordo com o material que escolheram para prospectar e as práticas realizadas. Foram utilizados trabalhos científicos que indicam as melhores estratégias para se escrever um artigo de divulgação dentro dos parâmetros de revistas de alto impacto (Denney & Tewksbury, 2013; Sanli et al., 2014).

Todas as células a serem preenchidas pelos alunos possuíam um exemplo de texto a ser seguido. Desde dados pré-textuais, como nomes e e-mails dos autores até título e palavras-chaves provisórias foram pedidos aos alunos na primeira etapa de preenchimento do arquivo. Em sequência, foi solicitado aos alunos que preenchessem os dados sobre os métodos e materiais que escolheram, o que foi selecionado, onde foi adquirido, qual o fabricante e lote, validade e outras informações importantes. Assim como foram cultivados os vermes, em quais meios e as metodologias utilizadas para exposição (Quadro 1).

Nesta primeira avaliação, os alunos também construíram suas introduções, onde puderam pesquisar na internet sobre os materiais que utilizaram, benefícios para saúde e quais atividades bioativas já foram evidentes em outros trabalhos. Depois de realizadas as práticas em laboratório os alunos registraram seus resultados e partiram para desenvolver os tópicos: Resultados e Discussão e Conclusões no portfólio educativo online (Quadro 2). Como processo avaliativo, foram consideradas as participações nas práticas e se foi preenchido o portfólio. Os alunos foram informados que iriam receber o conceito satisfatório se preenchessem a planilha, indiferente da qualidade do texto fornecido.

Quadro 1. Principais dados a serem preenchidos pelos alunos no Portfólio educativo online.

Dados Pré-textuais e Introdução
Identificação Grupos (Nome e e-mail do Líder); Autores (nome completo separados por ponto e vírgula); Título do trabalho (Provisório); Palavras-chave (Provisório) (3 a 5 Palavras separadas por ponto e vírgula com ponto final no fim).
Contextualização Ampla do Tema: apresentação do tema do artigo, sua relevância e importância para a área de estudo. Revisão bibliográfica: apresentação das principais teorias e pesquisas já realizadas sobre o tema, indicando as lacunas que o estudo busca preencher. Problema de pesquisa: apresentação da pergunta ou problema a ser investigado no artigo. Explique a abordagem metodológica que será utilizada. Hipótese: apresentação da hipótese ou das hipóteses a serem testadas no estudo.
Metodologia do trabalho
Seleção da amostra (Subtítulo): Origem do material; Explicar informações do rótulo se possível; se o material foi manipulado de alguma forma; Condicionamento do material
Cultivo dos nematóides e sincronização (subtítulo): Origem dos nematóides utilizados e quais cepas foram utilizadas; Como os nematóides foram mantidos; Como os nematóides foram alimentados; Descrever o procedimento de sincronização dos vermes; Outras informações pertinentes sobre a manutenção dos cultivos.
Design do experimento (Subtítulo): Descrever como o experimento foi montado e desenvolvido; Como foi realizada as leituras do experimento; Como foi definido o grupo controle negativo e positivo; Como foi definido as taxas de sobrevivência.

Fonte: Autores (2025).

A partir do preenchimento das células os alunos recebiam a atualização da planilha semanalmente. As células preenchidas corretamente e que estavam finalizadas e corrigidas eram marcadas na cor verde. Foram marcadas de vermelho quando não foram preenchidas e amarelo quando feito, porém, com observações. Essas marcações em amarelo se seguiam de

um pequeno texto do corretor, informando quais os erros precisavam ser corrigidos ou dicas de informações importantes. Erros de escrita, plágios, informações incorretas foram os principais erros visualizados. Quando o grupo atualizava o texto de forma correta a célula era modificada para verde. Os alunos foram encorajados a utilizar a planilha para mandar perguntas e dúvidas sobre o trabalho no próprio portfólio.

Quadro 2. Continuação do Portfólio educativo online.

Resultados e Discussão
Quais foram os principais resultados encontrados? Como as diferentes amostras se comportaram? Como se portou seus grupos controle e o que indica esse resultado?
Apresentação gráfica e/ou numérica dos resultados: Os resultados devem ser apresentados de maneira clara e objetiva, usando gráficos, tabelas, estatísticas e outros recursos que possam ajudar na compreensão dos dados.
Contextualizar esses resultados relacionando-os ao seu objeto e às suas especificidades; Descreva os principais resultados com relação ao modelo central, seus testes e características.
Compare com outros estudos: Os resultados devem ser comparados com os resultados de outros estudos na área, mostrando as semelhanças e diferenças entre os achados.
Limitações do estudo: As limitações do estudo devem ser claramente apresentadas e discutidas, mostrando as possíveis fontes de viés ou erro que possam ter afetado os resultados.
Discuta achados complementares que podem auxiliar no entendimento do estudo e em novos estudos sobre o tema
Conclusões
Faça um resumo do que se buscou com o estudo e dos principais resultados encontrados; O que esses resultados mostraram? O que eles significam? Quais são as principais implicações de resultados como esse? De que maneira o entendimento desses resultados nos auxilia no avanço desse conhecimento?

Fonte: Autores (2025).

3.6 Resultados e Discussão

Participaram desse projeto alunos do ensino básico de instituições de ensino público e privado dos municípios de Viçosa, Muriaé e Teixeira, todos em Minas Gerais. Esses modelos de aula foram aplicados a estudantes dos anos finais do ensino fundamental e do ensino médio. Os conteúdos foram projetados para serem desenvolvidos dentro de um espectro que contemple

formas menos criteriosas, como pilotos ou aulas práticas despreziosas para alunos inexperientes. Esses modelos de aula também foram desenvolvidos para serem aplicados com métodos corretos em boas práticas de pesquisa utilizando os organismos modelo.

Assim, se intencionou para os estudantes conhecerem *C. elegans* e outros organismos invertebrados e o conceito de Saúde-Única. Apesar de *C. elegans* já ser utilizado em atividades didáticas e experimentais, a proposta deste estudo se distingue por integrar esse modelo biológico a um ensino baseado na abordagem de Saúde-Única em escolas de ensino básico através de um eixo Pluriversitário. Além disso, diferentemente de abordagens tradicionais, nosso modelo didático buscou transformar as aulas práticas utilizando *C. elegans* em modelos de aulas que sejam replicáveis e aprimorados como ensino de ciências, biotecnologia e promoção de saúde através da extensão. A inovação está na forma como as práticas foram estruturadas para que os próprios alunos atuassem como agentes ativos da pesquisa, replicando e disseminando conhecimento dentro e fora do ambiente escolar. Esses modelos de aulas foram aplicados em parceria com professores de Ciências e Biologia de colégios dos municípios.

A escolha do contexto educacional e dos participantes não seguiu critérios específicos. Diversas instituições públicas e privadas foram convidadas para garantir diversidade em um panorama representativo do ensino básico na região. O projeto foi desenvolvido com professores que tiveram disponibilidade dentro das agendas de aula para receber os pesquisadores. Além disso, participaram alunos de diferentes níveis escolares, assim foi possível avaliar como os modelos de aula propostos se adaptam a diferentes faixas etárias e níveis de conhecimento. As escolhas metodológicas visaram não apenas descrever as ações pedagógicas aplicadas, mas compreender como diferentes perfis de estudantes reagem a essas práticas e de que forma essas atividades impactam sua formação científica e cidadã.

De início, nas aulas, já foi possível perceber o empenho, empolgação e interesse de muitos alunos conhecendo o projeto e a possibilidade de desenvolver um trabalho científico dentro da escola. Assim, as práticas básicas foram bastante enriquecedoras e relativamente fáceis de serem aplicadas, devido ao interesse da maioria dos alunos em participar. Algumas diferenças se deram nas turmas com alunos mais novos para os mais experientes. Para as turmas de 6 e 7 anos, não foi aplicado o portfólio educacional e as práticas foram adaptadas para formas mais “lúdicas” e simples. Para os alunos mais avançados dos anos finais do fundamental e ensino médio, as práticas já eram acompanhadas para garantir a qualidade da análise na execução. Foi possível perceber a clara evolução dos alunos durante as sequências das aulas, comportamento em laboratório, perguntas e dúvidas cada vez mais complexas, habilidades técnicas no uso dos equipamentos, entre outras.

Assim, a intensificação das aulas teóricas e práticas e padronização de metodologias ativas como as utilizadas, podem contribuir significativamente para o aprendizado dos estudantes. Todos os envolvidos nessas metodologias tendem a aprimorar suas habilidades de escrita, desenvolver uma visão crítica mais apurada sobre o próprio trabalho e desenvolver formas de cooperação e ajuda mútua dentro de sua comunidade. A fim de otimizar o tempo em laboratório e fomentar o aprendizado colaborativo “em cascata”, os alunos foram incentivados a realizar atividades de treinamento mútuo nas metodologias propostas. Essas escolhas didáticas se deram pela falta de equipamentos em número suficiente, porém oportunizou didáticas em grupo interessantes, onde os alunos trabalharam em equipe para ensinar e construir seus trabalhos científicos.

As aulas foram desenvolvidas como forma de estimular a interação social dos alunos em sua comunidade, envolvendo a transmissão de conhecimento como um fator crucial para uma aprendizagem de impacto. Ao se ensinar, esses alunos não apenas consolidam seu próprio conhecimento, mas também desenvolvem habilidades de comunicação e colaboração (Batista & Da Cunha, 2021). O portfólio educativo foi utilizado como uma forma dos alunos compreenderem como se arquiteta um trabalho de divulgação científica. Como esse texto é construído dentro de uma sequência lógica e quais informações básicas os revisores utilizam para avaliar esses textos. Bons textos básicos foram desenvolvidos pelos alunos, porém, como se era esperado, estudantes de nível básico não possuem treinamento e competências para desenvolver uma boa escrita científica. Porém, após a correção e feedback, vários recortes do portfólio educativo serão utilizados na construção dos artigos.

Foi possível trabalhar com os alunos conceitos e técnicas científicas. A maioria dos grupos de pesquisa formados conseguiram realizar as práticas propostas em laboratório, com o portfólio e geraram resultados de suas análises. Com a finalização do projeto, esses resultados foram repetidos nos laboratórios da Universidade e geraram dados para artigos em revistas e eventos científicos com os alunos como coautores. Ao desenvolver essas aulas que colocam os alunos como protagonistas no processo científico, democratiza-se o conhecimento.

Com acesso a ferramentas biotecnológicas de pesquisa normalmente restritas a laboratórios criam-se ambientes de divulgação científica comunitária. Intencionou-se para os alunos utilizarem seus aparelhos de celular para capturar imagens e gravar vídeos desses experimentos. Assim, também houve divulgação dessas técnicas em redes sociais. Além de terem esses materiais salvos para mostrar aos familiares e amigos, aumentando o alcance dessas informações. Esses fatos empoderam o aluno como parte fundamental da promoção de saúde

em sua comunidade. Como exemplo, ao gerar dados de análises de alimentos, esses alunos ajudam a mitigar possíveis danos à saúde do que é consumido por eles e familiares.

Em vários momentos nas aulas, alunos questionaram se a turma poderia realizar experimentações com animais vertebrados como ratos dentro da sala de aula. Esse questionamento foi levado à toda turma elencando que a utilização desses animais em pesquisa é autorizada a partir da criação de projetos dentre instituições devidamente autorizadas e que Conselhos ou Comitês de Ética no Uso de Animais precisam avaliar e aprovar todos os passos dessas pesquisas, como o uso mínimo de animais para se atingir uma análise estatística relevante, a adequação do número de animais utilizados, além de justificativa plausível para o uso de animais e a descrição dos procedimentos que serão realizados e dos métodos de anestesia e analgesia (Dittrich et al., 2019; Pimenta & Silva, 2001).

Foi importante ressaltar que a avaliação ética de projetos que envolvem animais é um processo rigoroso e que envolve profissionais de diferentes áreas, como médicos veterinários, biólogos e especialistas em ética e bem-estar animal. Sendo o objetivo sempre garantir que a pesquisa seja realizada de forma responsável e que os animais sejam tratados com respeito e cuidado.

Aulas modelo com experimentação animal como as utilizadas criam oportunidades para os alunos assimilarem que animais sencientes são aqueles que possuem consciência de si mesmos e do ambiente em que estão, e que são capazes de sentir sensações como dor, prazer, medo, fome, sede e outras emoções. Eles possuem um sistema nervoso e cérebro desenvolvidos, que permitem que eles percebam e respondam aos estímulos do ambiente de maneira complexa. Por outro lado, animais como *C. elegans*, são aqueles que não possuem essas capacidades de forma complexa, ou seja, possuem consciência limitada de si mesmos e do ambiente em que estão. Geralmente, são organismos simples, como nematóides e insetos, além de bactérias, fungos e algas (José Zambam & Andrade, 2016).

Assim, a utilização de outros modelos invertebrados pode somar nessa percepção de diferentes formas de vida. Em geral os modelos utilizados apresentaram uma boa aplicabilidade prática nos cultivos, porém, pouca aplicabilidade biotecnológica padronizada. Excerto, *Aedes aegypti* que possui grande aplicabilidade na pesquisa de novos agentes larvicidas.

Como modelo de extensão, os alunos podem ser orientados por universitários e técnicos especializados, que os ajudem a desenvolver metodologias de pesquisa e experimentação adequadas para cada tema. Além disso, é importante a participação dos alunos em eventos científicos locais e nacionais, como feiras de ciências e congressos acadêmicos. Esses projetos têm grande impacto em promover a cultura científica e o engajamento dos alunos na busca por

soluções para os problemas locais e globais. Além disso, podem contribuir para o desenvolvimento de habilidades como a curiosidade, o pensamento crítico, a comunicação científica e o trabalho em equipe, fundamentais para a formação de cidadãos ativos e participativos na sociedade (Guilherme et al., 2015; Handelsman; Miller; Pfund, 2007; Santos, 2021; Souza Santos, 2008).

Apesar de resultados positivos, a implementação do projeto apresentou desafios significativos. O fluxo de trabalho exigiu um esforço considerável, desde a produção dos kits experimentais nos laboratórios até o transporte e realização das práticas nas escolas. Além disso, o retorno do material utilizado para descarte e a necessidade de replicação das análises nos laboratórios acadêmicos para confirmação dos resultados tornaram o processo ainda mais trabalhoso. Outro ponto a ser considerado é a diversidade de interesses e perfis dos alunos. Embora a proposta tenha despertado grande curiosidade e participação ativa, é esperado que nenhuma abordagem didática consiga alcançar todos os estudantes de maneira homogênea, sendo necessário explorar estratégias complementares para ampliar a inclusão e o impacto das atividades.

A IEPIE apresenta múltiplas camadas de atuação, onde cada etapa do processo educacional contribui para diferentes dimensões de sua aplicabilidade. A utilização de aulas como meio de democratização do acesso a ferramentas científicas gera desdobramentos diversos dentro da própria IEPIE, desde a introdução dos alunos ao método científico até sua participação ativa na construção do conhecimento.

A publicação de artigos científicos com base nas práticas realizadas reforça esse protagonismo, permitindo que os alunos sejam coautores no avanço científico e na inovação. Além disso, a extensão emerge como a camada mais complexa desse processo, uma vez que não apenas o grupo acadêmico envolvido no projeto gerou extensão universitária. Os próprios alunos contribuíram para esse produto ao testar a qualidade de alimentos e identificar novos agentes com potencial uso como defensivos agrícolas agroecológicos (Correia, et al., 2024; 2025). Assim, a interação entre ensino, pesquisa, inovação e extensão não apenas fortalece a formação acadêmica dos envolvidos, mas também gera impactos científicos e sociais relevantes.

Embora avaliações feitas indiquem impacto positivo no aprendizado e na participação dos alunos, é necessário desenvolver e aplicar análises quantitativas e qualitativas dos efeitos dessas práticas no desenvolvimento dos estudantes. Estudos comparativos com turmas que não participaram da iniciativa, bem como acompanhamento longitudinal, podem oferecer uma visão mais precisa sobre o real impacto do modelo de aulas aplicado. Assim, reforça-se a necessidade

de uma abordagem mais estruturada para medir a eficácia desse modelo pedagógico em longo prazo.

Os modelos de aulas desenvolvidos a partir desse trabalho devem ser aprimorados e adaptados para cada realidade didática. Dessa forma podem ser repetidas infinitas vezes com diferentes compostos nos testes, gerando assim, sempre pesquisas inéditas onde o aluno protagonize o avanço científico em comunidade. Visualizando a importância da horizontalidade na integração da IEPIE, do potencial progressista do conhecimento PS e dos diversos impactos que a saúde animal e ambiental tem no bem-estar humano em nível individual e coletivo.

As pesquisas com *C. elegans* em Saúde-Única podem contribuir para a compreensão das interações entre os seres vivos e o meio ambiente, promovendo a saúde geral. Podem gerar inovação na pesquisa de vermífugos naturais para humanos e animais, defensivos agrícolas agroecológicos, métodos de controle de qualidade da água, solo, ar, de alimentos e de medicamentos. A busca cooperativa de novos compostos bioativos com atividades antioxidantes, neuroprotetoras e probióticas podem contribuir em soluções mais sustentáveis para os problemas de Saúde-Única. Pesquisas dentro de sala de aula nesse nicho poderiam potencializar políticas públicas importantes como a Farmácia Viva, apresentando evidências dessas bioatividades em fitoterápicos (De Oliveira Caland et al., 2019; Graves et al., 2005; Oliveira et al., 2022; Pereira et al., 2015; Wang et al., 2023).

A abordagem PS foi fundamental para a compreensão e promoção da Saúde-Única, pois permite a criação de um diálogo interdisciplinar aplicado entre diferentes áreas do conhecimento. Projetos que integrem a IEPIE no eixo PS em Saúde-Única com alunos do ensino básico, como este, têm como objetivo estimular o interesse dos alunos pela pesquisa científica desde cedo, além de promover a integração entre a comunidade acadêmica e a sociedade em geral. Assim, esses projetos podem ser realizados em escolas de ensino básico, com a participação de alunos e professores de diferentes áreas do conhecimento.

Nossa proposta dialoga com as referenciais de PS e Pluriversidade Comunitária ao utilizar um organismo modelo colaborativo para criar um ambiente de ensino também colaborativo, onde os alunos constroem conhecimento científico com potencial de transformação social a partir da experimentação direta, promovendo um aprendizado mais dinâmico e contextualizado.

O uso de plataformas digitais, como o Wormbook, WORMATLAS e o portfólio online, facilitam a colaboração e disseminação desses conhecimentos. Assim como a análise dos dados utilizando softwares e ferramentas digitais, que somam em desenvolver habilidades computacionais nesses alunos. A divulgação e publicação desses resultados em eventos

científicos e publicações digitais promovem a inclusão e interação desses alunos com outros pesquisadores e a disseminação desses conhecimentos. A realização de projetos colaborativos como este pode fortalecer os laços entre os alunos, professores e a comunidade em geral.

Metodologias ativas como a proposta, criam um ambiente de aprendizado que foge do que Freire apresenta como educação bancária, aquela onde o aluno só aprende como telespectador. Para Freire, a educação deve ser um processo de diálogo e troca de conhecimentos entre professor e aluno. As metodologias ativas promovem um diálogo horizontal, tornando ensino e aprendizagem processos participativos e dinâmicos. O eixo PS, nessa perspectiva tem capacidade de gerar indivíduos preparados para transformar a educação de forma horizontal (Dos Santos Paulo et al., 2022; Weyh et al., 2020; Hooks, 2022).

Muitas vezes, o conceito de Saúde Única está associado à análise de materiais biológicos provenientes da saúde humana, animal e ambiental. No entanto, ao aplicá-lo no ensino básico, o objetivo principal foi ampliar a cognição dos estudantes, incentivando uma compreensão crítica sobre as interdependências entre a saúde humana individual e comunitária, dos animais de produção, selvagens e de companhia, e a preservação do ambiente. Dessa forma, os alunos são estimulados a pensar de maneira sistêmica e interdisciplinar, reconhecendo a complexidade e a importância da integração entre esses elementos para a sustentabilidade e o bem-estar coletivo.

Nossos resultados se mostraram positivos em integrar a IEPIE em um eixo PS em Saúde Única em escolas de ensino básico. Porém para se potencializar o alcance de projetos como esse, se visualiza a necessidade de investimento para estruturação de um sistema de ensino com *C. elegans* e outras biotecnologias em que o aluno crie capacidades de aprender pesquisando gerando produtos de extensão e inovação em um nível horizontal. Em relação a estrutura física, equipamentos, reagentes e outros materiais de pesquisa, para as escolas fomentarem esse tipo de pesquisa, são necessárias diversas iniciativas de políticas públicas e privadas. Para isso, metodologias básicas de manutenção e pesquisas compatíveis com as escolas precisam ser utilizadas como metodologias ativas em aulas de biologia onde os alunos possam aprender e reproduzir esses métodos a partir do conhecimento de base. Com esse conhecimento de técnicas os alunos podem, eles mesmos desenvolver a PS através das escolas de ensino que integrem a IEPIE em sua comunidade.

Assim, a utilização de metodologias ativas que contemplem a IEPIE tem grande potencial de serem realizadas como projetos de extensão entre a Universidade e as escolas de ensino básico. É possível visualizar também políticas públicas que treinem professores, invistam nos laboratórios para as escolas e difundam o modelo como uma plataforma de

pesquisa em Saúde-Única. *C. elegans* se mostrou um bom catalisador para gerar acessos à uma educação mais moderna e de qualidade. Podendo melhorar a qualidade do ensino de ciências e saúde, mesmo em regiões com menos recursos. Outras habilidades importantes também foram estimuladas, como o trabalho em equipe, a resolução de problemas e o pensamento crítico, preparando esses alunos para lidar com as complexas demandas do século XXI.

3.7 Conclusões

Mais do que um pequeno nematoide, *Caenorhabditis elegans* é uma plataforma científica cooperativa globalmente consolidada, cujo potencial transcende a pesquisa acadêmica e se estende ao ensino e à extensão. Neste estudo, buscamos viabilizar sua utilização como ferramenta biotecnológica comunitária e horizontal, inserida na Educação Básica por meio da indissociabilidade entre ensino, pesquisa, inovação e extensão em um eixo de promoção de Saúde-Única. Os resultados indicam que a implementação dessa abordagem permitiu a aproximação entre ciência, sociedade e educação, promovendo um ensino mais contextualizado e participativo.

A abordagem proposta demonstrou potencial para fortalecer a integração entre escola e universidade, criando um ambiente de aprendizado colaborativo e interdisciplinar. Dessa forma, este estudo reforça a importância de metodologias ativas no ensino de ciências e destaca o papel da pesquisa em extensão em um eixo pluriversitário como um caminho viável para transformar a educação básica. A utilização de *C. elegans* e dos outros organismos não apenas ampliou o acesso dos estudantes ao método científico, mas também demonstrou ser uma ferramenta viável para promover inovação educacional e científica, incentivando a produção e aplicação do conhecimento de maneira contextualizada e socialmente relevante.

3.8 Referências

- Aballay, A. (2002). *Caenorhabditis elegans* as a host for the study of host–pathogen interactions. *Current Opinion in Microbiology*, 5(1), 97–101. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00293-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00293-X)
- Andersen, J., Krichevsky, A., Leheste, J. R., & Moloney, D. J. (2008). *Caenorhabditis elegans* as an undergraduate educational tool for teaching RNAi. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 36(6), 417–427. <https://doi.org/10.1002/bmb.20233>

- Barros Soares Batista, P., Garcia De Moura Bragança, F., & Cristina Nogueira Souto, K. (2024). Avaliação na Educação Infantil: O portfólio como instrumento avaliativo e reflexivo da prática docente. *Instrumento: Revista de Estudo e Pesquisa em Educação*, 25(3), 605–619. <https://doi.org/10.34019/1984-5499.2023.v25.33040>
- Batista, L. M. B. M., & Da Cunha, V. M. P. (2021). Uso das metodologias ativas para melhoria nas práticas de ensino e aprendizagem. *Docent Discunt*, 2(1), 60–70. <https://doi.org/10.19141/2763-5163.docentdiscunt.v2.n1.p60-70>
- Bernardes, N. B., Facioli, L. D. S., Ferreira, M. L., Costa, R. D. M., & Sá, A. C. F. D. (2018). Intoxicação Alimentar: Um problema de Saúde Pública. *ID on line REVISTA DE PSICOLOGIA*, 12(42), 894–906. <https://doi.org/10.14295/idonline.v12i42.1373>
- Bhatla, N., & Horvitz, H. R. (2015). Light and Hydrogen Peroxide Inhibit *C. elegans* Feeding through Gustatory Receptor Orthologs and Pharyngeal Neurons. *Neuron*, 85(4), 804–818. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.061>
- Bombardi, L. M. (2023). *Agrotóxicos e colonialismo químico* (Primeira edição). Elefante.
- Brasil (1988). Constituição da República Federativa do Brasil, de 05 de dezembro de 1988.
- Brasil. (1931). *DECRETO No 19.851 DE 11 DE ABRIL DE 1931*. Estatuto da Universidade Brasileira.
- Brasil. (2013). *Diretrizes Curriculares Nacionais da Educação Básica*. Ministério da Educação; Secretaria de Educação Básica; Secretaria de Educação Continuada, Alfabetização, Diversidade e Inclusão; Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica. Conselho Nacional de Educação; Câmara de Educação Básica.
- Bugatti, C., Almeida, K. C. D., Guimarães, M. S. D. A., & Amâncio, N. D. F. G. (2023). Microplásticos e Nanoplásticos e sua relevância na saúde humana: Uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, 12(1), e6712139302. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i1.39302>
- Burns, A. R.; Luciani, G. M.; Musso, G.; Bagg, R.; Yeo, M.; Zhang, Y.; Rajendran, L.; Glavin, J.; Hunter, R.; Redman, E.; Stasiuk, S.; Schertzberg, M.; Angus Mcquibban, G.; Caffrey, C. R.; Cutler, S. R.; Tyers, M.; giaeever, G.; Nislow, C.; Fraser, A. G.; ... Roy, P. J. *Caenorhabditis elegans* is a useful model for anthelmintic discovery. *Nature Communications*, v. 6, n. 1, p. 7485, 25 jun. 2015. <https://doi.org/10.1038/ncomms8485>.
- Cabral, N. G. (2012). *Saberes em extensão universitária: Contradições, tensões, desafios e desassossegos*. Faculdade de Educação.
- Caldeira, L. R., Madureira, F. D., Maia, T. D. F., Muller, C. V., & Fernandes, C. (2021). Simultaneous quantification of ethylene glycol and diethylene glycol in beer by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Chemistry*, 346, 128871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128871>

Caldwell, K. A., Willicott, C. W., & Caldwell, G. A. (2020). Modeling neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. *Disease Models & Mechanisms*, *13*(10), dmm046110. <https://doi.org/10.1242/dmm.046110>

Cancino Rodezno, A., & Zapata Clavería, M. A. (2023). Reemplazar ideas, reducir equívocos y refinar argumentos: Una reinterpretación de las 3R de la experimentación animal. *Revista Colombiana de Bioética*, *18*(1). <https://doi.org/10.18270/rcb.v18i1.3875>

Caravaca, J. M., & Lei, E. P. (2016). Maintenance of a *Drosophila melanogaster* Population Cage. *Journal of Visualized Experiments*, *109*, 53756. <https://doi.org/10.3791/53756>

Casemiro, J. P., Fonseca, A. B., & Secco, F. V. M. (2014). PROMOVER SAÚDE NA ESCOLA: REFLEXÕES A PARTIR DE UMA REVISÃO SOBRE SAÚDE ESCOLAR NA AMÉRICA LATINA. *Cien Saude Colet*.

<http://cienciaesaudecoletiva.com.br/artigos/promover-saude-na-escola-reflexoes-a-partir-de-uma-revisao-sobre-saude-escolar-na-america-latina/12158>

Castiglioni, V. G., & Elena, S. F. (2024). Orsay virus infection increases *Caenorhabditis elegans* resistance to heat-shock. *Biology Letters*, *20*(8), 20240278. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2024.0278>

Castro, M. G., & Alves, D. A. D. (2017). Ensino, pesquisa e extensão na Universidade Federal de Viçosa: Origem e trajetória institucional (1926-1988). *Revista Brasileira de Educação*, *22*(70), 752–773. <https://doi.org/10.1590/s1413-24782017227038>

Clavijo, A., Kronberg, M. F., Rossen, A., Moya, A., Calvo, D., Salatino, S. E., Pagano, E. A., Morábito, J. A., & Munarriz, E. R. (2016). The nematode *Caenorhabditis elegans* as an integrated toxicological tool to assess water quality and pollution. *Science of The Total Environment*, *569–570*, 252–261. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.057>

Correia, D.S.; Argumedo, A.; Queiroz, C.; Morais, L.; Moreira, M.; Araujo, J. Nematicidal activity of Equine milk in *Caenorhabditis Elegans*. *Dairy & Veterinary Sciences*, v. 17, n. 3, p. 001–004, 2025. <https://doi.org/DOI: 10.19080/JDVS.2025.17.555964>.

Correia, D. S.; Santos, A.; Drumond, B.; Gomes, L.; Ferreira, M. A.; Drumond, R.; Rigueira, L. P M.; SCATAMBURLO, M. A. M.; ARAÚJO, J. V. de. Desenvolvendo um controle de qualidade alternativo para bebidas industriais utilizando o organismo modelo *Caenorhabditis elegans* no ensino básico. *Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*, v. 5, n. 2, p. 19–29, 2024.

Corsi, A. K., Wightman, B., & Chalfie, M. (2015). A Transparent Window into Biology: A Primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, *200*(2), 387–407. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.176099>

De Oliveira Caland, R. B., Cadavid, C. O. M., Carmona, L., Peña, L., & De Paula Oliveira, R. (2019). Pasteurized Orange Juice Rich in Carotenoids Protects *Caenorhabditis elegans* against Oxidative Stress and β -Amyloid Toxicity through Direct and Indirect Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2019/5046280>

- de Souza Santos, B. (1997). *Pela mão de Alice: O social e o político na pós-modernidade*. (4^a Edição). Cortez Editora.
- Deffit, S. N., Neff, C., & Kowalski, J. R. (2017). Exploring *Caenorhabditis elegans* Behavior: An Inquiry-Based Laboratory Module for Middle or High School Students. *The American Biology Teacher*, 79(8), 661–667. <https://doi.org/10.1525/abt.2017.79.8.661>
- Delgado, D. Q., & Kovacevic, F. P. (2021). *Fundamentos de saúde única*. AGES.
- Denney, A. S., & Tewksbury, R. (2013). How to Write a Literature Review. *Journal of Criminal Justice Education*, 24(2), 218–234. <https://doi.org/10.1080/10511253.2012.730617>
- Di Luccio, E., Morishita, M., & Hirotsu, T. (2022). *C. elegans* as a Powerful Tool for Cancer Screening. *Biomedicines*, 10(10), 2371. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10102371>
- Dittrich, N., Pires, G. N., Tufik, S., & Andersen, M. L. (2019). Conhecimento sobre a bioética e a Lei 11.794/2008 na graduação. *Revista Bioética*, 27(3), 542–548. <https://doi.org/10.1590/1983-80422019273339>
- Doke, S. K., & Dhawale, S. C. (2015). Alternatives to animal testing: A review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3), 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2013.11.002>
- Dos Santos Paulo, F., Tessaro, M., & Ceron Trevisol, M. T. (2022). Escola nos tempos atuais: Desafios e possibilidades a partir de Paulo Freire. *EccoS – Revista Científica*, 61, 1–16. <https://doi.org/10.5585/eccos.n61.14606>
- Fay, D. S. (2013). A biologist's guide to statistical thinking and analysis. *WormBook*, 1–54. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.159.1>
- Fernandes Salgueiro, A. C., Goulart, A. S., Viçosa, D. L., Viçosa, C. S. C. L., & Folmer, V. (2018). Resolução de problemas no ensino de Ciências: Utilização de *Artêmia salina* como modelo experimental para o estudo de plantas medicinais na escola básica. *Revista de Ensino de Bioquímica*, 16(2), 31–47. <https://doi.org/10.16923/reb.v16i2.814>
- Ferreira, V. F. (2012). A interdisciplinaridade é desejável, mas o modelo não pode ser imposto. *Química Nova*, 35(10), 1899–1899. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001000001>
- Fischer, M. L., Sanches, M. A., & Filla Rosaneli, C. (2023). Ética na pesquisa em Educação: Um diálogo possível com a Bioética Social e Ambiental? *Horizontes*, 41(1), e023043. <https://doi.org/10.24933/horizontes.v41i1.1613>
- Frézal, L., & Félix, M.-A. (2015). *C. elegans* outside the Petri dish. *eLife*, 4, e05849. <https://doi.org/10.7554/eLife.05849>
- Glater, E. E. (2022). The Basics of Setting up Successful Teaching Labs and Short-Term Projects with *C. elegans*. Em G. Haspel & A. C. Hart (Orgs.), *C. elegans* (Vol. 2468, p. 25–41). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2181-3_2

- Graves, A. L., Boyd, W. A., & Williams, P. L. (2005). Using Transgenic *Caenorhabditis elegans* in Soil Toxicity Testing. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(4), 490–494. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0031-2>
- Groth, A. C. (2019). Using *C. elegans* notch mutants in an undergraduate cancer biology laboratory course to demonstrate oncogenic effects on cell proliferation. *Journal of Biological Education*, 53(3), 265–273. <https://doi.org/10.1080/00219266.2018.1469536>
- Gubert, P. (2022). *Guia para pesquisadores iniciantes em Caenorhabditis elegans*. Publicar Editora.
- Guilherme, M., Dietz, G., & de Sousa Santos, B. (2015). *Da universidade à pluriversidade: Reflexões sobre o presente e o futuro do ensino superior*. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias Lisboa.
- Handelsman, J.; Miller, S. M.; Pfund, C. Scientific teaching. Wisconsin: Wisconsin Program for Scientific Teaching, 2007.
- Heuckmann, B., & Zeyer, A. (2022). Science|Environment|Health, One Health, Planetary Health, Sustainability, and Education for Sustainable Development: How Do They Connect in Health Teaching? *Sustainability*, 14(19), 12447. <https://doi.org/10.3390/su141912447>
- Hirotsu, T., Sonoda, H., Uozumi, T., Shinden, Y., Mimori, K., Maehara, Y., Ueda, N., & Hamakawa, M. (2015). A Highly Accurate Inclusive Cancer Screening Test Using *Caenorhabditis elegans* Scent Detection. *PLOS ONE*, 10(3), e0118699. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118699>
- Hooks, B. (2022). *Ensinando a transgredir: A educação como pratica da liberdade*. Editora WMF Martins Fontes.
- Höss, S., Ahlf, W., Bergtold, M., Bluebaum-Gronau, E., Brinke, M., Donnevert, G., Menzel, R., Möhlenkamp, C., Ratte, H., Traunspurger, W., Danwitz, B. V., & Pluta, H. (2012). Interlaboratory comparison of a standardized toxicity test using the nematode *Caenorhabditis elegans* (ISO 10872). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(7), 1525–1535. <https://doi.org/10.1002/etc.1843>
- Höss, S., & Römbke, J. (2019). Effects of waste materials on *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) using the ISO standard soil toxicity test. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(25), 26304–26312. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05891-8>
- Iribarry, I. N. (2003). Aproximações sobre a transdisciplinaridade: Algumas linhas históricas, fundamentos e princípios aplicados ao trabalho de equipe. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 16(3). <https://doi.org/10.1590/S0102-79722003000300007>
- ISO. (2020). *Water Quality – Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of Caenorhabditis elegans (Nematoda)*. ISO 10872: 2020. Geneva: International Organization for Standardization.

Jardim, N. S.; Silva, A. C.; Avila, D. S. Using Low-cost Dyes to Visualize Glycogen Accumulation and Gut Integrity in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Visualized Experiments*, n. 204, p. 66084, 23 fev. 2024. <https://doi.org/10.3791/66084>.

José Zambam, N., & Andrade, F. (2016). A CONDIÇÃO DE SUJEITO DE DIREITO DOS ANIMAIS HUMANOS E NÃO HUMANOS E O CRITÉRIO DA SENCIÊNCIA. *Revista Brasileira de Direito Animal*, 11(23). <https://doi.org/10.9771/rbda.v11i23.20373>

Kahn, L., Kaplan B, Monath TM, & Steele JH. (2008). Teaching ‘One Medicine, One Health’. *Am J Med*, 121, 169–170.

Kaletsky, R., Moore, R. S., Vrla, G. D., Parsons, L. R., Gitai, Z., & Murphy, C. T. (2020). *C. elegans* interprets bacterial non-coding RNAs to learn pathogenic avoidance. *Nature*, 586(7829), 445–451. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2699-5>

Kirienko, N. V., Mani, K., & Fay, D. S. (2010). Cancer models in *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Dynamics*, 239(5), 1413–1448. <https://doi.org/10.1002/dvdy.22247>

Li, P., & Wu, J. (2019). Drinking Water Quality and Public Health. *Exposure and Health*, 11(2), 73–79. <https://doi.org/10.1007/s12403-019-00299-8>

Lu, F.-M., Eliceiri, K. W., Squirrell, J. M., White, J. G., & Stewart, J. (2008). Student Learning of Early Embryonic Development via the Utilization of Research Resources from the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *CBE—Life Sciences Education*, 7(1), 64–73. <https://doi.org/10.1187/cbe.07-09-0066>

Lu, F.-M., Eliceiri, K. W., Stewart, J., & White, J. G. (2007). WormClassroom.org: An Inquiry-rich Educational Web Portal for Research Resources of *Caenorhabditis elegans*. *CBE—Life Sciences Education*, 6(2), 98–108. <https://doi.org/10.1187/cbe.06-07-0176>

Mansur, R. (2022). Caso Backer: Mais de 2 anos após mortes por intoxicação, Justiça começa a ouvir testemunhas. *gl Minas — Belo Horizonte*.

Miranda, M. M. P. (2012). *Otimização do cultivo do Paramecium caudatum para estudo em testes de toxicidade*. 7(4).

Monfredini, I. (Org.). (2016). *A Universidade como espaço de formação de sujeito*. Editora Universitária Leopoldianum.

Mudd, N., & Liceaga, A. M. (2022). *Caenorhabditis elegans* as an in vivo model for food bioactives: A review. *Current Research in Food Science*, 5, 845–856. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.05.001>

Munford, D., & Lima, M. E. C. D. C. E. (2007). Ensinar ciências por investigação: Em quê estamos de acordo? *Ensaio Pesquisa em Educação em Ciências (Belo Horizonte)*, 9(1), 89–111. <https://doi.org/10.1590/1983-21172007090107>

Neto, M. F., Nguyen, Q. H., Marsili, J., McFall, S. M., & Voisine, C. (2016). The nematode *Caenorhabditis elegans* displays a chemotaxis behavior to tuberculosis-specific odorants.

Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases, 4, 44–49.
<https://doi.org/10.1016/j.jctube.2016.06.001>

Nigon, V. M., & Félix, M.-A. (2017). History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. *WormBook*, 1–84. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.181.1>

Nova, I. C. V., De Almeida, W. A., Procópio, T. F., Godoy, R. S. M., Miranda, F. R., Barbosa, R. C., Nascimento, J. D. S., Paiva, P. M. G., Ferreira, M. R. A., Soares, L. A. L., Pimenta, P. F. P., Martins, G. F., Navarro, D. M. D. A. F., Napoleão, T. H., & Pontual, E. V. (2023). Extract from *Opuntia ficus-indica* cladode delays the *Aedes aegypti* larval development by inducing an axenic midgut environment. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 113(1), e21872. <https://doi.org/10.1002/arch.21872>

Nunes, S. (2021). Entrevista a Rosalia Vargas, presidente da Ciência Viva. *Nunes, S.*, (46). ISSN: 08746885. <https://doi.org/10.34619/MKFF-S00N>

Oliveira, T. S. S., Bigolin, C., Silva, L. C. D., Menezes, J. M., Ayres, T. A., Rodrigues, G. Z. P., Rodrigues, V. B., Muller, I. R., Gehlen, G., Betti, A. H., & Charão, M. F. (2022). Water quality assessment in the region of Vale dos Sinos trough the alternative model *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 7(2), 062–072. <https://doi.org/10.24221/jeap.7.2.2022.3898.062-072>

OMS. (2015). WHO. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015. *Who*.
http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/.

Paavanen-Huhtala, S., Kalichamy, K., Pessi, A.-M., Häkkinen, S., Saarto, A., Tuomela, M., Andersson, M. A., & Koskinen, P. J. (2023). Biomonitoring of Indoor Air Fungal or Chemical Toxins with *Caenorhabditis elegans* nematodes. *Pathogens*, 12(2), 161. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020161>

Paiva, A. de S. (2019). *Princípios de design para o ensino de biologia celular: Pensamento crítico e ação sociopolítica inspirados no caso de Henrietta Lacks* [Tese]. Universidade Federal da Bahia.

Pereira, J. B. A., Rodrigues, M. M., Morais, I. R., Vieira, C. R. S., Sampaio, J. P. M., Moura, M. G., Damasceno, M. F. M., Silva, J. N., Calou, I. B. F., Deus, F. A., Peron, A. P., Abreu, M. C., Militão, G. C. G., & Ferreira, P. M. P. (2015). O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4), 550–561. https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_008

Pimenta, L. G., & Silva, A. L. D. (2001). Ética e experimentação animal. *Acta Cirurgica Brasileira*, 16(4), 255–260. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502001000400012>

Pinheiro, N. A. M., Silveira, R. M. C. F., & Bazzo, W. A. (2007). Ciência, Tecnologia e Sociedade: A relevância do enfoque CTS para o contexto do Ensino Médio. *Ciência & Educação (Bauru)*, 13(1), 71–84. <https://doi.org/10.1590/S1516-73132007000100005>

- Pró-Reitoria de Extensão (Proext). (2020). *Laece realiza I SIMPEc—Simpósio Pernambucano de Caenorhabditis elegans*. https://www.ufpe.br/proexc-antiga/noticias-da-proexc/-/asset_publisher/kxuksR4OpDL6/content/laece-realiza-i-simpec-simpósio-pernambucano-de-caenorhabditis-elegans/40659
- Reina-Rozo, J. D. (2021). Art, Energy and Technology: The Solarpunk Movement. *International Journal of Engineering, Social Justice, and Peace*, 8(1), 55–68. <https://doi.org/10.24908/ijesjp.v8i1.14292>
- Reis, C. (2022, janeiro 23). Nasceu em Lisboa uma universidade popular e comunitária, dos bairros para os bairros. *A Mensagem*. <https://amensagem.pt/2022/01/23/universidade-popular-e-comunitaria-bairros-lisboa/>
- Rodrigues, R. M., Souza, A. D. M., Bezerra, I. N., Pereira, R. A., Yokoo, E. M., & Sichieri, R. (2021). Evolução dos alimentos mais consumidos no Brasil entre 2008-2009 e 2017-2018. *Revista de Saúde Pública*, 55(Supl.1), 1–10. <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2021055003406>
- Sanli, O., Erdem, S., & Tefik, T. (2014). How to write a discussion section? *Türk Üroloji Dergisi/Turkish Journal of Urology*, 39(1), 20–24. <https://doi.org/10.5152/tud.2013.049>
- Santos, B. de S. (2021). *O futuro começa agora: Da pandemia à utopia*. Boitempo.
- Silva, E. A. R. D., & Melo Júnior, M. D. (2023). Caixas didáticas para popularização científica dos microplásticos e impacto nos organismos e ecossistemas aquáticos. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 8(4), 272–284. <https://doi.org/10.24221/jeap.8.4.2023.5862.272-284>
- Souza Santos, B. (2008). *A Universidade no sec. XXI: por uma universidade nova*.
- Sugimoto, T., Okuda, Y., Shima, A., Sugiura, N., Kondo, N., Ishihara, G., Hirotsu, T., & Di Luccio, E. (2022). A new detection method for canine and feline cancer using the olfactory system of nematodes. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 32, 101332. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101332>
- Teixeira, C. R. R. R., & Gemal, A. L. (2014). Segurança Alimentar e Vigilância Sanitária: Dois pesos e duas medidas e a qualidade fora da balança. *Vigilância Sanitária em Debate*, 0(0), 407/202. <https://doi.org/10.3395/2317-269x.00407>
- Thiesen, J. D. S. (2008). A interdisciplinaridade como um movimento articulador no processo ensino-aprendizagem. *Revista Brasileira de Educação*, 13(39), 545–554. <https://doi.org/10.1590/S1413-24782008000300010>
- Von Mikecz, A. (2022). Exposome, Molecular Pathways and One Health: The Invertebrate *Caenorhabditis elegans*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9084. <https://doi.org/10.3390/ijms23169084>
- Wang, H.-J., Peng, C.-W., Han, X., Wang, Y., Zhang, J., Liu, J.-L., Zhou, M.-X., Tang, F., & Liu, A.-L. (2023). Toxicological characteristics of drinking water in two large-scale municipal

water supply systems of a metropolitan city in Central China. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(23), 64058–64066. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26882-w>

Weyh, L. F., Nehring, C. M., & Weyh, C. B. (2020). A educação problematizadora de Paulo Freire no processo de ensino-aprendizagem com as novas tecnologias. *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 44497–44507. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-171>

WormAtlas. (2024). <https://www.wormatlas.org/>. WormAtlas. <https://www.wormatlas.org/>

WormBook. (2024). <http://www.wormbook.org/>. WormBook. http://www.wormbook.org/chapters/www_nematodeshistory/nematodeshistory.html

Yue, Y., Li, S., Shen, P., & Park, Y. (2021). *Caenorhabditis elegans* as a model for obesity research. *Current Research in Food Science*, 4, 692–697. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.09.008>

Zhang, W., Zhang, N., Zheng, S., Zhang, W., Liu, J., He, L., Ezemaduka, A. N., Li, G., Ning, J., Xian, B., & Gao, S. (2022). Effects of commercial beverages on the neurobehavioral motility of *Caenorhabditis elegans*. *PeerJ*, 10, e13563. <https://doi.org/10.7717/peerj.13563>

4. CAPÍTULO 2- Desenvolvendo um controle de qualidade alternativo para bebidas industriais: utilizando o organismo modelo *Caenorhabditis elegans* no ensino básico

4.1 Introdução ao artigo

A segurança alimentar é uma questão crítica em escala global, uma vez que a presença de contaminantes em alimentos e bebidas pode gerar sérios riscos à saúde pública. No Brasil, onde o consumo de bebidas industrializadas, como refrigerantes e águas minerais, é elevado, episódios recentes de contaminação destacam a urgência em aprimorar o controle de qualidade desses produtos. Métodos tradicionais de monitoramento, embora eficazes, podem ser complementados por alternativas inovadoras que associem ensino, pesquisa, extensão e inovação, promovendo educação científica e conscientização comunitária (VALEJO, F. A. M., *et al.*, 2003).

Este trabalho, publicado na Revista Alimentos: Ciência Tecnologia e Meio Ambiente, investigou a aplicabilidade de *C. elegans* como bioindicador em análises de toxicidade de bebidas industrializadas. Além de contribuir para a segurança alimentar, a abordagem propõe um modelo interdisciplinar de ensino, que conecta os conceitos de biotecnologia e saúde pública com práticas laboratoriais acessíveis a estudantes do ensino básico.

Desenvolvendo um controle de qualidade alternativo para bebidas industriais utilizando o organismo modelo *Caenorhabditis elegans* no ensino básico

Autores: Douglas Correia de Souza^a; Annelise Santos^b; Bruna Drumond^b; Letícia Gomes^b; Maria Angélica Ferreira^b; Rafaela Drumond^b; Luiz Paulo Rigueira de Moraes^c; Maria Aparecida Scatamburlo Moreira^a; Jackson Victor de Araújo^a.

^a Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa (PPGMV/UFV), Viçosa, MG, Brasil.

^b Colégio Ômega, Viçosa, MG, Brasil.

^c Programa de Pós-graduação em Administração, Universidade Federal de Viçosa (PPGADM/UFV), Viçosa, MG, Brasil.

Resumo

A segurança alimentar é um desafio global, e a presença de contaminantes em alimentos e bebidas representa uma grave ameaça à saúde coletiva. Nosso intuito nesse trabalho foi verificar o nematoide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como um bioindicador de agentes tóxicos em bebidas industriais comercializadas localmente. Este trabalho foi desenvolvido como uma metodologia ativa de ensino acessível no ensino básico em aulas no laboratório de ciências em um colégio. Avaliamos a taxa de sobrevivência dos nematoides após exposição às amostras de diferentes lotes de uma mesma marca popular de refrigerantes. Nossos resultados indicaram que as amostras testadas não causaram toxicidade aguda nos nematoides, sendo compatíveis com o controle negativo. Averiguamos que *C. elegans* pode ser uma ferramenta promissora para o ensino de ciências e para a promoção da educação em saúde, permitindo que estudantes participem ativamente do processo científico no monitoramento da qualidade dos alimentos que consomem.

Palavras-Chave: Contaminação de alimentos; Controle de qualidade; Nematoides.

1. Introdução

As intoxicações alimentares representam um desafio substancial para a saúde pública. Essas intoxicações são causadas por diferentes fontes de contaminação, como substâncias químicas, microrganismos e/ou seus subprodutos tóxicos. Intoxicações alimentares geram uma extensa variedade de agravos à saúde, incluindo casos com sequelas irreversíveis e fatais (Bernardes et al., 2018). De acordo com a OMS (2015), anualmente, cerca de 420 mil pessoas morrem e 600 mil têm danos à sua saúde após ingerirem alimentos contaminados. Assim, é indicado monitorização ampla e constante desses alimentos para reduzir tais riscos. A automatização na produção de alimentos, quando realizada segundo padrões de boas práticas, fornece um bom controle no processo, aumentando a seguridade desses produtos em relação a desvios da cadeia produtiva. A população brasileira figura entre os maiores consumidores de refrigerantes no mundo. Estudos recentes demonstraram que os refrigerantes estão entre os 20 alimentos ultra processados que população brasileira consome como parte regular da sua dieta (Rodrigues et al., 2021; WHO, 2015).

Recentemente uma série de óbitos associados ao consumo de bebidas industriais contaminadas, com destaque para cervejas contaminados por dietilenoglicol, geraram grande repercussão midiática. Casos como o citado, evidenciam a relevância dos riscos à saúde pública decorrentes da contaminação de alimentos e bebidas, demandando uma análise aprofundada dos processos de produção e controle de qualidade (CQ) desses produtos (Caldeira et al., 2021; Mansur, 2022). Essas lacunas significativas na detecção de desvios na cadeia produtiva de bebidas e na mitigação de riscos potenciais, destacam a necessidade contínua de pesquisa e inovação no CQ desses produtos. Assim, além de inovação nesses CQ, é importante o desenvolvimento de formas da própria comunidade realizar testes do que consome, somando aos já realizados pelo estado e iniciativa privada (Teixeira & Gemal, 2014).

Nesse trabalho foi utilizado o nematoide *C. elegans* como um bioindicador de agentes tóxicos. *C. elegans* é um organismo modelo mundialmente utilizado para

diversos tipos de análises toxicológicas. É um animal invertebrado com cerca de 1mm de comprimento. Seu uso ganhou popularidade graças ao trabalho pioneiro de Sydney Brenner e de outros cientistas que se dedicaram ao mapeamento de seu genoma e à compreensão de seu desenvolvimento, comportamento e rede neuronal. Vantagens como baixo custo e fácil manutenção do animal em laboratório o tornam um modelo interessante para o desenvolvimento de CQ de alimentos, pois responde bem a contaminantes (Hoshino et al., 2008; Hunt, 2017). Trabalhos recentes utilizaram o nematoide para avaliar os efeitos de bebidas em parâmetros fisiológicos, sobrevivência do animal e como agente neuroprotetivo nos modelos de Parkinson e Alzheimer (Canedo-Reis et al., 2023; De Oliveira Caland et al., 2019; Zhang et al., 2022).

Nosso intuito foi avaliar o nematoide *C. elegans* como um bioindicador de agentes tóxicos para o CQ de bebidas de consumo humano. Selecionamos refrigerantes industriais, vendidos no comércio local da cidade de Viçosa-MG-Brasil. Outro aspecto crucial para o desenvolvimento do trabalho, foi que ele pudesse ser realizado como uma metodologia ativa de ensino e como forma de extensão universitária entre o Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa e as escolas de ensino básico do município. Assim o projeto propôs desenvolver ambientes pluriversitários de aprendizagem inclusivo, no qual o conhecimento e avanço científico seja gerado, compartilhado e valorizado. Dentro dessa abordagem enfatizamos a importância do diálogo multidisciplinar, incentivando a ocupação e criação de espaços onde diferentes abordagens, como de ensino e pesquisa possam ser transmitidas e compartilhadas em uma comunidade (Souza Santos, 2008, 2023).

2. Material e Métodos

2.1 Seleção das amostras

Foram selecionadas 25 amostras de diferentes lotes de uma única marca popular de refrigerante. As amostras foram adquiridas no comércio local da cidade de Viçosa-MG-Brasil, e foram mantidas protegidas da luz e em temperatura ambiente até o momento da análise.

2.2 Cultivos dos organismos

Foram utilizadas cepas de origem do CGC (*Caenorhabditis Genetics Center*) doadas gentilmente pela Dra Francine Coa (USP). Utilizamos a cepa de *C. elegans* Bristol N2 e a cepa de bactéria *Escherichia coli* OP50 como fonte de alimento para os animais. O cultivo das placas foi realizado nos laboratórios do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa e as análises no laboratório de ciências do Colégio Ômega na cidade de Viçosa-MG-Brasil. Os vermes foram cultivados em incubadora B.O.D a 20 °C em placas contendo Meio-NGM (1,7% Bactoágar, 0,5% Bacto peptona, 50 mM NaCl, 25 mM tampão fosfato de potássio pH 6,0, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄ e 5 µg/mL de colesterol, H₂O qsp 1 litro) semeadas com caldo Luria incubado com a cepa *E. coli* OP50. Foi preparado meio tampão M9 (3 g KH₂PO₄, 6 g Na₂HPO₄, 5 g NaCl, 1 ml 1 M MgSO₄, H₂O qsp 1 litro) para coleta e lavagem dos animais e das placas. Foi utilizado S. Basal como meio de exposição e controle (5.85 g NaCl, 1 g K₂HPO₄, 6 g KH₂PO₄, 1 mL colesterol (5 mg/mL em etanol), H₂O qsp 1 litro)) Todos os materiais utilizados durante as análises no colégio retornaram ao Departamento de Veterinária para descarte de acordo com protocolos de manejo de resíduos em pesquisa da instituição. Todos os materiais foram manipulados por meio de técnicas estabelecidas (Gubert, 2022).

2.3 Sincronização dos vermes

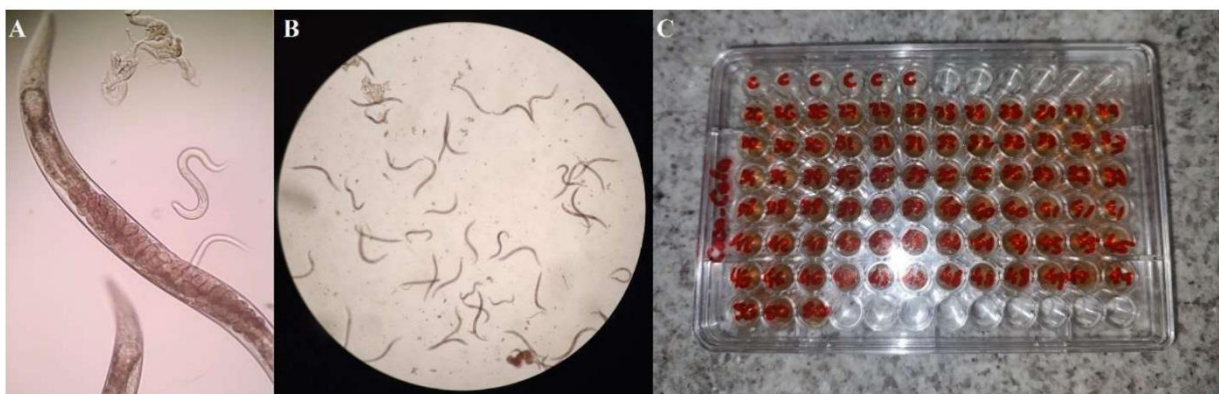
Resumidamente, para sincronizar uma população de *C. elegans* no mesmo estágio larval, vermes adultos grávidos (Figura1A) foram tratados com água estéril contendo NaOH 0,5 M e Hipoclorito de Sódio a 4% (v/v) (NaClO) preparada no momento do uso. Os ovos foram liberados e isolados por agitação, centrifugados (1.300 × g por 1 min) e depois lavados 3 vezes em tampão M9. Na última lavagem os ovos foram suspensos em S. Basal, deixados sob agitação suave a 20°C por 16 horas para que os ovos eclodissem. As larvas L1 foram transferidas para meio NGM e incubadas com *E. coli* OP50 a 20°C por aproximadamente 60 horas até atingirem o estágio L4 (Figura1B).

2.4 Design do experimento

Todas as análises com os nematoides foram realizadas em triplicata. Após serem coletados e lavados 3 vezes em S. Basal, os mesmos foram centrifugados a ($1300 \times g$ por 2 minutos) e a suspensão foi ajustada para que cada 50 μl contivesse >30 vermes L4. Foram pipetados 50 μl de S. Basal contendo os vermes em placa de 96 poços (Figura 1C) contendo 50 μl das amostras (concentração final de 50%), depois incubados em temperatura ambiente por 24 horas. Para cada leitura, 30 nematoides foram recuperados e analisados por microscopia direta. O controle negativo foi realizado também em triplicata onde os vermes foram expostos a S. Basal. Para o controle positivo foi utilizado NaClO a 10% por ser um potencial contaminante no processo industrial e o verme ser sensível ao agente (Gubert, 2022; Menegaro, et al., 2016).

Para determinar a taxa de sobrevivência de *C. elegans*, o número de vermes vivos foi registrado a cada leitura e a porcentagem de vermes sobreviventes foi calculada usando a seguinte fórmula: sobrevivência (%) = (vermes vivos/total de vermes utilizados) \times 100. Os vermes foram considerados mortos quando não responderam a estímulo mecânico.

Figura 1- *Caenorhabditis elegans* em ensaio laboratorial. (A) *Caenorhabditis elegans* adulto gravido e ao lado em estágio L1. (B) Vermes sincronizados em estágio L4 recém expostos aos refrigerantes. (C) Placa de 96 Poços onde foram realizados os testes de exposição.



Fonte: Autores, 2024.

2.5 Análises estatísticas

A análise de dados foi realizada utilizando o software Microsoft Excel. As comparações entre os grupos foram conduzidas usando a análise de variância de uma via (One Way ANOVA, Tukey pós teste). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (Fay, 2013; Sant'anna & Vommaro & De Souza, 2013).

3. Resultados e Discussão

Após a exposição dos nematoides às amostras de refrigerante (Tabela 1), não foi observada mortalidade significativa dos animais em nenhuma das 25 amostras testadas. Os grupos experimentais, incluindo o controle negativo (nematoides expostos apenas ao meio S. Basal), apresentaram taxas de sobrevivência superiores a 97%, indicando que não houve efeito tóxico agudo dos refrigerantes nas condições testadas. O controle positivo apresentou 100% de mortalidade, indicando a já conhecida toxicidade aguda do Hipoclorito de Sódio no modelo. Se demonstrou diferenças estatística significativa das medias de sobrevivência das amostras testadas com o controle positivo. Não houve diferença estatística entre a média de sobrevivência das amostras e do controle negativo ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).

Tabela 1. Sobrevivências de *Caenorhabditis elegans* expostos a amostras de refrigerantes.

Teste	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão
Amostras (n=25)	97*	100*	100*	99*	192%	1,1
Controle Negativo (S. Basal)	100	100	100	100	0%	0,0
Controle Positivo (NaClO)	0**	0**	0**	0**	0%	0,0

Valores com (*) não apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo. Valores com (**) apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo. Ambos valores com (*e**) indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).

A ausência de mortalidade dos nematoides expostos as amostras sugere que os refrigerantes analisados são seguros em termos de toxicidade de agentes sensíveis ao nematoides sob as condições experimentais empregadas. A escolha de *C. elegans* como bioindicador foi fundamentada na sua alta sensibilidade a diversos agentes

tóxicos encontrados em alimentos e na facilidade de manipulação em laboratório. Estudos anteriores já utilizaram o modelo na detecção de toxicidade em outros tipos de amostras alimentares, como água, sucos, e outras bebidas industriais (Clavijo et al., 2016; Mudd & Liceaga, 2022; Zhang et al., 2022). Outros trabalhos também utilizaram a associação de patógenos encontrados em alimentos como cepas de *E. coli* diarréioagênicas, como *E. coli* enteroagregativa e enterohemorrágica, além de *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus* (Hoshino et al., 2008).

A ausência de mortalidade dos nematoides em nosso estudo pode estar relacionada a diferentes fatores, como a natureza dos compostos presentes nos refrigerantes ou a necessidade de um período de exposição mais prolongado para observar efeitos tóxicos. É importante ressaltar que, apesar de *C. elegans* ser um modelo eficiente para estudos de toxicologia, a ausência de efeitos tóxicos agudos observados neste estudo não elimina a possibilidade de efeitos subcrônicos ou crônicos que não foram avaliados. Adicionalmente, a metodologia utilizada pode ser complementada com outros testes toxicológicos e bioensaios que avaliem diferentes parâmetros fisiológicos e comportamentais dos nematoides. A implementação de um CQ alternativo usando *C. elegans* pode fornecer uma ferramenta adicional para monitorar a segurança de bebidas industriais, contribuindo para a saúde de uma população. Outra potencial vantagem no uso do modelo, seria o seu uso para CQ com a ISO 10872-2020 que utiliza uma metodologia com padronização internacional para análise da água, solo e efluentes. Assim, pode ser utilizada no CQ da água de uso na fabricação dos alimentos, assim como seus outros componentes, além do produto final, aumentando as chances de se triar desvios na cadeia produtiva (ISO, 2020). É necessário sempre considerar a complementação com outras abordagens e análises para garantir uma avaliação mais abrangente da segurança dos produtos. Apesar de apresentar alta sensibilidade ao contaminantes, testes "*in vivo*", quando feitos em apenas uma espécie ou tipo celular possuem baixa especificidade. Assim, é interessante em estudos futuros a verificação e correlação dos principais contaminantes nesses produtos e expor o nematoide e outros organismos e cultivos celulares para definir apropriadamente o modelo como um bioindicador para padronização em escala industrial. Outro limitante que o

nematoide só irá apresentar mortalidades expressivas em agentes que lhe causarem essa resposta, assim a triagem de outros contaminantes específicos em humanos e outros modelos, não é compatível com a metodologia. Essa metodologia deve ser aperfeiçoada e testada em diferentes alimentos, associando os principais contaminantes e seus limites máximos a diferentes respostas no modelo.

Os resultados deste estudo destacam a importância de pesquisas contínuas e inovações no campo dos CQ de alimentos e bebidas. A utilização de metodologias integrativas que envolvam a comunidade e a educação, como a parceria com escolas de ensino básico, pode potencializar o impacto dessas práticas, promovendo uma cultura de segurança alimentar e consumo consciente. Os alunos do colégio participaram da organização do trabalho, na coleta das amostras, na execução da metodologia em laboratório e apresentaram seus resultados na feira de ciências em forma de pôster. Esse trabalho foi realizado em parceria com o professor de biologia e como parte do processo avaliativo dos alunos.

4. Conclusão

Nosso principal objetivo nesse trabalho foi desenvolver com os alunos do ensino básico, formas de ensino ativo em aulas de biologia onde os estudantes aprendessem a partir do desenvolvimento e inovação científica. Para isso, os alunos escolheram um alimento cotidiano para análise laboratorial, nesse caso refrigerantes de uma popular marca. *C. elegans* respondeu bem as nossas expectativas, foi um teste rápido, barato e com metodologia acessível aos estudantes. A falta de mortalidade dos animais em todas as amostras testadas evidencia, com as limitações do teste, seguridade para consumo humano. O desenvolvimento da pesquisa dentro da sala de aula, como forma de se criar ambientes pluriversitários, tem grande potencial no processo de aprendizagem dos alunos e geram ao mesmo tempo um produto de extensão que pode somar na vigilância de saúde de uma comunidade.

5. Agradecimentos

Esta pesquisa foi apoiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

(Fapemig) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) código financeiro 001.

6. Referências

Bernardes, N. B., Facioli, L. D. S., Ferreira, M. L., Costa, R. D. M., & Sá, A. C. F. D. (2018). Intoxicação alimentar: Um problema de Saúde Pública. *Id on line Revista de Psicologia*, 12, 894–906.

Caldeira, L. R., Madureira, F. D., Maia, T. D. F., Muller, C. V., & Fernandes, C. (2021). Simultaneous quantification of ethylene glycol and diethylene glycol in beer by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Chemistry*, 346, 128871.

Canedo-Reis, N. A. P., De Oliveira Pereira, F. S., Ávila, D. S., Guerra, C. C., Flores Da Silva, L., Junges, C. H., Ferrão, M. F., & Bergold, A. M. (2023). Grape juice reduces the effects of amyloid β aggregation phenotype and extends the longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nutritional Neuroscience*, 26, 1147–1158.

Clavijo, A., Kronberg, M. F., Rossen, A., Moya, A., Calvo, D., Salatino, S. E., Pagano, E. A., Morábito, J. A., & Munarriz, E. R. (2016). The nematode *Caenorhabditis elegans* as an integrated toxicological tool to assess water quality and pollution. *Science of The Total Environment*, 569–570, 252–261.

De Oliveira Caland, R. B., Cadavid, C. O. M., Carmona, L., Peña, L., & De Paula Oliveira, R. (2019). Pasteurized Orange Juice Rich in Carotenoids Protects *Caenorhabditis elegans* against Oxidative Stress and β -Amyloid Toxicity through Direct and Indirect Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–13.

Fay, D. S. (2013). A biologist's guide to statistical thinking and analysis. *WormBook*, 1–54.

Gubert, P. (2022). Guia para pesquisadores iniciantes em *Caenorhabditis elegans*. Rio de Janeiro: Publicar Editora.

Hoshino, K., Yasui, C., Ikeda, T., Arikawa, K., Toshima, H., & Nishikawa, Y. (2008). Evaluation of *Caenorhabditis elegans* as the Host in an Infection Model for Food-borne Pathogens. *Japanese Journal of Food Microbiology*, 25(4), 137–147.

Hunt, P. R. (2017). The *C. elegans* model in toxicity testing. *Journal of Applied Toxicology*, 37(1), 50–59.

International Organization for Standardization. (2020). *Water Quality – Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of Caenorhabditis elegans (Nematoda)*. ISO 10872: 2020. Geneva: International Organization for Standardization.

Mansur, R. (2022). Caso Backer: Mais de 2 anos após mortes por intoxicação, Justiça começa a ouvir testemunhas. *G1 Minas — Belo Horizonte*. Disponível em: <https://g1.globo.com/mg/minas-gerais/noticia/2022/05/23/caso-backer-mais-de-2-anos-apos-mortes-por-intoxicacao-justica-comeca-a-ouvir-testemunhas.ghtml>

Menegaro, A.; Flores, A, & Sbardelotto. (2016). Sanitizantes: Concentrações e aplicabilidade na indústria de alimentos. *Scientia Agraria Paranaensis*, 15, 2, 171–174.

Mudd, N., & Liceaga, A. M. (2022). *Caenorhabditis elegans* as an in vivo model for food bioactives: A review. *Current Research in Food Science*, 5, 845–856.

Rodrigues, R. M., Souza, A. D. M., Bezerra, I. N., Pereira, R. A., Yokoo, E. M., & Sichert, R. (2021). Evolução dos alimentos mais consumidos no Brasil entre 2008-2009 e 2017-2018. *Revista de Saúde Pública*, 55, 1–10.

Sant’anna, V., Vommaro, R. C., & De Souza, W. (2013). *Caenorhabditis elegans* as a model for the screening of anthelmintic compounds: Ultrastructural study of the effects of albendazole. *Experimental Parasitology*, 135, 1–8.

Souza Santos, B. (2008). *A Universidade no sec. XXI: por uma universidade nova*. Cortez Editora: São Paulo.

Souza Santos, B. (2023). *O futuro começa agora*. São Paulo: Boitempo.

Teixeira, C. R. R. R., & Gemal, A. L. (2014). Segurança Alimentar e Vigilância Sanitária: Dois pesos e duas medidas e a qualidade fora da balança. *Vigilância Sanitária em Debate*, 0(0), 407/202.

WHO. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015. (2015). *Who*. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/.

Zhang, W., Zhang, N., Zheng, S., Zhang, W., Liu, J., He, L., Ezemaduka, A. N., Li, G., Ning, J., Xian, B., & Gao, S. (2022). Effects of commercial beverages on the neurobehavioral motility of *Caenorhabditis elegans*. *PeerJ*, 10, e13563. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.13563>.

5. CAPÍTULO 3 Nematicidal activity of Equine milk in *Caenorhabditis elegans*

5.1 Introdução ao artigo

O uso de agentes naturais como alternativas sustentáveis para o controle de microorganismos têm recebido crescente atenção devido à resistência antimicrobiana e aos impactos negativos causados pelo uso excessivo de pesticidas na saúde humana, animal e ambiental. Neste contexto, o leite de diferentes espécies animais tem se destacado por suas propriedades bioativas, incluindo atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias, amplamente documentadas em estudos científicos. Espécies como cabras e camelos já demonstraram alta eficácia contra nematóides, posicionando-se como potenciais agentes naturais de controle parasitário (ALIMI, D.; REKIK; AKKARI, 2019; ALIMI, Dhouha *et al.*, 2016; D S *et al.*, 2023).

Este estudo publicado na Revista Dairy & Veterinary Sciences investigou, pela primeira vez, a atividade nematicida do leite equino utilizando *C. elegans* como modelo experimental. Além disso, compara sua eficácia com leite de cabra, leite bovino e leite bovino UHT, destacando o potencial biotecnológico do leite equino para controle de parasitas em alinhamento com práticas sustentáveis e o conceito de Saúde-Única.



Nematicidal activity of Equine milk in *Caenorhabditis elegans*



Correia DS^{1*}, Argumedo AKJ¹, Queiroz CL¹, Morais LPR², Moreira MAS¹ and Araujo JV¹

¹Department of Veterinary, Federal University of Viçosa, Viçosa, Brazil

²Department of Administration and Accounting, Federal University of Viçosa, Viçosa, Brazil

Submission: December 20, 2024, Published: January 10, 2025

*Corresponding author: Douglas C Souza, Department of Veterinary, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil

Abstract

The present study investigated the nematicidal activity of equine milk using the model nematode *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Samples of mare's, goat's and cow's milk were sampled in parallel, in addition to UHT bovine milk used as a negative control. Equine milk samples demonstrated significant nematicidal activity, with an average nematode survival rate of 31% after 24 hours of exposure. In comparison, goat's milk showed an average of 64% survival, while bovine milk did not exhibit relevant nematicidal activity, with a survival rate of 94%, consistent with the negative control. This study brings to the literature, for the first time, the nematicidal potential of equine milk, highlighting its value as a natural agent for parasite control, aligning with sustainable practices and the principles of the One Health concept.

Keywords: Animal health; biological control; nematodes; One Health

Introduction

The use of natural agents as sustainable alternatives for controlling microorganisms that negatively impact human and animal health and agricultural management has received increasing attention as an innovative and promising strategy. This interest arises in response to the growing antimicrobial resistance and the harm to human, animal, and environmental health caused by the excessive use of pesticides [1,2].

In this context, milk and its derivatives have stood out as a highly relevant resource due to their bioactive properties of interest in health. These properties include antimicrobial and anti-inflammatory activities, widely evidenced in different species [3,4]. Notable examples, such as goat and camel milk, have demonstrated high efficacy in generating mortality in different nematodes, highlighting their potential for sustainable parasite control as well as the development of natural therapeutic alternatives with additional health benefits [5,6].

Equine milk, as well as that from other animals, is already known for its nutritional and therapeutic properties [7]. Rich in nutrients and chemically similar to human milk, it is an alternative to cow's milk, especially for people with IgE-mediated allergies. In

Italy, for individuals with allergies, equine milk is recommended as a substitute for cow's milk [8]. Additionally, equine milk has significant bioactivities and is traditionally used in Central Asia to treat digestive and cardiovascular diseases.

Recent studies have demonstrated the model nematode *C. elegans* as an indicator of nematicidal bioactivity in various natural materials, including milk. This approach is accessible and efficient for initial experimental screenings [9-11]. Thus, the present study evaluated the nematicidal activity of milk from different species, using *C. elegans* as a model. The primary focus was equine milk, whose nematicidal activity had not yet been described in the literature.

Material and Methods

Milk samples

This study was carried out in accordance with the ethical guidelines for the use of animals and was approved by the Animal Ethics Committee (CEUA) of the Federal University of Viçosa under protocol number 55/2019. Milk from mares (n=7), cows (n=10), and goats (n=10) was used in exposure tests to the model nematode. Milk from mares and cows was collected at the

Veterinary Hospital of the Department of Veterinary Medicine of UFV and from farms in the surrounding region, while goat milk samples were obtained from the goat sector of the Department of Animal Science of the Federal University of Viçosa. This sector is also located in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. UHT (Ultra-High-Temperature Processing) cow milk from different batches (n=10) purchased from local stores was used as a negative control due to its similarity to milk, but without high nematocidal activity, as previously evidenced [10]. Samples were kept at 4°C until the time of analysis, with sample collection and exposure procedures initiated within 4 hours of milking. [12,13]

Nematode culture and synchronization

C. elegans Bristol N2 and *Escherichia coli* (*E. coli*) OP50 from CGC (Caenorhabditis Genetics Center) were kindly donated by Dr. Francine Côa (USP). The culture media and manipulation of the organisms were performed using conditional techniques. The worms were maintained in a B.O.D incubator at 20°C on nematode growth medium (NGM) plates (1.7% Bacto agar, 0.5% Bacto peptone, 50 mM NaCl, 25 mM potassium phosphate-free pH 6.0, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄ and 5 µg/mL cholesterol, H₂O for 1 liter). The (*E. coli*) OP50 strain was used as a food source [14].

To synchronize age- and stage-matched *C. elegans* strains, gravid adult worms were exposed to sterile water containing 0.5 M NaOH and 4% bleach solution (NaOH), this solution was prepared at the time of use. Eggs were released and isolated by vortexing, then centrifuged (1,300 × g for 1 min) and washed 3 times in M9 releases (3 g KH₂PO₄, 6 g Na₂HPO₄, 5g NaCl, 1 ml 1 M MgSO₄, H₂O to 1 liter). After the last wash, eggs were suspended in S Basal (5.85 g NaCl, 1 g K₂HPO₄, 6 g KH₂PO₄, 1 ml cholesterol (5 mg/ml in ethanol), H₂O to 1 liter) under gentle absorption at 20°C for 4 h. This process aims at egg hatching. With lack of food, the animals do not develop, remaining as L1 larvae. After the eggs have fully hatched, the larvae are cultured on NGM agar with (*E. coli*) OP50 at 20°C for ~60 h until they reach the L4 stage [15]. After this period, the organisms were collected and washed 3 times in S.

Basal, centrifuged at (1300×g for 2 min) and the suspension was adjusted so that each 50µl contained ~400 L4 worms.

Experimental design

The nematodes were transferred in triplicate for each reading, with 50µl of nematode suspension added to each well of a 96-well plate containing 50µl of the milk samples diluted in M9 buffer. The plates were then incubated at 20°C. For each reading, at least 100 nematodes were recovered and analyzed using direct microscopy. To determine the survival rate of *C. elegans*, the number of live worms was recorded after 24 hours, and the percentage of surviving worms was calculated using the following formula: Survival (%) = (live worms / total worms used) × 100. Worms were considered dead if they did not respond to stimulation with a platinum wire pick.

Statistics Analysis

Microsoft Excel software was used for statistical analyses. Comparisons between the controls and exposed groups were conducted using one-way analysis of variance (ANOVA). Differences were considered significant when p < 0.05 [16,17].

Results

The survival of *C. elegans* after 24 hours of exposure to different types of milk was assessed, including equine, bovine, goat, and UHT bovine milk, which was used as the negative control. The results showed significant variation in the survival rates across the milk samples analyzed. Equine milk exhibited the lowest survival rate, with an average of 31% nematode survival. Bovine milk, as previously shown, did not display nematocidal activity, with a survival rate of 94%, and no statistically significant differences were observed between the UHT bovine milk samples tested (p≤0.05). Goat milk showed an average survival rate of 64%. A statistically significant difference in mortality was observed between the equine and goat milk samples when compared to the negative control (p ≤ 0.05). (Table 1)

Table 1: Survival results of *Caenorhabditis elegans* after 24 hours of exposure to equine, goat, cow, and UHT bovine milk samples (negative control).

Sample	% Survival					
	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Equine Milk (n=7)	31%	32%	31%	31%**	58%	33%
Bovine Milk (n=10)	93%	94%	94%	94%*	58%	33%
Goat Milk (n=10)	63%	66%	64%	64%**	153%	88%
UHT Milk (Negative Control) (n=10)	97%	98%	99%	98%	100%	58%

Values marked with (*) show no statistical difference compared to the negative control. Values marked with (**) show a statistical difference compared to the negative control. Both values marked with (*) and (**) indicate a statistically significant difference (p<0.05; One-way ANOVA, Tukey post-test).

Discussion

As a nematode, *C. elegans* shares biological characteristics with parasitic helminths, making it a valuable tool for preclinical research on nematocidal agents. This is particularly relevant due to the difficulties associated with cultivating parasitic nematodes, especially because of the need for a secondary host organism [16].

The consumption of equine milk, unconventional in the West, is gaining attention as a food source and antipathogenic agent, with the potential to complement or even replace traditional allopathic treatments. This is especially significant in the context of organic livestock management, which aligns with the concept of One Health by promoting natural, economically viable, and socially participatory practices [1].

The composition of milk varies between species, influenced by genetic, physiological, and environmental factors. In a previous study, Saanen goats exhibited higher nematocidal activity in the milk produced compared to other breeds [10]. However, the activity varied between individuals, with some animals showing samples similar to negative controls. Therefore, evaluating the nematocidal activity of each animal is essential for efficient use of milk. Among the milk samples tested in the present study, equine milk also emerged as the primary focus of nematocidal activity. Although equine milk has not been widely studied, our results demonstrate that it possesses significant nematocidal activity, with *C. elegans* showing a notably low survival rate when exposed to it.

Given the variation in activity observed between different species and individuals, it is essential to investigate in depth the molecular mechanisms behind this activity and its potential for applications in various fields, including natural pathogen control and therapeutic uses. Tests on parasitic nematodes, followed by evaluating the ability to reduce infections caused by these pathogens in mammals, are needed to fully understand the potential of equine milk as a therapeutic agent and assess its efficacy in controlling parasitic infections in animals and humans [17]. These findings suggest that equine milk has natural nematocidal potential, making it a promising biotechnological agent. This contribution is particularly relevant given the growing interest in equine milk, both for its unique nutritional and therapeutic properties, including its potential applications in the food and pharmaceutical industries.

Conclusion

For the first time, this study was able to assess the nematocidal activity of equine milk using *C. elegans*. Our results reveal that equine milk exhibits significant nematocidal effects, as evidenced by the notably low survival rate of *C. elegans* upon exposure. This finding has the potential to move forward with the knowledge and technologies that use the potential of equine milk in the field and industry.

Acknowledgment

This research was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) Finance code 001.

References

- Collignon Pj, Mcewen Sa (2019) One Health-Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. *Tropical Medicine and Infectious Disease* 4(1): 22-29.
- Velazquez-Meza, Me (2022) Antimicrobial resistance: One Health approach. *Veterinary World* Pp: 743-749.
- Biadała A (2020) Antimicrobial activity of goat's milk fermented by single strain of kefir grain microflora. *European Food Research and Technology* 246(6):1231-1239.
- Azizkhani M, Saris PEJ, Baniyasi M (2021) An in-vitro assessment of antifungal and antibacterial activity of cow, camel, ewe, and goat milk kefir and probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15(1): 406-415.
- Alimi D (2016) First report of the in vitro nematocidal effects of camel milk. *Veterinary Parasitology* 228: 153-159.
- Alimi D, Rekik M, Akkari H (2019) Comparative in vitro efficacy of kefir produced from camel, goat, ewe and cow milk on *Haemonchus contortus*. *Journal of Helminthology* 93(4): 440-446.
- Barreto ÍMLG (2019) Equine milk and its potential use in the human diet. *Food Science and Technology* 39(1): 1-7.
- Musaev A (2021) Mare's Milk: Composition, its Properties and Uses in Medicine. *Archives of Razi Institute*.
- Hahnel SR (2020) *Caenorhabditis elegans* in anthelmintic research – Old model, new perspectives. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 14: 237-248.
- Correia DS (2023) Nematocidal Activity of Goat Milk in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Dairy & Veterinary Sciences* 15(3): 1-5.
- Mudd N, Liceaga AM (2022) *Caenorhabditis elegans* as an in vivo model for food bioactives: A review. *Current Research in Food Science* 5: 845-856.
- Stiernagle T (2006) Maintenance of *C. elegans*. *Worm Book*.
- Gubert P (2022) Guia para pesquisadores iniciantes em *Caenorhabditis elegans*. [s.l.] Publicar Editora.
- Burns AR (2015) *Caenorhabditis elegans* is a useful model for anthelmintic discovery. *Nature Communications* 6(1): 7485.
- Alimi D (2018) In vivo nematocidal potential of camel milk on *Heligmosomoides polygyrus* gastro-intestinal nematode of rodents. *Helminthologia* 55(2):112-118.
- Fay DSA (2013) biologist's guide to statistical thinking and analysis. *Worm Book* p: 1-54.
- Sant'anna V, Vommaro RC, De Souza W (2013) *Caenorhabditis elegans* as a model for the screening of anthelmintic compounds: Ultrastructural study of the effects of albendazole. *Experimental Parasitology* 135(1):1-8.



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI:10.19080/JDVS.2025.17.555964

Your next submission with Juniper Publishers will reach you the below assets

- Quality Editorial service
- Swift Peer Review
- Reprints availability
- E-prints Service
- Manuscript Podcast for convenient understanding
- Global attainment for your research
- Manuscript accessibility in different formats
(Pdf, E-pub, Full Text, Audio)
- Unceasing customer service

Track the below URL for one-step submission

<https://juniperpublishers.com/online-submission.php>

6. CAPÍTULO 4 *Caenorhabditis elegans* como um bioindicador de contaminações para controle de qualidade de *Whey Protein*

6.1 Introdução ao artigo

Segundo a Organização Mundial da Saúde as intoxicações alimentares continuam sendo um grave problema de saúde pública, afetando milhões de pessoas anualmente. No Brasil, o crescimento no consumo de *Whey Protein*, um suplemento alimentar de origem animal amplamente utilizado, destaca a importância de rigorosos controles de qualidade ao longo de sua cadeia produtiva (FELIX, 2023; OMS, 2015).

Este estudo, submetido a Segurança Alimentar e Nutricional apresenta o uso do nematóide *C. elegans* como uma ferramenta biotecnológica para a avaliação da qualidade deste produto.

Caenorhabditis elegans* como um bioindicador de contaminações para controle de qualidade de *Whey Protein

6.2 Resumo

Introdução: Intoxicações alimentares geram mortes e agravos à saúde. Alimentos vendidos comercialmente já passam por diversos controles de qualidade (CQ), na indústria e por órgãos estatais. Porém não existe formas de uma comunidade testar o produto final que consomem.

Objetivo: Dessa forma, neste trabalho avaliamos o nematoide, organismo modelo, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como uma ferramenta biotecnológica para avaliar a qualidade de alimentos, neste caso, *Whey Protein*. **Método:** Realizamos testes de exposição aos nematoides com 25 amostras de 4 diferentes marcas de *Whey Protein* vendidas comercialmente.

Resultados: Não foi verificada mortalidade nos nematoides expostos por 24 horas, com as médias de sobrevivência sendo compatíveis com o controle negativo. **Conclusão:** *C. elegans* se mostrou uma ferramenta com grande potencial biotecnológico, devido às suas características técnicas, sendo barato e acessível.

Palavras-chave: Biotecnologia; Controle qualidade; Nematoides.

Abstract:

Introduction: Food poisoning causes deaths and health problems. Commercially sold foods already undergo several quality controls (CQ) in the industry and by government agencies.

However, there is no way for a community to test the final product they consume. **Objective:** Therefore, in this study, we evaluated the nematode, a model organism, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) as a biotechnological tool to evaluate the quality of foods, in this case, *Whey Protein*. **Method:** We performed nematode exposure tests with 25 samples of 4 different brands of commercially sold *Whey Protein*. **Results:** No mortality was observed in nematodes exposed for 24 hours, with survival rates compatible with the negative control. **Conclusion:** *C. elegans* proved to be a tool with great biotechnological potential, due to its technical characteristics, being cheap and accessible.

Keywords: Biotechnology; Quality control; Nematodes.

6.3 Introdução

Intoxicações alimentares geram inúmeros agravos a saúde e podem ser fatais. De acordo com a OMS, essas intoxicações afetam anualmente mais de 1 milhão de pessoas das quais, cerca de 400 mil, culminam em óbitos. É uma área que demanda constante pesquisa, controle e que constitui um desafio complexo para a Saúde pública (1,2).

As intoxicações são causadas por diferentes fontes, como substâncias químicas, microorganismos e seus subprodutos tóxicos. Também podem ser classificadas pelo momento onde se gerou a contaminação, como na matéria prima, na pré-produção, na produção ou no produto final. As indústrias que produzem esses alimentos e os órgãos de vigilância sanitária públicas reduzem os danos dessas intoxicações com o monitoramento constante desses alimentos através de CQ. Processos de automatização na cadeia produtiva de alimentos, melhoram as aplicações de CQ, reduzindo a liberação de alimentos com desvios na cadeia produtiva (3–5).

Whey Protein, ou proteína do soro de leite, é um produto de origem animal vendido normalmente em forma de pó. Existem versões do produto feitas com leite bovino, caprino e de bufalinos. É uma mistura de diversas proteínas globulares isoladas do soro, subproduto do leite na produção do queijo. É considerado um produto com alto valor agregado, por seu um material de rápida digestão e que possui uma alta diversidade de aminoácidos essenciais. Entre eles, possui alto nível de leucina, molécula essencial para síntese proteica muscular. Assim, é muito utilizado como suplemento alimentar em contextos esportivos, para crescimento muscular e manutenção de massa magra (6). Além de outros benefícios para a saúde, como regulação de glicose (7). O consumo de Whey Protein no Brasil é expressivo, cresceu 25% em 2022 em relação ao ano anterior (8). Em 2023, cerca de 12 toneladas foram importadas, totalizando 96 milhões de dólares (9).

Como alimento de origem animal, seu consumo, envolve inúmeras instâncias passíveis de contaminação, abrangendo desde a saúde dos animais, dos humanos envolvidos na produção do leite e o ambiente naquele local, o transporte até a fábrica, sua produção, envase e armazenamento do produto final até ser consumido. Dessa forma, os CQ desses produtos, podem ser considerados compatíveis com o conceito de Saúde-Única, pois envolve e necessita da plena saúde dos animais, humanos e do ambiente para mitigar agravos em todos esses níveis (10).

Recentemente, casos fatais por intoxicações por alimentos, no caso cervejas contaminadas por dietilenoglicol, geraram atenção da grande mídia, alertando a população

sobre os possíveis desvios da cadeia produtiva desses alimentos industrializados. Assim, existem lacunas substanciais na detecção de agentes tóxicos em alimentos, evidenciando a urgência no desenvolvimento de inovação nesses CQ para monitoramento contínuo desses produtos (11,12).

Uma abordagem que pode somar na promoção de saúde, a partir de CQ desses alimentos é a perspectiva de Pluriversidade Solidária. A partir desse conceito, trabalhamos com a criação de ambientes inclusivos de ensino que possibilitam a transmissão de conhecimentos e técnicas importantes para uma comunidade (13,14).

Esse projeto foi desenvolvido através de parcerias entre a Universidade e escolas de ensino básico. Desse modo, a própria comunidade, através dos estudantes podem contribuir para o CQ de alimentos que consomem. Aprendendo com o desenvolvimento de biotecnologias que possam agregar na promoção de saúde humana, dos animais e do ambiente. Para isso, utilizamos o organismo modelo *C. elegans* para indicar possíveis agentes tóxicos na triagem de alimentos.

C. elegans é um nematoide de vida livre que mede cerca de 1mm. Seu sequenciamento, realizado por Brenner e colaboradores em 2002, evidenciou que seu genoma possui ortólogos para até 80% de genes humanos. Esse fato, junto com vantagens técnicas e éticas para seu uso na pesquisa e ensino, tem potencializado o uso do modelo. Por ser um animal invertebrado não necessita de aprovação de comitês de ética para seu uso. É cultivado em meio a base de ágar e alimentado com *Escherichia coli* (*E. coli*), tornando sua manutenção fácil e barata (15,16). Trabalhos recentes vêm utilizando o modelo para monitorar efeitos tóxicos em alimentos, em água e outros materiais de consumo humano e animal (17–19).

Dentro dessas perspectivas, nosso intuito foi realizar testes de exposição a deferentes marcas e lotes de Whey Protein vendido localmente. Esse trabalho foi realizado no laboratório de Ciências do colégio pelos alunos como metodologia ativa com foco em Biotecnologia e Saúde-Única. Essa atividade foi realizada como forma de extensão entre a Universidade e as escolas de ensino básico do município.

6.4 Material e Métodos

6.4.1 Seleção das amostras

Foram selecionadas 25 amostras de diferentes lotes de 10 marcas de Whey Protein vendidos no comércio local. Todas as amostras foram pesadas, alíquotadas, mantidas em temperatura ambiente e protegidas da luz até o momento da análise.

6.4.2 Cultivo e Sincronização dos nematoides

Nesse trabalho utilizamos cepas de *C. elegans* N2 Bristol e de *E. coli* OP50, de origem do *Caenorhabditis Genetics Center* (CGC), doadas pela Dra. Francine Coa (USP). As análises foram realizadas nos laboratórios do Colégio Ômega e posteriormente repetidas nos laboratórios Departamento de Medicina Veterinária, ambos em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Os vermes foram cultivados em incubadora *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D) a 20°C em placas contendo Meio-NGM (1,7% Bactoágar, 0,5% Bacto peptona, 50 mM NaCl, 25 mM tampão fosfato de potássio pH 6,0, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄ e 5 µg/mL de colesterol, H₂O a 1 litro) semeadas com caldo Luria Broth incubado com a cepa *E. coli* OP50 e foram manipulados por meio de técnicas estabelecidas. Foi preparado meio tampão M9 (3g KH₂PO₄, 6g Na₂HPO₄, 5g NaCl, 1 ml 1M MgSO₄, H₂O para 1 litro) para coleta e lavagem dos animais das placas. Para o meio de exposição foi utilizado S. Basal como meio de exposição (5.85g NaCl, 1g K₂HPO₄, 6g KH₂PO₄, 1ml colesterol (5 mg/ml em etanol), H₂O para 1 litro)) (20). Todos os materiais utilizados durante as análises no colégio retornaram aos laboratórios da Universidade para descarte de acordo com protocolos de descarte de resíduos em pesquisa da instituição. Todas as análises foram repetidas em laboratórios do departamento para publicação.

Para sincronizar *C. elegans* no mesmo estágio larval, vermes adultos grávidos foram tratados com água estéril contendo NaOH 0,5 M e solução de água sanitária a 4% (NaClO) preparada no momento do uso. Os ovos foram liberados e isolados por agitação, centrifugados (1.300 x g por 1 min) e depois lavados 3 vezes em tampão M9 (3g de KH₂PO₄, 6g de Na₂HPO₄, 5g NaCl, 1ml de MgSO₄ 1 M, H₂O a 1 litro). Na última lavagem os ovos foram suspensos em S Basal (5,85g NaCl, 1g K₂HPO₄, 6g KH₂PO₄, 1ml de colesterol (5 mg/ml em etanol), H₂O para 1 litro), deixados sob agitação suave a 20°C por 16 h para que os ovos eclodam. As larvas L1 foram transferidas para meio NGM com *E. coli* OP50 a 20°C por ~ 60 horas até atingirem o estágio L4. Após serem coletados e lavados 3 vezes em S. Basal, foram centrifugados a (1300×g por 2min) e a suspensão foi ajustada para que cada 50µl contenha +30 vermes L4 (20).

6.4.3 Design do experimento

Todas as análises com os nematóides foram realizadas em triplicata, foram pipetados 50 µl de Sbasal contendo os vermes em placa de 96 poços contendo 50 µl das amostras de Whey Protein diluídas em Sbasal nas concentrações de 0,15g/ml (concentração indicada pelos fabricantes) e depois incubados em temperatura ambiente por 24 horas (22°C +-2°C). Em cada leitura, 30 nematóides foram recuperados e analisados por microscopia direta. O controle negativo foi realizado também em triplicada onde os vermes foram expostos a S. Basal. Para o controle positivo, foi utilizado S. Basal com 10% de NaClO, que já é um conhecido agente tóxico agudo ao animal.

Para determinar a taxa de sobrevivência de *C. elegans*, o número de vermes vivos foi registrado a cada leitura e a porcentagem de vermes sobreviventes foi calculada usando a seguinte fórmula: sobrevivência (%) = (vermes vivos/total de vermes utilizados) × 100. Os vermes foram considerados mortos quando não responderam a estímulo mecânico.

6.4.5 Estatística

A análise de dados foi realizada utilizando o SPSS versão 22.0 (SPSS, Universidade de Stanford, EUA). As comparações entre os grupos foram conduzidas usando a análise de variância de uma via (ANOVA). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (21,22).

6.5 Resultados e Discussão

Após a exposição dos nematoides às amostras de Whey Protein (Tabela 1), não foi observada mortalidade significativa dos animais em nenhuma das 25 amostras testadas. Assim, os grupos experimentais, incluindo o controle negativo (nematoides expostos apenas ao meio S. Basal), apresentaram taxas de sobrevivência superiores a 97%, indicando que não houve efeito tóxico agudo nas amostras de Whey Protein nas condições testadas. O controle positivo apresentou 100% de mortalidade.

A ausência de mortalidade nos vermes testados, sugerem que sob as condições realizadas no trabalho, não há a presença de agentes tóxicos que o nematoide é sensível nas amostras. O organismo foi selecionado devido a sua sensibilidade a diversos agentes tóxicos

em amostras alimentares e ambientais. Porém, essa ausência de mortalidade dos animais testados pode estar relacionada a diferentes fatores. A natureza dos compostos presentes no Whey Protein e a necessidade de tempos maiores de exposição são fatores que podem influenciar as análises.

Tabela 1. Resultados da sobrevivência de *Caenorhabditis elegans* expostos por 24 horas a amostras de Whey Protein e aos controles.

Teste	% de Sobreviventes					
	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão
Amostras Marca A (n=5)	100	97	100	100*	192%	111%
Amostras Marca B (n=5)	97	100	97	97*	192%	111%
Amostras Marca C (n=10)	100	100	100	100*	0%	0%
Amostras Marca D (n=5)	100	100	100	100*	0%	0%
Controle Negativo (Sbasal)	100	98	100	100	96%	56%
Controle Positivo (NaClO)	0	0	0	0**	0%	0%

Valores com (*) não apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo. Valores com (**) apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo. Ambos valores com (**e**) indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).

C. elegans tem se mostrado uma poderosa plataforma para estudos toxicológicos. A ausência de mortalidade dos animais testados não elimina a possibilidade de presença de toxinas. Análises de efeitos em parâmetros fisiológicos e comportamentais no modelo podem somar na sensibilidade do teste. Nessa perspectiva, implementar controles de qualidade utilizando o modelo podem fornecer uma plataforma adicional para monitorar e mitigar a presença de agentes tóxicos em alimentos. Ainda sendo necessário, a complementação com outras abordagens e análises, para garantir uma avaliação sensível e abrangente desses alimentos. São necessárias pesquisas e inovação contínua para mitigar intoxicações alimentares. Integrar no ensino básico, métodos de análise de alimentos, pode ser uma maneira eficaz de promoção a Saúde-Única. Assim, gerar uma integração muito mais profunda entre a comunidade e a Universidade.

A metodologia foi desenvolvida para ter uma abrangência maior de aplicabilidade nas escolas, porem deve ser aprimorada ser utilizada a nível laboratorial. Futuros estudos podem avaliar outros aspectos tóxicos no verme e em outros modelos, uma variedade maior de amostras e produtos, versões em bebida, entre outros. Assim, somando na segurança alimentar da comunidade. Importante ressaltar os limitantes da metodologia. O verme só irá gerar

respostas a agentes ao qual é sensível em determinadas concentrações mínimas para tal. Trabalhos recentes vêm demonstrado que o verme responde bem a maioria dos contaminantes que geram agravos em humanos e animais. Assim, é sempre necessário verificar a compatibilidade e limitações da técnica quando aplicada como CQ.

A ISO 10872 de 2020, é uma metodologia de padronização internacional para uso de *C. elegans* como biosensor para avaliar a qualidade de água, solo, efluentes e outros materiais (23). Essa metodologia pode ser empregada a nível laboratorial para analisar e gerar CQ em vários processos da produção do Whey Protein, como o leite, o soro e o material pronto, reduzindo desvios em cada processo.

6.6 Conclusões

Caenorhabditis elegans é um organismo modelo consolidado através de anos de pesquisa realizada por diversos laboratórios pelo mundo. Suas características técnicas e éticas promovem seu sucesso como plataforma biotecnológica. O modelo respondeu bem aos nossos testes, dessa forma, a metodologia desenvolvida pode ser testada e aprimorada como método de controle de qualidade para diversos alimentos de humanos e animais. Assim, pode mitigar intoxicações alimentares.

A transmissão de conhecimentos técnicos pertinentes aos alunos, integrando pesquisa e extensão, através do conceito de Pluriversidade Solidária, pode gerar inúmeros impactos sociais e científicos em uma comunidade.

6.7 Referências

1. Bernardes NB, Facioli LDS, Ferreira ML, Costa RDM, Sá ACFD. Intoxicação Alimentar: Um problema de Saúde Pública. IDonline. 31 de outubro de 2018;12(42):894–906. DOI: <https://doi.org/10.14295/idonline.v12i42.1373>
2. OMS. WHO. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015. Who [Internet]. 2015; Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/.
3. Rodrigues RM, Souza ADM, Bezerra IN, Pereira RA, Yokoo EM, Sichiari R. Evolução dos alimentos mais consumidos no Brasil entre 2008-2009 e 2017-2018. Rev saúde

pública. 26 de novembro de 2021;55(Supl.1):1–10. DOI: <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2021055003406>

4. Valejo, F. A. M., Mantovan, F. B., Rister, G. P., Santos, G. D. D., Andrés, C. D. R. Vigilância sanitária: avaliação e controle da qualidade dos alimentos. *Hig aliment.*, 2003;16–21. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-347934>
5. Silva VBD, Cardoso RDCV. Controle da qualidade higiênico-sanitária na recepção e no armazenamento de alimentos: um estudo em escolas públicas municipais de Salvador, Bahia. *Segur Aliment Nutr.* 9 de fevereiro de 2015;18(1):43. DOI: <https://doi.org/10.20396/san.v18i1.8634687>
6. Costa FR, Maricato E, Dias AMN, Baptista EB. Proteínas do soro do leite: propriedades funcionais e benefícios para a saúde humana. *EFDeportes.* 8 de janeiro de 2021;25(272):106–20. DOI: <https://doi.org/10.46642/efd.v25i272.691>
7. Hayes A, Cribb PJ. Effect of whey protein isolate on strength, body composition and muscle hypertrophy during resistance training: Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. *janeiro de 2008*;11(1):40–4. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3282f2a57d>
8. Felix P. O consumo de Whey Protein no Brasil é expressivo, cresceu 25% no último ano em relação a 2021. *G1 Minas [Internet]. 2023*; Disponível em: [https://veja.abril.com.br/saude/consumo-de-whey-protein-cresce-25-no-brasil-veja-beneficios#:~:text=Apenas%20no%20ano%20passado%2C%20o,Especiais%20e%20Cong%20C3%AAneres%20\(Abiad\).](https://veja.abril.com.br/saude/consumo-de-whey-protein-cresce-25-no-brasil-veja-beneficios#:~:text=Apenas%20no%20ano%20passado%2C%20o,Especiais%20e%20Cong%20C3%AAneres%20(Abiad).)
9. Strickland F. Importação de Whey cresce 176% em quatro anos, mostra análise. *Correia Braziliense [Internet]. 2024*; Disponível em: <https://www.correio braziliense.com.br/economia/2024/05/6865860-importacao-de-whey-cresce-176-em-quatro-anos-mostra-analise.html>
10. Beckman TO, De Souza CCN, Do Nascimento KLA, Andrade Junior WADS, Da Silva RCV, Rocha IM, et al. O papel do médico veterinário frente a saúde única – uma revisão. *Sci Electronic Arch [Internet]. 31 de outubro de 2023 [citado 5 de setembro de 2024]*;16(11). Disponível em: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1805>
11. Caldeira LR, Madureira FD, Maia TDF, Muller CV, Fernandes C. Simultaneous quantification of ethylene glycol and diethylene glycol in beer by gas chromatography

- coupled to mass spectrometry. *Food Chemistry*. junho de 2021;346:128871. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128871>
12. Mansur R. Caso Backer: mais de 2 anos após mortes por intoxicação, Justiça começa a ouvir testemunhas. *g1 Minas — Belo Horizonte*. 23 de maio de 2022;
 13. Souza Santos B. *A Universidade no sec. XXI: por uma universidade nova*. 2008. Boitempo.
 14. Souza Santos B. *o futuro começa agora*. 2023.
 15. Hoshino K, Yasui C, Ikeda T, Arikawa K, Toshima H, Nishikawa Y. Evaluation of *Caenorhabditis elegans* as the Host in an Infection Model for Food-borne Pathogens. *Jpn J Food Microbiol*. 2008;25(4):137–47. DOI: <https://doi.org/10.5803/jsfm.25.137>
 16. Hunt PR. The *C. elegans* model in toxicity testing. *J of Applied Toxicology*. janeiro de 2017;37(1):50–9. DOI: <https://doi.org/10.1002/jat.3357>
 17. Canedo-Reis NAP, De Oliveira Pereira FS, Ávila DS, Guerra CC, Flores Da Silva L, Junges CH, et al. Grape juice reduces the effects of amyloid β aggregation phenotype and extends the longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nutritional Neuroscience*. 2 de novembro de 2023;26(11):1147–58. DOI: <https://doi.org/10.1080/1028415X.2022.2140394>
 18. De Oliveira Caland RB, Cadavid COM, Carmona L, Peña L, De Paula Oliveira R. Pasteurized Orange Juice Rich in Carotenoids Protects *Caenorhabditis elegans* against Oxidative Stress and β -Amyloid Toxicity through Direct and Indirect Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 18 de abril de 2019;2019:1–13.
 19. Zhang W, Zhang N, Zheng S, Zhang W, Liu J, He L, et al. Effects of commercial beverages on the neurobehavioral motility of *Caenorhabditis elegans*. *PeerJ*. 14 de julho de 2022;10:e13563. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.13563>
 20. Gubert P. *Guia para pesquisadores iniciantes em Caenorhabditis elegans*. Publicar Editora; 2022.
 21. Sant’anna V, Vommaro RC, De Souza W. *Caenorhabditis elegans* as a model for the screening of anthelmintic compounds: Ultrastructural study of the effects of albendazole. *Experimental Parasitology*. setembro de 2013;135(1):1–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.011>

22. Fay DS. A biologist's guide to statistical thinking and analysis. WormBook. 9 de julho de 2013;1–54. DOI: <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.159.1>,
23. ISO. Water Quality – Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). ISO 10872: 2020. Geneva: International Organization for Standardization; 2020.

7. CAPÍTULO 5 Desenvolvimento de um bioindicador de agrotóxicos superficiais em alimentos *in natura* utilizando *Caenorhabditis elegans* no ensino básico

7.1 Introdução ao artigo

Os agrotóxicos afetam a saúde humana, animal e ambiental, sendo considerado um dos principais problemas de Saúde-Única. Este artigo apresenta o desenvolvimento de um bioindicador para a detecção de agrotóxicos e outros agentes tóxicos na superfície de frutas e legumes *in natura*, utilizando o nematóide *Caenorhabditis elegans* como ferramenta sensível e de baixo custo (HOSHINO, K.; YASUI, C., IKEDA, T., ARIKAWA, K., TOSHIMA, H., & NISHIKAWA, Y, 2008; ISO, 2020; MUDD; LICEAGA, 2022).

Dessa forma, o trabalho amplia o portfólio de metodologias ativas de ensino que integrem conhecimentos científicos e práticos sobre os efeitos dos agrotóxicos. Também fortalece a compreensão da importância da lavagem dos alimentos e de iniciativas para a produção de alimentos livres de agentes tóxicos.

O manuscrito foi submetido a Revista Brasileira de Educação em Ciências e Educação em Matemática.

**DESENVOLVIMENTO DE UM BIOINDICADOR DE AGROTÓXICOS
SUPERFICIAIS EM FRUTAS E LEGUMES *IN NATURA* UTILIZANDO
CAENORHABDITIS ELEGANS NO ENSINO BÁSICO**

7.2 Resumo

Resumo: O presente trabalho utilizou o organismo modelo nematóide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como bioindicador para avaliar a presença de agrotóxicos na superfície de frutas e legumes *in natura*. Este trabalho foi desenvolvido dentro dos princípios da Pluriversidade Solidária (PS) e da abordagem Ciência, Tecnologia e Sociedade (CTS), promovendo a participação ativa dos alunos do ensino básico em todo o processo científico no desenvolvimento de soluções para os problemas de saúde de sua comunidade. Dessa forma, água destilada foi utilizada para lavar os vegetais selecionados e este material residual foi utilizado em desafio contra os organismos. Os resultados destacam a presença de agentes tóxicos na superfície de 5 dos 12 vegetais testados, sendo capazes de gerar mortalidade nos nematoides nas condições testadas. Também destacamos o potencial do *C. elegans* como ferramenta educacional para uso em aulas de investigação em laboratório.

Palavras-chave: Ensino de Saúde; Metodologia ativa; Saúde-Única.

Abstract: This study used the nematode model organism *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) as a bioindicator to assess the presence of pesticides on the surface of fresh fruits and vegetables. This study was developed within the principles of Solidarity Pluriversity (PS) and the Science, Technology and Society (CTS) approach, promoting the active participation of elementary school students throughout the scientific process in developing solutions to the health problems of their community. Thus, distilled water was used to wash the selected vegetables, and this residual material was used as a challenge against the organisms. The results highlight the presence of toxic agents on the surface of 5 of the 12 vegetables tested, being capable of generating mortality in the nematodes under the conditions tested. We also highlight the potential of *C. elegans* as an educational tool for use in laboratory investigation classes.

Keywords: Pesticides; Laboratory class; Active methodology; One Health.

7.2 Introdução

Agrotóxicos são compostos químicos empregados na agricultura para mitigar e controlar diversas formas de pragas que afetam as culturas. Essas substâncias acarretam efeitos adversos significativos não apenas para saúde humana, mas também dos animais e do ecossistema. O Brasil está entre os maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, o que tem gerado significativas preocupações em termos de saúde pública (Lopes & Albuquerque, 2021; Rocha & Alvarez, 2023).

Os vegetais que produzimos utilizando esses compostos químicos, carregam resíduos tanto no seu interior como na sua superfície, devido às características da aplicação. Embora não seja possível remover os compostos tóxicos internos dos alimentos, é recomendável lavar e higienizar esses vegetais antes do consumo para reduzir significativamente a presença de agentes tóxicos encontrados em suas superfícies (Saúde, 2014). É importante ressaltar que animais de produção e de companhia também podem ser afetados ao consumirem alimentos produzidos com insumos contaminados (Michel, 2021). Os agrotóxicos encontrados se situam centralmente como uma problemática no conceito de Saúde-Única, dado o grande número de correlações e impactos já estabelecidos com o bem-estar humano, animal e ambiental. Dessa forma, são necessários meios de difusão de conhecimento para a população e melhores controles na identificação desses agentes tóxicos (Losch et al., 2022).

A Pluriversidade Solidária (PS) surge com a proposta de estabelecer métodos de extensão mais tangíveis e organizados, incentivando a disseminação de saberes pertinentes para as sociedades e suas comunidades (Guilherme et al., 2015). A PS é um conceito amplo que alcança várias áreas do saber, com variadas metodologias de ensino, pesquisa, extensão e inovação. Na essência, ela visa criar ambientes de aprendizado inclusivos, onde o saber é produzido, compartilhado e circulado horizontalmente. Esta perspectiva destaca a interação multidisciplinar, incentivando a ocupação e a formação de espaços onde diversas formas de ensino, pesquisa e inovação possam ser desenvolvidas e disseminadas, ao invés de se limitar a um grupo restrito (Souza Santos, 2008). A aplicação prática da PS pode ser realizada através de ações didático-pedagógicas inclusivas que promovam a troca de saberes e diferentes pontos de vista para a formação de pessoas e o progresso de suas comunidades (de Souza Santos, 1997; 2023).

Pesquisadores em educação focados em Ciência, Tecnologia e Sociedade (CTS) têm reconhecido a importância de abordar os diversos aspectos relacionados a diferentes temáticas atuais. Nesse sentido, o ensino de ciências na educação básica deve ser direcionado para

capacitar os alunos a compreenderem e enfrentarem os diversos desafios da atualidade de forma consciente, reflexiva e participativa (Pinheiro et al., 2007).

Neste trabalho, utilizamos o organismo modelo *C. elegans* como bioindicador para avaliar a presença de agrotóxicos e outros agentes tóxicos na superfície de alimentos *in natura* comercializados localmente. Esta seleção foi motivada por diversos fatores, incluindo a sensibilidade do organismo e a necessidade de utilizar materiais acessíveis aos alunos e que não representassem riscos de biossegurança, permitindo assim a realização das análises no laboratório da escola. Assim, como objetivo crucial para o desenvolvimento deste trabalho foi conceber uma metodologia ativa de ensino, visando a sua execução como uma atividade de extensão entre a Universidade e escolas de ensino básico. Onde os alunos pudessem participar do processo de inovação dentro do ciclo básico através da aplicação de métodos científicos com o tema central de agrotóxicos e Saúde-Única.

7.2.1 *Caenorhabditis elegans* como modelo e seu potencial pluriversitário

C. elegans é um nematóide de vida livre que vem sendo estudado e desenvolvido como organismo modelo a quase um século. Seu cultivo e manutenção são relativamente fáceis e possuem baixo custo. Também não necessita de equipamentos avançados para sua manipulação. Por ser um animal invertebrado, pode ser utilizado na pesquisa e no ensino sem a necessidade de aprovação de conselhos de ética, desde que não envolvam humanos e animais vertebrados. O genoma do animal foi totalmente sequenciado em 2002. Assim, estima-se que possua até 80% de genes ortólogos a genes humanos. Possui células intestinais, musculares e neurônios com fisiologia similar a humanos e outros mamíferos. Assim, por sua alta sensibilidade a agentes tóxicos, entre eles agrotóxicos, seu uso como ferramenta biotecnológica para detecção desses agentes tem crescido (Athar & Templeman, 2022; Giunti et al., 2021; Mudd & Liceaga, 2022).

A Nematologia, área dedicada ao estudo dos nematoides, apresenta uma trajetória histórica rica e complexa, marcada por contribuições significativas que se entrelaçam com os avanços científicos e os contextos históricos da humanidade. A primeira figura chave na história de *C. elegans* foi Émile Maupas, um arquivista e bibliotecário profissional que viveu em Argel, capital da Argélia e trabalhou com biologia como hobby pessoal. Foi o primeiro a isolar e nomear como *Rhabditis elegans* (posteriormente renomeado de *Caenorhabditis elegans*). Maupas escreveu dois importantes artigos sobre 6 nematoides de vida livre, o primeiro sobre as mudas de cutícula do animal e o desenvolvimento alternativo via larvas Dauer e os modos

de reprodução e suas variações. Maupas utilizou *C. elegans* em uma primeira publicação em 1899 e elucidou melhor aspectos biológicos sobre a espécie em seu artigo de 1900 (Nigon & Félix, 2017). No quadro 1 é descrita sua ascendente importância na ciência.

Uma nova fase importante começa a partir de 1960 com as contribuições de Sydney Brenner, que buscava alternativas aos modelos bacterianos para explorar biologia do desenvolvimento e neurobiologia. Brenner destacou-se por demonstrar a aplicabilidade do nematoide devido ao seu genoma pequeno e compacto, facilitando o sequenciamento completo em 2002, o primeiro de um organismo multicelular. As pesquisas resultaram em descobertas notáveis, como a morte celular programada, relacionada a câncer humano, e o RNA de interferência, ferramenta essencial para controle da expressão gênica e terapias gênicas, laureadas com Prêmios Nobel em 2002 e 2006, respectivamente. Em 2008, a introdução da proteína verde fluorescente (GFP) ampliou sua aplicação em rastreamento celular, enquanto em 2024, os estudos de microRNAs destacaram seu papel na regulação gênica, elucidando mecanismos associados a doenças como câncer, diabetes e desordens autoimunes. Esses avanços consolidam *C. elegans* como um modelo indispensável para a pesquisa biológica e biotecnológica (Nigon & Félix, 2017; Nobel Assembly at the Karolinska Institutet, 2024).

Como plataforma biotecnológica, o organismo modelo nematoide *C. elegans* possui diversas vantagens interessantes para seu uso dentro de escolas de ensino básico como ferramenta laboratorial para a pesquisa. Foram encontrados trabalhos com interação do organismo com diversos tipos de matérias como água, solo, ar, efluentes, alimentos, medicamentos, cosméticos e outros produtos de uso humano e veterinário (Athar & Templeman, 2022; Giunti et al., 2021; Mudd & Liceaga, 2022).

Com a fundação da instituição *Caenorhabditis Genetics Center* (CGC) na Universidade de Minnesota, se formou uma comunidade cooperativa global de ciência utilizando o modelo. Desde sites com informações e artigos com métodos básicos e de cooperação interlaboratoriais como Wormbook, WORMATLAS, OpenWorm. Os sites Wormbook e WORMATLAS oferecem uma ampla gama de artigos, reviews e métodos para utilização com o modelo (CGC Site, 2025; OpenWorm, 2025; WormAtlas, 2025; WormBook, 2025).

No site OpenWorm os estudantes podem visualizar o verme em 3D, evidenciando sua anatomia, seus sistemas e órgãos. Desde então, vários pesquisadores enviam cepas geneticamente modificadas do verme para o CGC a fim de serem distribuídas mundialmente. Métodos de padronização de cultivo e experimentação com o verme também são distribuídos pelas plataformas. O instituto também apoia o uso do nematoide na educação, fornecendo as

cepas do modelo a preço de custo para instituições de ensino públicas e sem fins lucrativos (CGC Site, 2025; OpenWorm, 2025; WormAtlas, 2025; WormBook, 2025).

Quadro 1. Evolução de *Caenorhabditis elegans* como organismo modelo.

Ano	Acontecimento
1899	<i>C. elegans</i> foi descrito por Émile Maupas como <i>Rhabditis elegans</i> , sendo utilizado em suas primeiras publicações.
1900	Estudos sobre <i>C. elegans</i> revelaram suas mudas de cutícula, desenvolvimento por larvas Dauer e modos de reprodução.
1940	<i>C. elegans</i> começou a ser utilizado como organismo modelo em pesquisas de nematoides de vida livre.
1952	O uso de <i>C. elegans</i> em pesquisas foi reduzido devido à falta de financiamento e mudança de foco dos cientistas da época.
1966	<i>C. elegans</i> foi escolhido por Sydney Brenner como organismo modelo para estudos de biologia do desenvolvimento e neurobiologia.
1974	Estudos científicos consolidaram <i>C. elegans</i> como modelo fundamental para pesquisa em genética e desenvolvimento.
2002	O genoma de <i>C. elegans</i> foi completamente sequenciado, tornando-se o primeiro organismo multicelular com o genoma totalmente mapeado.
2002	A pesquisa com <i>C. elegans</i> levou à descoberta dos genes que controlam a morte celular programada, resultando no Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina.
2006	<i>C. elegans</i> foi essencial para a descoberta do mecanismo de RNA de interferência, levando ao Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina.
2008	A proteína fluorescente <i>green fluorescent protein</i> (GFP), aplicada em <i>C. elegans</i> , possibilitou avanços na biologia celular e rendeu o Prêmio Nobel de Química.
2024	O estudo de <i>C. elegans</i> levou à descoberta dos microRNAs e seu papel na regulação gênica pós-transcricional, sendo reconhecido com o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina.

Fonte: Elaborado pelos autores (Nigon & Félix, 2017; Nobel Assembly at the Karolinska Institutet, 2024).

O uso do modelo no ensino de biologia se destaca por sua simplicidade, transparência e facilidade de manipulação genética, permitindo que estudantes observem diretamente processos celulares e moleculares. O modelo foi utilizado para demonstrar conceitos fundamentais, como a invariância do volume embrionário, a formação de eixos corporais e a rastreamento da linhagem celular. Além disso, recursos como vídeos e animações em 3D com a utilização do modelo enriquecem a compreensão dos alunos sobre desenvolvimento embrionário (Lu et al., 2007, 2008).

De acordo com pesquisadores da área de ensino, a abordagem baseada em investigação, utilizando *C. elegans* como ferramenta educacional, promoveu um aprendizado mais ativo e visual, ajudando os alunos a compreenderem melhor a relação entre divisões celulares e a

organização do organismo. Os trabalhos encontrados com o uso do organismo como ferramenta de ensino demonstram sua alta aplicabilidade com estudantes do ensino básico, porém foi visualizado seu uso para evidenciar processos biológicos, onde não foram realizados trabalhos de pesquisa e inovação com o modelo, apenas sendo utilizado como ferramenta didática (Andersen et al., 2008; Lu et al., 2007, 2008; Groth, 2019; Deffit et al., 2017; Glater, 2022).

Todos esses fatores fazem com que o *C. elegans* venha se apresentando como um modelo de alto valor para a extensão do conhecimento científico para a comunidade e com potencial para o desenvolvimento de soluções biotecnológicas para promoção de saúde dentro dos princípios da Pluriversidade Solidária e CTS.

Existem iniciativas pluriversitárias de popularização e horizontalidade da ciência onde alunos do ensino fundamental se envolvem ativamente em estudos científicos. Um caso notável é o Projeto Ciência Viva, realizado em Portugal. Este projeto visa promover a disseminação da ciência e tecnologia na sociedade portuguesa, com ênfase particular nos jovens. Isso é feito através de atividades práticas, visitas a laboratórios e museus, oficinas e experiências interativas (Souza Santos, 2008).

O Projeto Ciência Viva possui uma rede de centros e clubes em todo o país, oferecendo atividades como oficinas, palestras, exposições e experimentos, trazendo benefícios para estudantes e docentes. Ademais, o projeto organiza competições e exposições científicas que oferecem aos alunos a chance de expor suas próprias investigações e projetos (Nunes, 2021).

Em outro projeto, o economista Rogério Roque Amaro implementou recentemente uma Pluriversidade Comunitária em bairros de baixa renda de Lisboa, onde os residentes, juntamente com acadêmicos, selecionam os tópicos e ministram aulas que fomentam a partilha de saberes pertinentes à realidade dessas comunidades (Reis, 2022).

Projetos como estes, têm um papel crucial na conexão da ciência com a sociedade, estimulando o interesse dos alunos e consolidando o progresso da educação científica em suas respectivas nações. Ressalta-se a importância da participação da comunidade na construção e extensão dessas inovações e conhecimentos científicos gerados a partir de pesquisas realizadas pela própria comunidade. Diversas iniciativas educacionais nesse cunho têm surgido visando promover uma abordagem participativa e colaborativa na produção e disseminação do conhecimento científico. A colaboração entre universidades e escolas de ensino básico nesse propósito possui um grande potencial social e científico, promovendo uma circulação mais igualitária de conhecimentos essenciais para a promoção da saúde e do desenvolvimento social. Essa união pode fomentar uma cultura de compartilhamento de saberes e práticas, contribuindo

para uma sociedade mais informada e capacitada a lidar com os desafios atuais do seu entorno (Lacerda Bachettini et al., 2023).

7.4 Materiais e Métodos

7.4.1 Local de execução e Cultivo de *C. elegans*

Os cultivos e confecção dos meios e kits de pesquisa foram realizado nos laboratórios do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. As análises foram realizadas no Laboratório do Colégio Ômega. Todo o material utilizado retornou ao departamento para descarte de acordo com o programa de gerenciamento de resíduos de pesquisa da instituição. Foram utilizadas a cepa de *C. elegans* Bristol N2 e a cepa da bactéria *Escherichia Coli* (*E. coli*) OP50, ambos com origem do CGC.

Os vermes foram cultivados em incubadora B.O.D a 20°C em placas contendo Meio-NGM (1,7% Bactoágar, 0,5% Bactopeptona, 50 mM NaCl, 25 mM KH₂PO₄ pH 6,0, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄ e 5 µg/mL de colesterol, H₂O a 1 litro) semeadas com caldo Luria Broth incubado com a cepa *E. coli* OP50, como fonte de alimento e foram manipulados por meio de técnicas estabelecidas. Foi preparado meio tampão M9 (3 g KH₂PO₄, 6 g Na₂HPO₄, 5 g NaCl, 1 ml 1 M MgSO₄, H₂O para 1 litro) para coleta e lavagem dos animais das placas. Para o meio de exposição foi utilizado S. Basal (5.85 g NaCl, 1 g K₂HPO₄, 6 g KH₂PO₄, 1 ml colesterol (5 mg/ml em etanol), H₂O para 1 litro) (Gubert, 2022; Stiernagle, 2006).

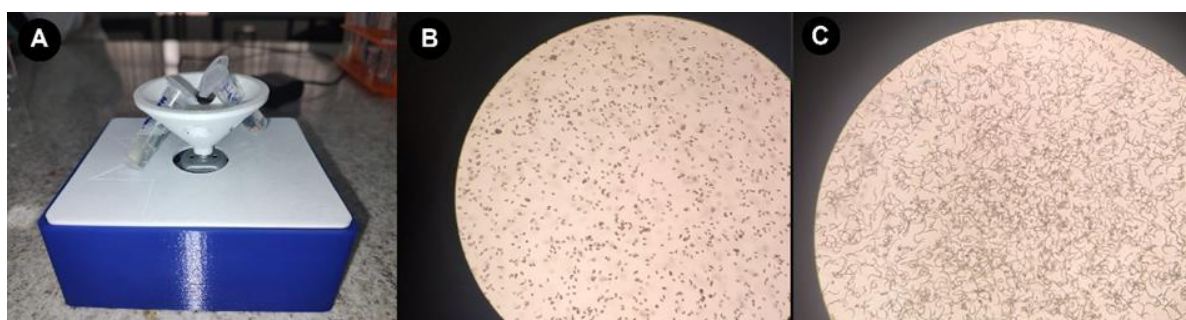
7.4.2 Sincronização dos vermes

Na metodologia utilizada foi necessário a utilização de centrífuga para eppendorfs, dessa forma, utilizamos o modelo de impressão 3D para criarmos nosso próprio equipamento (Figura 1-A) (Sule et al., 2019). Para se cultivar *C. elegans* com a mesma idade e estágio larval, utilizados a técnica de sincronização por lise alcalina. Vermes grávidos foram expostos a Solução de Lise (Água destilada (H₂O), Hidróxido de Sódio (NaOH) a 0,5 M e Hipoclorito de Sódio (NaClO) a 4% em tubos falcon e agitados manualmente por cerca de 5 minutos. Após a agitação, as amostras foram lavadas e centrifugadas 3 vezes com meio M9.

Os ovos foram resuspendidos em meio S. Basal e mantidos a 20°C por 16 horas. Nesse momento é possível visualizar com os alunos apenas os ovos isolados (Figura 1-B). Durante esse período os ovos eclodem, liberando larvas L1 que por falta de comida entram em inanição

(Figura 1-C). Assim, em sequência, quando alocadas em placas NGM contendo *E. coli*, todos os animais se alimentam e se desenvolvem juntos até o estágio L4 em cerca de 60 horas. Os vermes em L4 foram lavados e alocados em meio S. Basal ajustado para conter mais de 30 vermes por 50ul (Gubert, 2022).

Figura 1. Processo de sincronização alcalina. A- Centrífuga desenvolvida pelos próprios alunos através de modelos para impressão 3D abertos encontrados na internet. B- Ovos de *Caenorhabditis elegans* isolados. C- Larvas em estágio L1 cerca de 16 horas após a sincronização.



Fonte: Autores (2024).

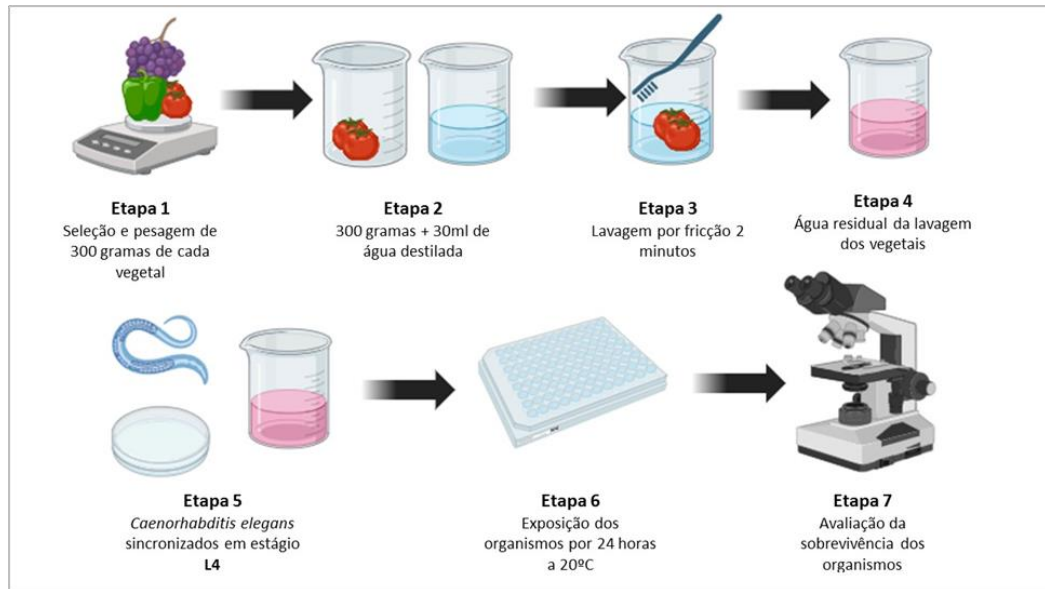
7.4.3 Design do experimento

O experimento foi realizado como na Figura 2. Foram selecionados pelos alunos 12 vegetais *in natura* de diferentes comércios locais: pimentão (n=6), uva (n=1), tomate cereja (n=4) e goiaba (n=1). Foram pesados 300 gramas de cada vegetal, armazenado em temperatura ambiente e protegido da luz até o momento da análise.

Para as análises os alimentos foram friccionados por cerca de 2 minutos em 30ml de água destilada com ajuda de escovas de dente novas previamente higienizadas (Figura 3). A água residual da lavagem desses alimentos foi utilizada para exposição aos nematóides.

As placas de meio-NGM (Figura 4-A) contendo *C. elegans* sincronizados em estágio L4 (Figura 4-B) foram lavadas e os animais coletados, onde a solução final foi ajustada para conter cerca de 100 vermes a cada 50ul (Figura 4-C). Em placas de 6 poços foram pipetados 50ul de meio M9 contendo os vermes e 50ul de caldo Luria Broth com *E. coli* OP50 como fonte de alimento. Foram utilizadas 3 ml da água residual da lavagem desses alimentos para cada exposição feita em triplicata.

Figura 2- Esquema da metodologia utilizada no desenvolvimento de *Caenorhabditis elegans* como bioindicador de agrotóxicos superficiais de frutas e legumes *in natura*.



Fonte: Autores, Biorender (2024).

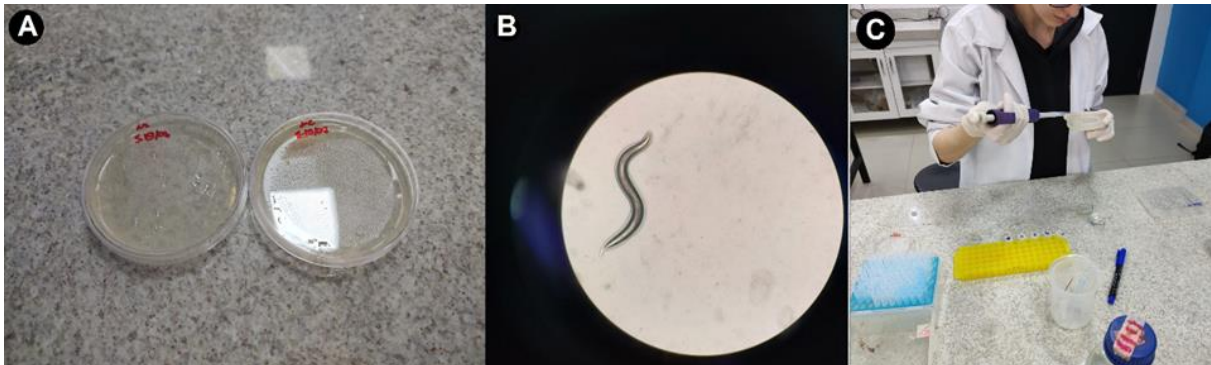
Figura 3- Processo de lavagem dos alimentos. A- Estudante utilizando a proveta para medir 30ml de água destilada. B- Lavagem de uvas em água destilada. C- Lavagem de pimentão em água destilada.



Fonte: Autores (2024).

Os vermes foram expostos por 24 horas em temperatura ambiente, onde foi escolhido um local arejado e protegido da luz (20°C \pm 4°C). Água destilada foi utilizada como controle negativo e NaClO, já conhecido agente tóxico ao nematoide, foi utilizado a 10% como controle positivo, ambos também realizados em triplicata.

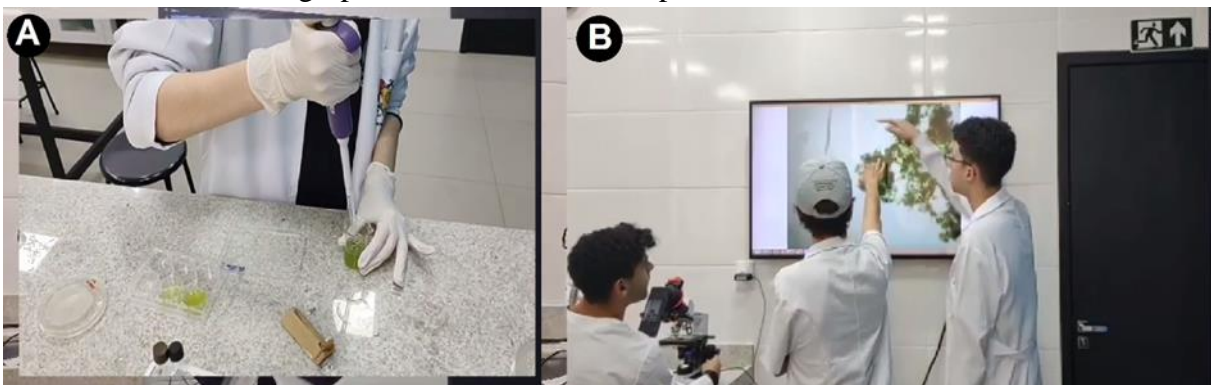
Figura 4- Montagem do experimento com os alunos. A- Placas de meio NGM contendo *C. elegans*. B- *C. elegans* em estágio larval L4 no microscópio. C- Lavagem das placas para coleta dos animais.



Fonte: Autores (2024).

Após 24 horas de exposição as amostras foram analisadas em placas NGM novas onde os animais foram aclimatados e analisados em grupo no microscópio conectado a TV. Para cada leitura, 30 nematóides foram analisados (Figura 5-B). A porcentagem de sobrevivência foi calculada utilizando a seguinte fórmula: $\text{sobrevivência (\%)} = (\text{vermes vivos} / \text{total de vermes utilizados}) \times 100$. Os vermes foram considerados vivos ao apresentarem movimento e mortos quando não responderam a estímulo mecânico (Gubert, 2022; Stiernagle, 2006).

Figura 5- Desenvolvimento do experimento. A- Aluna pipetando a água residual da lavagem dos vegetais em placas de 6 poços. B- Alunos realizando a leitura das amostras em grupo utilizando o microscópio conectado a TV.



Fonte: Autores (2024).

7.4.4 Estatística

Para analisar os dados coletados pelos alunos, o software Microsoft Excel foi utilizado. As comparações entre os controles e os grupos expostos foram conduzidas usando a análise de variância de uma via (ANOVA) com o pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (Fay, 2013; Sant'anna et al., 2013).

7.5 Resultados e Discussão

Os resultados das mortalidades após 24 horas de exposição à água de lavagem dos vegetais estão expressos na Tabela 1. Dos 12 alimentos testados, 5 apresentaram mortalidades expressivas em relação ao controle negativo ($p < 0,05$). Isso demonstra a presença na superfície desses vegetais de agentes tóxicos sensíveis aos nematoides nas condições testadas. Esses resultados evidenciam que resíduos de agrotóxicos e/ou outros agentes tóxicos aplicados na produção agrícola permanecem na superfície de alimentos *in natura* mesmo após transporte e armazenamento.

Tabela 1. Resultados da sobrevivência de *Caenorhabditis elegans* expostos 24 horas a água residual da lavagem de vegetais comercializados localmente. Valores com (*) apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).

Teste	% de Sobreviventes				Desvio Padrão	Erro Padrão
	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Média		
Controle Negativo (S. Basal)	97	100	100	99	192%	1,1
Controle Positivo (NaClO a 10%)	0	0	0	0*	0%	0,0
Tomate Cereja Amostra 1	67	77	60	68*	839%	4,8
Tomate Cereja Amostra 2	83	90	70	81*	1018%	5,9
Tomate Cereja Amostra 3	90	80	97	89	839%	4,8
Tomate Cereja Amostra 4	73	70	67	70*	333%	1,9
Pimentão Verde Amostra 1	70	67	63	67*	333%	1,9
Pimentão Verde Amostra 2	100	97	100	99	192%	1,1
Pimentão Verde Amostra 3	100	100	97	99	192%	1,1
Pimentão Verde Amostra 4	97	100	97	98	192%	1,1
Pimentão Verde Amostra 5	97	97	100	98	192%	1,1
Pimentão Verde Amostra 6	100	100	97	99	192%	1,1
Uva Amostra 1	50	60	40	50*	1000%	5,8
Goiaba Amostra 1	93	100	97	97	333%	1,9

Fonte: Autores (2024).

O teste necessita ser validado relacionando a área de superfície do alimento e sua reposta fisiológica aos contaminantes identificáveis nas amostras. Outro ponto interessante é que a resposta do organismo aos contaminantes, evidenciando o resultado de todas as misturas de agentes bioativos encontrados naquele material. Dessa forma, a água residual desses alimentos, continha agentes tóxicos ao ponto de causar mortalidade nos animais após 24 horas de exposição.

A ISO 10872 de 2020, utiliza o organismo modelo para análises toxicológicas de água e outros materiais residuais. Assim, categoriza a alteração de parâmetros fisiológicos em relação a controles negativos para suas análises. A ISO avalia o crescimento, fertilidade e reprodução do organismo exposto por 96 horas ao material. Dessa forma, o biosensor desenvolvido pode ser aprimorado para ser mais sensível e cumprir com requisitos de padronização internacional na identificação de agentes tóxicos (ISO, 2020).

Os usos de metodologias ativas, como a desenvolvida neste trabalho, permitiram que os alunos investigassem a presença de agrotóxicos e outros agentes tóxicos nos alimentos. Assim, visualizam na prática os efeitos da resposta desses agentes nos animais testados, contribuindo para uma visão crítica sobre como esses mesmos agentes podem influenciar sua saúde, sua comunidade, dos animais e do ambiente.

Ao realizar as práticas os alunos puderam desenvolver formas ativas de observar e evidenciar os efeitos dos agrotóxicos e outros contaminantes tóxicos na superfície de alimentos. Essa prática foi realizada com intuito dos alunos criarem a oportunidade de visualizar através do experimento a importância da lavagem dos alimentos e os riscos inerentes ao consumir alimentos contaminados. Esse trabalho também foi ponte de discussão sobre os impactos dos agrotóxicos para a saúde humana, animal e ambiental e como mitigar esses riscos.

Os alunos discutiram sobre a importância do Estado em controlar o uso desses agrotóxicos. Países da Europa foram utilizados como exemplo, já que possuem valores máximos desses contaminantes na água e alimentos muito menores que no Brasil. Um exemplo abordado foi o Glifosato, o herbicida mais vendido no Brasil. Na União Europeia seu limite máximo na água é de 0.1ug/L. No Brasil, o limite máximo é 5.000 vezes maior, cerca de 500ug/L. O livro *Colonialismo Químico* e os gráficos do trabalho de Larissa Bombardi foram apresentados para construir com os alunos a proporção dos efeitos do Glifosato e de outros agrotóxicos à saúde humana, animal e ambiental (Bombardi, 2023).

O tema agrotóxicos tem grande importância nesse foco devido à sua complexidade e relevância atual. Desenvolver saúde é um processo que deve envolver toda a população. Isso implica não apenas na transmissão de conhecimentos teóricos, mas também no desenvolvimento de habilidades práticas que consigam promover saúde-única. Além disso, é necessário construir ambientes pluriversitários onde os alunos, em sentido comunitário, adquiram habilidades e capacidades técnicas com capacidade de gerar transformações sociais a partir da ciência.

Dentro desse contexto, a Universidade e os professores do ensino básico desempenham um papel fundamental, a partir do desenvolvimento de pesquisas que alcancem o ensino básico

e a comunidade onde estão inseridos. Essa abordagem não só enriquece a produção e aprendizado acadêmico, mas também promove um ambiente horizontal em todos que participam como protagonistas, gerando consciências ambientais mais amplas e uma postura proativa diante dos desafios de se gerar saúde no contexto atual (Das Chagas De Azevedo Ribeiro et al., 2021).

A abordagem prática do conceito CTS dentro de um eixo Pluriversitário tem potencial de extrapolar barreiras tradicionais de ensino, promovendo a integração entre o conhecimento científico e sua aplicação prática na comunidade onde esses estudantes se encontram (Souza de Castro, 2022). Como metodologia ativa, os alunos desempenham o papel de protagonistas do desenvolvimento e inovação científica, fortalecendo um ensino que comunique a ideia de produção horizontal, plural e inclusiva.

7.6 Conclusões

Este estudo demonstrou o potencial de *C. elegans* como uma ferramenta biotecnológica e educacional para avaliar a presença de agrotóxicos em alimentos *in natura*. A abordagem permitiu que alunos do ensino básico desenvolvessem habilidades práticas e críticas por meio de metodologias ativas. Promovendo o engajamento no processo científico e a conscientização sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde humana, animal e ambiental. Além de reforçar a importância da higienização de alimentos e informações sobre seus efeitos a saúde humana, animal e ambiental, o trabalho destacou a necessidade de políticas públicas mais rigorosas no controle de contaminantes, integrando ciência e sociedade em um contexto de Saúde-Única, Ciência Tecnologia e Sociedade e Pluriversidade Solidária.

7.7 Referências

ANDERSEN, J., KRICHEVSKY, A., LEHESTE, J. R., & MOLONEY, D. J. *Caenorhabditis elegans* as an undergraduate educational tool for teaching RNAi. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, 36(6), 417–427, 2008. <https://doi.org/10.1002/bmb.20233>

ATHAR, F., & TEMPLEMAN, N. M. *C. elegans* as a model organism to study female reproductive health. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 266, 111152, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.111152>

BOMBARDI, L. M. **Agrotóxicos e colonialismo químico**. Primeira edição, Editora Elefante, São Paulo, 2023.

CGC SITE. University of Minnesota. Disponível em: <https://cgc.umn.edu/> Acesso: 25/01/2025

DAS CHAGAS DE AZEVEDO RIBEIRO, D., GREFF PASSOS, C., & MISKINIS SALGADO, T. D. A temática ambiental Agrotóxicos no Ensino de Ciências da Educação Básica: Uma revisão bibliográfica. **Revista da Sociedade Brasileira de Ensino de Química**, 2(1), e022102, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.56117/resbenq.2021.v2.e022102>

DEFFIT, S. N., NEFF, C., & KOWALSKI, J. R. Exploring *Caenorhabditis elegans* Behavior: An Inquiry-Based Laboratory Module for Middle or High School Students. **The American Biology Teacher**, 79(8), 661–667, 2017. <https://doi.org/10.1525/abt.2017.79.8.661>

DE SOUZA SANTOS, B. **Pela mão de Alice: O social e o político na pós-modernidade**. 4^o ed. Editora Cortez, Perdizes, 1997.

FAY D.S. A biologist's guide to statistical thinking and analysis. **WormBook**. 1–54, 2013.

GLATER, E. E. The Basics of Setting up Successful Teaching Labs and Short-Term Projects with *C. elegans*. Em G. Haspel & A. C. Hart (Orgs.), **C. elegans** (Vol. 2468, p. 25–41). Springer US. 2022. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2181-3_2

GIUNTI, S., ANDERSEN, N., RAYES, D., & DE ROSA, M. J. (2021). Drug discovery: Insights from the invertebrate *Caenorhabditis elegans*. **Pharmacology Research & Perspectives**, 9(2), e00721, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/prp2.721>

GROTH, A. C. Using *C. elegans* notch mutants in an undergraduate cancer biology laboratory course to demonstrate oncogenic effects on cell proliferation. **Journal of Biological Education**, 53(3), 265–273, 2019. <https://doi.org/10.1080/00219266.2018.1469536>

GUBERT, P. **Guia para pesquisadores iniciantes em *Caenorhabditis elegans***. Publicar Editora, 2022.

GUILHERME, M., DIETZ, G., & DE SOUSA SANTOS, B. (2015). **Da universidade à pluriversidade: Reflexões sobre o presente e o futuro do ensino superior**. Revista Lusófona de Educação, 2015. Disponível em: <https://revistas.ulusofona.pt/index.php/rleducacao/article/view/5388>

ISO 10872: 2020. **Water Quality – Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda)**. Geneva: International Organization for Standardization.

LACERDA BACHETTINI, A., QUINTANA LOPES, L., LUIZ BARRETO DA SILVA, H., & CRISTINA SCOLARI, K. **Pluriversidade em projetos de extensão: resultados e impacto social, cultural e étnico**. Expressa Extensão, 28(2), 158–165, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.15210/expressa.v28i2.6557>

LOPES, C. V. A., & ALBUQUERQUE, G. S. C. D. Desafios e avanços no controle de resíduos de agrotóxicos no Brasil: 15 anos do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. **Cadernos de Saúde Pública**, 37(2), e00116219, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0102-311x00116219>

LOSCH, E. L., ZANATTA, C. B., BARROS, G. P. D., GAIA, M. C. D. M., & BRICARELLO, P. A. Os agrotóxicos no contexto da Saúde Única. **Saúde em Debate**, 46(spe2), 438–454, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-11042022e229>

LU, F.-M., ELICEIRI, K. W., SQUIRRELL, J. M., WHITE, J. G., & STEWART, J. Student Learning of Early Embryonic Development via the Utilization of Research Resources from the Nematode *Caenorhabditis elegans*. **CBE—Life Sciences Education**, 7(1), 64–73, 2008. <https://doi.org/10.1187/cbe.07-09-0066>

LU, F.-M., ELICEIRI, K. W., STEWART, J., & WHITE, J. G. WormClassroom.org: An Inquiry-rich Educational Web Portal for Research Resources of *Caenorhabditis elegans*. **CBE—Life Sciences Education**, 6(2), 98–108, 2007. <https://doi.org/10.1187/cbe.06-07-0176>

MICHEL, G. **Operação Carne Tóxica descobre esquema de venda de agrotóxicos ilegais que eram misturados na ração ou sal mineral animal**. G1 2021. Disponível em: <https://g1.globo.com/go/goias/noticia/2021/07/07/operacao-carne-toxica-descobre-esquema-de-venda-de-agrotoxicos-ilegais-que-eram-misturados-na-racao-ou-sal-mineral-animal.ghtml>

MUDD, N., & LICEAGA, A. M. *Caenorhabditis elegans* as an *in vivo* model for food bioactives: A review. **Current Research in Food Science**, 5, 845–856, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.05.001>

NIGON, V. M., & FÉLIX, M.-A. History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. **WormBook**, 1–84, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.181.1>

NOBEL ASSEMBLY AT THE KAROLINSKA INSTITUTET. (2024). 2024 **Nobel Prize in Physiology or Medicine**. The Nobel Assembly at the Karolinska Institutet. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/uploads/2024/11/press-medicineprize2024.pdf>

NUNES, S. **Entrevista a Rosalia Vargas, presidente da Ciência Viva**. Nunes, S., (46), 2021. ISSN: 08746885. Disponível em: <https://doi.org/10.34619/MKFF-S00N>

OPENWORM SITE, OpenWorm Foundation, 2025. Disponível em: <https://openworm.org/>

PINHEIRO, N. A. M., SILVEIRA, R. M. C. F., & BAZZO, W. A. Ciência, Tecnologia e Sociedade: **A relevância do enfoque CTS para o contexto do Ensino Médio**. *Ciência & Educação* (Bauru), 13(1), 71–84, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-73132007000100005>

REIS, C. **Nasceu em Lisboa uma universidade popular e comunitária, dos bairros para os bairros**. *A Mensagem*, 2022. Disponível em: <https://amensagem.pt/2022/01/23/universidade-popular-e-comunitaria-bairros-lisboa/>

ROCHA, R. R. O., & ALVAREZ, V. M. P. Fiscalização Ambiental De Agrotóxicos No Brasil. **Ambiente & Sociedade**, 26, e02012, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-4422asoc20210201r2vu202311ao>

SANT'ANNA V., VOMMARO R.C., DE SOUZA W. *Caenorhabditis elegans* as a model for the screening of anthelmintic compounds: Ultrastructural study of the effects of albendazole. **Exp Parasitol**. 135:1–8, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.011>

SAÚDE, M. DA S.-S. DE A. À. **Guia alimentar para população brasileira**. Ministério da Saúde, Brasil, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf

SOUZA DE CASTRO, M. C. **ECOLOGIA COGNITIVA DA EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA: ENCONTRO, DIÁLOGO E COLABORAÇÃO**. Tese de Doutorado, Pós-Graduação Multi-Institucional em Difusão do Conhecimento, Universidade Federal da Bahia, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/36608>

SOUZA SANTOS, B. **A Universidade no sec. XXI: por uma universidade nova**, Editora Almedina Brasil, São Paulo, 2008.

SOUZA SANTOS, B. **O futuro começa agora**. Boitempo Editorial, São Paulo, 2023.

STIERNAGLE, T. **Maintenance of *C. elegans***. WormBook, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.101.1>

SULE, S. S., PETSUK, A. L., & PEARCE, J. M. **Open Source Completely 3-D Printable Centrifuge**. *Instruments*, 3(2), 30, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/instruments3020030>

WORMATLAS SITE. National Institutes of Health (NIH). Disponível em: <https://www.wormatlas.org/>

WORMBOOK SITE. National Institutes of Health (NIH), 2025. Disponível em: http://www.wormbook.org/chapters/www_nematodeshistory/nematodeshistory.html

8. CAPÍTULO 6 Atividade nematicida de fitoterápicos utilizando *Caenorhabditis elegans*: uma abordagem integrativa com metodologia ativa no ensino básico

8.1 Introdução ao artigo

Este estudo investigou a atividade nematicida aguda de fitoterápicos comerciais, utilizando *C. elegans* como organismo modelo para avaliação de toxicidade. A pesquisa demonstrou que o óleo essencial de *Citrus arantium* apresentou efeito significativo, com mortalidade estatisticamente relevante a partir de 0,6% de concentração, destacando seu potencial como agente biotecnológico.

Integrado ao conceito de Saúde-Única, o manuscrito explora o uso de fitoterápicos como alternativas sustentáveis para controle de nematoides, beneficiando a saúde humana, animal e ambiental. Além disso, a metodologia ativa adotada permitiu a participação de alunos do ensino médio em todas as etapas do experimento, promovendo a integração entre ensino, pesquisa e extensão.

**Atividade nematicida de fitoterápicos utilizando
Caenorhabditis elegans: uma abordagem integrativa com metodologia ativa no ensino
básico**

8.2 Resumo

A pesquisa de bioatividades com fitoterápicos é essencial para o desenvolvimento de soluções sustentáveis no controle de doenças em humanos, animais e na agricultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade nematicida aguda de fitoterápicos comerciais, por meio da aplicação de uma metodologia ativa de ensino onde os alunos da educação básica participaram horizontalmente das análises e elaboração do trabalho. Para isso, utilizamos o organismo modelo nematódeo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) que foram expostos a 5 óleos essenciais e 4 hidrolatos, em concentrações variadas (0,3 até x 50%). O óleo essencial de *Citrus arantium* foi o único composto que apresentou atividade nematicida, com CL₅₀ estimada em 2% nos nematoides expostos por 30 minutos, sendo que a menor dose que causou mortalidade dos nematoides (LOAEL) foi de 0.6%. Este trabalho evidencia pela primeira vez o óleo essencial de *C. arantium* como agente nematicida com potencial para o desenvolvimento de novas soluções no âmbito da Saúde-Única. O uso de *C. elegans* como ferramenta didática permitiu a aplicação de conceitos de biotecnologia e Saúde-Única de forma acessível, incentivando a participação ativa e horizontal dos estudantes na geração de conhecimento e no desenvolvimento do pensamento crítico na busca de soluções sustentáveis.

Palavras-chave: *Citrus arantium*; Hidrolatos; Óleos essências; Saúde-Única.

**Investigation of the nematicidal activity of phytotherapeutics using
Caenorhabditis elegans: an integrative approach with active methodology in basic
education**

Abstract

Bioactivity research with phytotherapeutics is essential for the development of sustainable solutions for disease control in humans, animals, and agriculture. The objective of this study was to evaluate the acute nematicidal activity of commercial phytotherapeutics through the application of an active teaching methodology in which elementary school students participated

horizontally in the analyses and preparation of the study. For this purpose, we used the nematode model organism *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), which was exposed to 5 essential oils and 4 hydrolates at varying concentrations (0.3 to 50%). *Citrus arantium* essential oil was the only compound that showed nematicidal activity, with an estimated LC_{50} of 2% in nematodes exposed for 30 minutes, and the lowest dose that caused nematode mortality (LOAEL) was 0.6%. This work demonstrates for the first time the potential of *C. arantium* as a nematicidal agent with potential for the development of new solutions in the context of one health. The use of *C. elegans* as a teaching tool allowed the application of biotechnology and one health concepts in an accessible way, encouraging the active and horizontal participation of students in the generation of knowledge and the development of critical thinking in the search for sustainable solutions.

Keywords: *Citrus arantium*; Essential oils; Hydrolates; One Health.

8.3 Introdução

A educação básica de biologia e ciências, especialmente sob a perspectiva da saúde, desempenha um papel essencial na formação de indivíduos capazes de compreender a interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental. O conceito de Saúde-Única facilita essa compreensão por trabalhar diretamente com essa abordagem.

O conceito de Pluriversidade está diretamente ligado ao ensino, ao se promover formas alternativas de circulação de conhecimentos científicos que possam agregar em uma comunidade. Assim, metodologias ativas de ensino, com a participação horizontal e direta dos estudantes em pesquisas científicas, tem potencial de estimular o pensamento crítico. Se projetadas para tal, essas pesquisas no ensino básico, podem prospectar soluções inovadoras e sustentáveis para desafios contemporâneos.

Dentre os inúmeros desafios atuais em Saúde-Única estão os relacionados a nematoides, como o controle de parasitas em humanos e animais e o uso excessivo de agrotóxicos para o controle de fitoparasitas. A integração entre ciência e sociedade, por meio da investigação e prospecção de agentes fitoterápicos e biopesticidas tem grande potencial. Fortalece assim, a construção de conhecimento científico e promove alternativas terapêuticas seguras e ecologicamente responsáveis.

Os fitoterápicos são produtos derivados de plantas medicinais utilizados para tratamentos de diversas condições de saúde. A partir da evolução histórica do uso de plantas

medicinais, a Organização Mundial de Saúde (OMS) passou a reconhecer a fitoterapia como uma terapia alternativa de enfermidades de eficácia comprovada em 1978 [1].

No Brasil, conforme estabelecido na Resolução RDC nº 26 de 2014 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), fitoterápicos são definidos como medicamentos obtidos utilizando exclusivamente de plantas medicinais, podendo incluir partes de plantas, extratos ou preparações que contenham substâncias ativas de origem vegetal [2]. O Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde apresentou plantas medicinais de alto impacto terapêutico para diversos tipos de agravos à saúde humana. Esses fitoterápicos utilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) são aprovados pela ANVISA a partir de conhecimentos tradicionais e consequente confirmação científica, assim, são considerados seguros e eficazes [3].

Helmintos são organismos vermiformes, geralmente parasitas, que incluem os nematoides (vermes cilíndricos) e platelmintos (vermes achatados), amplamente distribuídos no ambiente e capazes de infectar plantas, animais e humanos. Estima-se que existem cerca de 500 mil espécies de nematoides, destas cerca de 4.000 são fitoparasitas que geram perdas substanciais nas produções agrícolas [4]. Dentre os nematoides enteroparasitas de vertebrados, estima-se a existência de 80 mil espécies [5]. Para animais de produção, em 2023, estimou-se prejuízos de US\$ 14 bilhões causados por parasitas [6]. Estima-se que existam 3,5 bilhões de humanos infectados por parasitas no mundo, onde 125.000 mortes ocorrem por ano [7].

A pesquisa de novos agentes nematicidas é essencial não apenas para controlar a resistência dos nematoides aos tratamentos existentes, mas também para investigar alternativas terapêuticas para uso em humano/animal e na inovação no uso de biopesticidas. A possibilidade de pesquisa com nematoides alcançar diversas áreas de saúde e meio ambiente, coloca esses trabalhos dentro do conceito de Saúde-Única, perspectiva que considera e projeta soluções para saúde humana, animal e ambiental de forma integrada [10].

Entre os modelos nematoides utilizados atualmente, *C. elegans* tem tido destaque nas últimas décadas. Apesar de ser um animal de vida livre, suas semelhanças biológicas com outros nematoides parasitas e suas aplicações técnicas geram vantagens com o seu uso primário, como baixo custo e velocidade nos ensaios. *C. elegans* foi o primeiro organismo multicelular a ter seu genoma totalmente sequenciado, se tornando uma plataforma amplamente difundida na pesquisa. Com o advento de ferramentas biotecnológicas de edição genômica tornou possível o estudo de diferentes aspectos e desmembrar a patogenicidade de diferentes stress no animal utilizando cepas com *knockout* de genes que atuam na regulação homeostática e de resistência do animal [8,9].

Nesse trabalho, avaliamos o efeito nematicida em *C. elegans* de 5 óleos essenciais e 4 hidrolatos comerciais de plantas medicinais classificadas por possuírem alto impacto terapêutico cientificamente comprovado. Como aspecto crucial para o desenvolvimento do estudo, foi essencial que fosse conduzido como uma metodologia ativa de ensino, cuja implementação ocorreu por meio de atividades de extensão envolvendo a Universidade Federal de Viçosa e escolas de ensino básico no município de Viçosa-MG. Nesse modelo de pesquisa, os alunos do ensino básico participaram de forma horizontal no desenvolvimento do trabalho.

8.4 Materiais e Métodos

8.4.1 Seleção dos fitoterápicos e Local de Análise

Os óleos essenciais e hidrolatos foram doados pela empresa *Infinitum* Natureza. O cultivo e análises foram desenvolvidas nos laboratórios do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa e no laboratório de Ciências do colégio Ômega, ambos em Viçosa, Minas Gerais. Os extratos foram utilizados dentro do seu prazo de validade, onde foram mantidos em temperatura ambiente e protegido da luz até o momento da análise.

Foram utilizados os seguintes óleos essenciais: Laranja-azedada (*Citrus arantium*), Açafrão-da-terra (*Curcuma ionga*), Copaíba (*Copaifera reticulata*), Erva-baleeira (*Cordia verbenacea*), Alecrim (*Rosmarinus Officinalis*). E de hidrolados: Capim-Limão (*Cymbopogon citratus*), Goiaba (*Psidium guajava*), Açafrão-da-terra (*Curcuma ionga*), Alecrim-Pimenta (*Lippia sidoides*).

8.4.2 Cultivo dos nematóides

Foram utilizadas cepas de origem do *Caenorhabditis Genetics Center* (CGC). Utilizamos a cepa selvagem de *C. elegans* Bristol N2 e a cepa de bactéria *Escherichia Coli* OP50 como fonte de alimento para o nematoide.

Os vermes foram cultivados em incubadora *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D) a 20°C em placas contendo Meio-NGM (1,7% Bactoágar, 0,5% Bacto peptona, 50 mM NaCl, 25 mM KH₂PO₄ pH 6,0, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄ e 5 µg/mL de colesterol, H₂O a 1 litro) semeadas com 80 µL caldo Luria Broth, previamente incubado com a cepa *E. coli* OP50. O meio tampão M9 (3 g KH₂PO₄, 6 g Na₂HPO₄, 5 g NaCl, 1 ml 1 M MgSO₄, H₂O para 1 litro) foi utilizado para coleta e lavagem dos animais das placas. Para a exposição, utilizou-se do meio

S. Basal (5.85 g NaCl, 1 g K₂HPO₄, 6 g KH₂PO₄, 1 ml colesterol (5 mg/ml em etanol), H₂O para 1 litro)). Neste trabalho foram utilizadas técnicas estabelecidas de manipulação e exposição aos organismos [10,11].

8.4.3 Sincronização dos vermes

Para sincronizar *C. elegans* no mesmo estágio larval, vermes adultos grávidos foram tratados com água estéril contendo NaOH 0,5 M e solução de água sanitária a 4% (NaClO) preparada no momento do uso. Os ovos foram liberados e isolados por agitação manual por cerca de 5 minutos, em sequência foram centrifugados (1.300 x g por 1 min) e depois lavados 3 vezes em tampão M9. Na última lavagem os ovos foram suspensos em S Basal e deixados sob agitação suave a 20°C por 16 h para que os ovos eclodissem.

As larvas L1 foram transferidas para meio NGM com *E. coli* OP50 a 20°C por ~ 60 horas até atingirem o estágio L4. Após serem coletados e lavados 3 vezes em S. Basal, foram centrifugados a (1300×g por 2 min). O precipitado resultante foi resuspenso em S. Basal, e a densidade da suspensão foi ajustada por microscopia para garantir que cada alíquota de 50 µL contivesse, no mínimo, 30 nematoides no estágio L4. [10].

8.4.4 Experimento de exposição aguda

Todas as análises com os nematoides foram realizadas em triplicata. Foram pipetados 50 µL de S. basal contendo os vermes em L4 em poços de placas de 96 poços. Os hidrolatos foram diluídos em S. Basal e adicionados nos poços nas concentrações finais de 50%, 25,0%, 12,5%, 6,0% e 3,0%. Os óleos essenciais foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,2% em S. Basal nas concentrações finais de 5%, 2,5%, 1,2%, 0,6% e 0,3% [12].

Os grupos de animais foram expostos por 30 minutos, a temperatura ambiente (cerca de 22 °C), sem agitação. Ao término deste período, a sobrevivência dos vermes foi avaliada como parâmetro de toxicidade. Os vermes foram considerados mortos quando não responderam a estímulo mecânico. O número de vermes vivos foi registrado a cada leitura e a porcentagem de vermes sobreviventes foi calculada usando a seguinte fórmula: sobrevivência (%) = (vermes vivos/total de vermes utilizados) × 100. Para cada exposição, pelo 30 nematoides foram recuperados e analisados por microscopia direta. O controle negativo foi realizado também em triplicata onde os vermes foram expostos a S. Basal. Para o controle positivo, utilizou-se de NaClO a 10% em S. Basal^[16].

Todos os materiais utilizados durante as análises no laboratório do colégio retornaram aos laboratórios da Universidade para descarte de acordo com protocolos de descarte de resíduos em pesquisa da instituição.

8.4.5 Estatística

A análise de dados foi realizada utilizando o SPSS versão 22.0 (SPSS, Universidade de Stanford, EUA). As comparações entre os grupos foram conduzidas usando a análise de variância de uma via (ANOVA) com pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando o valor de $p < 0,05$. Os valores das mortalidades foram submetidos à análise estatística do tipo dose-resposta, empregando-se modelos logísticos do pacote DRC (*Analysis of Dose-Response Curves*), compilado pelo software R (2010) [13, 14, 15].

8.5 Resultados e Discussão

Os resultados das análises estão expressos na Tabela 1 e Tabela 2. Os testes realizados demonstraram que apenas o óleo essencial de *Citrus arantium* apresentou atividade nematocida significativa em *C. elegans*, com uma redução progressiva na taxa de sobrevivência dos nematoides à medida que a concentração do óleo aumentava. A mortalidade foi estatisticamente significativa a partir de concentrações de 0,6%, com taxas de sobrevivência variando de 72% (0,6%) a 9% (5%). Segundo a curva dose-resposta, a concentração letal que mata 50% dos organismos (CL_{50}) após 30 minutos de exposição do *C. elegans* ao óleo essencial de *Citrus aurantium* é de 2,0%.

Estudos anteriores têm demonstrado uma ampla versatilidade biológica, com flores, frutas, óleos essenciais e fitoconstituintes provenientes da *C. arantium*, os quais apresentam atividade antimicrobiana, antioxidante, citotóxica, ansiolítica, antidiabética, antiobesidade e anti-inflamatória [14, 15].

Tabela 1. Taxa de mortalidade de *Caenorhabditis elegans* expostos por 30 minutos a diferentes óleos essenciais de fitoterápicos.

Teste	Mortalidade (%)				
	Concentração				
	0,3%	0,6%	1,2%	2,5%	5%
Laranja-azedada (<i>Citrus arantium</i>)	9%*	28%**	44%**	74%**	91%**
Açafrão-da-terra (<i>Curcuma ionga</i>)	3,3%*	0%*	1,1%*	1,1%*	0%*
Copaíba (<i>Copaifera reticulata</i>)	0%*	2,2%*	1,1%*	1,1%*	3,3%*
Erva-baleeira (<i>Cordia verbenacea</i>)	4,4%	2,2%*	3,3%*	0%*	0%*
Alecrim (<i>Rosmarinus Officinalis</i>)	3,4%	0%*	1,1%*	0%*	0%*

Controle Negativo (S. Basal) apresentou média de mortalidade de 97,8%. Controle Positivo (NaClO) apresentou 100% de mortalidade. Valores com (*) não apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo. Valores com (**) apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo. Ambos valores com (***) indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).

O óleo essencial extraído das cascas de *C. aurantium* e seu principal componente, o limoneno, têm demonstrado ampla atividade biológica. Pertencente à família dos terpenos, de fórmula molecular $C_{10}H_{16}$, este componente do óleo foi utilizado contra a praga agrícola *Bemisia tabaci*, na qual concentrações de 2,5 a 20,0 $\mu\text{L/L}$ do composto causou taxas de mortalidade de 41,0 a 47,7% após 24 horas de aplicação. Estudos adicionais destacaram o potencial larvicida desse óleo contra mosquitos vetores, como *Anopheles labranchiae* e *Anopheles stephensi*. O limoneno, presente em altas concentrações no óleo da folha, reforça a eficácia larvicida aguda do óleo essencial de *C. arantium*, demonstrando seu potencial como alternativa biológica no controle de pragas agrícolas e vetores de doenças [15]. Não foram encontrados, trabalhos com potencial nematicida de *C. arantium* em testes *in vivo*. No entanto, são necessários estudos adicionais para avaliar os mecanismos de ação envolvidos na toxicidade do óleo essencial de *C. arantium*, incluindo a identificação das vias metabólicas ou celulares afetados nos nematoides e em outros organismos.

Os demais óleos essenciais e hidrolatos não apresentaram diferenças estatísticas em relação ao controle negativo, indicando ausência de toxicidade nas condições testadas.

Este estudo foi conduzido em escolas de ensino básico utilizando abordagens de ensino com metodologia ativa, em que alunos do ensino básico participaram do experimento, realizando junto ao pesquisador a manipulação do modelo nematoide *C. elegans* nos ensaios de exposição. Essas atividades proporcionaram aos estudantes um contato prático com técnicas de pipetagem, diluição seriada, uso de placas de Petri, manipulação de microscópicos e análise de dados científicos.

Tabela 2. Taxa de mortalidade de *Caenorhabditis elegans* expostos por 30 minutos a diferentes hidrolatos de plantas medicinais.

Teste	% Mortalidade				
	Concentração				
	50%	25,0%	12,5%	6,0%	3,0%
Capim-Limão (<i>Cymbopogon citratus</i>)	2%*	2%*	2%*	3%*	0%*
Goiaba (<i>Psidium guajava</i>)	1%*	2%*	3%*	7%*	6%*
Açafrão-da-terra (<i>Curcuma ionga</i>)	3%*	1%*	1%*	0%*	1%*
Alecrim-Pimenta (<i>Lippia sidoides</i>)	2%*	1%*	2%*	2%*	2%*

Controle Negativo (S. Basal) apresentou média de mortalidade de 2%. Controle Positivo (NaClO) apresentou 100% de mortalidade. Valores com (*) não apresentam diferença estatística em relação ao controle negativo ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).

A horizontalidade e o conceito de Pluriversidade no desenvolvimento do projeto fomentou a curiosidade científica dos alunos e os conectou à prática real de pesquisa. Esse processo gerou oportunidades didáticas nos estudantes de desempenharem um papel ativo na sociedade projetando a resolução de problemas locais e globais. A experiência proporcionou uma introdução concreta ao método científico, permitindo que os estudantes formulassem hipóteses, realizassem experimentos controlados e interpretassem resultados, habilidades essenciais para sua formação acadêmica e profissional.

A participação dos alunos representou um avanço significativo na integração entre ensino, pesquisa e extensão da Universidade com a comunidade em que está inserida. Essa abordagem também promoveu o desenvolvimento da curiosidade epistemológica direcionada à solução de problemas reais, incentivando os estudantes a aplicarem o conhecimento científico na melhoria da qualidade de vida local e global. Além disso, a experimentação direta com *C. elegans* proporcionou uma visão crítica sobre a aplicação de organismos modelos no desenvolvimento de novas tecnologias para a saúde humana, animal e ambiental, reforçando o potencial biotecnológico desses estudos.

Assim, a união entre pesquisa, ensino e extensão reforça a capacidade transformadora da ciência, ao preparar cidadãos críticos e proativos, capazes de enfrentar desafios complexos por meio de abordagens interdisciplinares. A introdução de *C. elegans* em sala de aula demonstrou ser uma ferramenta didática eficiente, despertando nos alunos o interesse pela investigação científica e estimulando o desenvolvimento de habilidades experimentais e

analíticas fundamentais para futuras carreiras científicas. Essa experiência evidenciou que a formação de indivíduos comprometidos com a ciência e a sociedade tem potencial de ser alcançada quando eles são inseridos horizontalmente no processo investigativo.

8.6 Considerações finais

O estudo evidenciou o potencial nematicida agudo do óleo essencial comercial de *Citrus aurantium*, com atividade significativa de mortalidade em *Caenorhabditis elegans* a partir de 0,6% após 30 minutos de exposição e CL₅₀ estimada em 2%, enquanto os demais fitoterápicos testados não apresentaram toxicidade.

A metodologia ativa desenvolvida foi focada na pesquisa e envolveu estudantes em práticas laboratoriais, promovendo aprendizado interdisciplinar e engajamento científico. A experiência de trabalhar com um modelo experimental reconhecido no meio acadêmico proporcionou aos alunos um entendimento prático do método científico e do papel da pesquisa no desenvolvimento de novas soluções biotecnológicas. Além disso, o contato com a experimentação científica contribuiu para a construção de um pensamento crítico e inovador, incentivando os estudantes a explorarem novas aplicações para os conhecimentos adquiridos.

A pesquisa destaca, portanto, o valor da educação integrada à extensão e da fitoterapia como ferramenta eficaz na saúde humana, animal e ambiental. O uso de *C. elegans* como recurso didático demonstrou-se uma estratégia inovadora para ensinar biotecnologia e o conceito de Saúde-Única de forma acessível e engajadora, preparando os alunos para desafios científicos futuros e incentivando a formação de novas gerações de pesquisadores.

8.7 Referências

1. Miranda KVL, Uhlmann LAC. Uso de fitoterápicos na atualidade: uma revisão de literatura. **Pubsaúde**. 2021;6:1–4. Disponível em: DOI: <https://dx.doi.org/10.31533/pubsaude6.a160>
2. ANVISA. Resolução-RDC No 48, de 16 de março de 2004. 2004.
3. Saúde M da. Catálogo da Exposição Comemorativa dos 15 anos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2023. 36 p.
4. Mesa-Valle CM, Garrido-Cardenas JA, Cebrian-Carmona J, Talavera M, Manzano-Agugliaro F. Global Research on Plant Nematodes. *Agronomy*. 6 de agosto de 2020;10(8):1148.

5. Gardner SL. Worms, Nematoda. Em: Encyclopedia of Biodiversity [Internet]. Elsevier; 2013 [citado 31 de janeiro de 2025]. p. 420–36. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123847195001696>
6. Rádio USP. Pecuária brasileira sofre prejuízos de cerca de US\$ 14 bilhões por conta de parasitas. 19 de setembro de 2023; Disponível em: <https://jornal.usp.br/radio-usp/pecuaria-brasileira-sofre-prejuizos-de-cerca-de-us14-bilhoes-por-conta-de-parasitas/>
7. Stepek G, Buttle DJ, Duce IR, Behnke JM. Human gastrointestinal nematode infections: are new control methods required? *Int J Experimental Path.* outubro de 2006;87(5):325–41.
8. Frézal L, Félix MA. *C. elegans* outside the Petri dish. *eLife*. 30 de março de 2015;4:e05849.
9. Nigon VM, Félix MA. History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. *WormBook*. 7 de setembro de 2017;1–84.
10. Gubert P. Guia para pesquisadores iniciantes em *Caenorhabditis elegans*. Publicar Editora; 2022.
11. Stiernagle T. Maintenance of *C. elegans*. *WormBook* [Internet]. 2006 [citado 14 de setembro de 2024]; Disponível em: http://www.wormbook.org/chapters/www_strainmaintain/strainmaintain.html
12. AIOkda A, Raamsdonk JMV. Effect of DMSO on lifespan and physiology in *C. elegans*: Implications for use of DMSO as a solvent for compound delivery. Open Access.
13. Fay DS. A biologist's guide to statistical thinking and analysis. *WormBook*. 9 de julho de 2013;1–54.
14. Sant'anna V, Vommaro RC, De Souza W. *Caenorhabditis elegans* as a model for the screening of anthelmintic compounds: Ultrastructural study of the effects of albendazole. *Experimental Parasitology*. setembro de 2013;135(1):1–8.
15. Suntar I, Khan H, Patel S, Celano R, Rastrelli L. An Overview on *Citrus aurantium* L.: Its Functions as Food Ingredient and Therapeutic Agent. Mosca L, organizador. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. janeiro de 2018;2018(1):7864269.
16. Shaham, S. Methods in cell biology. *WormBook*, 2006. DOI 10.1895/wormbook.1.49.1.

9. CAPÍTULO 7 *Caenorhabditis elegans* como animal experimental para pesquisa de tratamentos contra intoxicações por plantas tóxicas

9.1 Introdução ao artigo

As intoxicações por plantas tóxicas afetam a saúde humana e animal. Não existe terapêuticas e profilaxias para intoxicação por plantas. O nematoide *C. elegans* tem se destacado como um modelo experimental promissor para estudos toxicológicos e desenvolvimento de terapias alternativas (DEMANT; AULD; DEMANT, 2012; FRANKE; SCHOLL; AIGNER, 2019).

Neste estudo, investigamos a eficácia de fitoterápicos de uso humano na mitigação da toxicidade do extrato de *Ricinus communis*, planta rica em ricina, seu principal agente tóxico. Ao explorar o potencial do *C. elegans* como ferramenta biotecnológica, buscamos contribuir para o desenvolvimento de estratégias inovadoras que possam minimizar os impactos dessas intoxicações.

O manuscrito foi submetido a Revista Evidência: Biociências, Saúde e Inovação.

***Caenorhabditis elegans* como animal experimental para pesquisa de tratamentos contra intoxicações por plantas tóxicas**

9.2 Resumo

Intoxicações por plantas tóxicas (PT) geram inúmeros agravos a saúde incluindo óbitos, afetando humanos e animais. Não existe tratamento e conduta específica para mitigar essas intoxicações. Dessa forma, esse trabalho avaliou o organismo modelo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como animal experimental para pesquisa de tratamentos para intoxicações por PT. Utilizou-se o extrato de *Ricinus communis* (*R. communis*), rico em Ricina, principal agente tóxico da planta, em desafios aos organismos. Assim, 20 fitoterápicos de uso humano, sem toxicidade evidenciada em nematoides, foram utilizados como tratamentos pré-intoxicação. Após exposição por 18 horas, houve média de mortalidade de 98% nos grupos expostos ao extrato de *R. communis*, evidenciando a atividade tóxica do extrato. Não foi observada eficácia nos fitoterápicos empregados no tratamento contra o extrato nos grupos de animais testados. Devido a questões éticas e técnicas, *C. elegans* se mostrou uma ferramenta biotecnológica promissora para desenvolvimento e pesquisas de tratamentos contra PT que causam agravos em humanos e animais.

Palavras-chave: Fitoterápicos; Métodos alternativos; Modelos invertebrados; Nematóides; *Ricinus communis*.

***Caenorhabditis elegans* as an animal in the investigation of treatments for poisoning by toxic plants**

Abstract

Poisoning by toxic plants (PT) causes numerous health problems, including deaths, affecting humans and animals. There is no specific treatment or conduct to mitigate these poisonings. Thus, this study aimed to evaluate the model organism *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) as an experimental animal for research into treatments for PT poisoning. The extract of *Ricinus communis* (*R. communis*), rich in ricin, the main toxic agent of the plant, was used in challenges to the organisms. Thus, 20 herbal medicines for human use, with no evidence of toxicity in nematodes, were used as pre-poisoning treatments. After exposure for 18 hours, there was an

average mortality rate of 98%, evidencing the toxic activity of the extract. No efficacy was observed in the herbal medicines used in the treatment against the extract of *R. communis* in the groups of animals tested. Due to ethical and technical issues, *C. elegans* has proven to be a promising biotechnological tool for the development and research of treatments against PTs that cause harm in humans and animals.

Keywords: Alternative methods; Invertebrate models; Nematodes; Phytotherapeutics; *Ricinus communis*.

9.3 Introdução

Plantas tóxicas (PT) produzem compostos bioativos capazes de causar disfunções metabólicas, enzimáticas e/ou lesões teciduais. Entre os agentes tóxicos mais comuns estão alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, cianogênicos, taninos, saponinas, oxalato de cálcio e toxialbuminas. A toxicidade dessas plantas varia de acordo com a concentração do princípio ativo, a via de exposição e o tempo de contato (Melo et al., 2021).

No Brasil, as intoxicações por PT representam um grave problema de saúde pública e prejuízos na produção animal. Em humanos, crianças menores de 9 anos correspondem a 60% dos casos registrados (Costa et al., 2022). Em animais, 5% dos bovinos e 7,2% dos ovinos sofrem fatalidades causadas por PT, enquanto animais de companhia são frequentemente afetados por plantas ornamentais (Riet-Correa & Medeiros, 2001; Górnaiak, 2008)

Dentre as PT de maior relevância, destaca-se a popularmente chamada de mamona, *Ricinus communis*, uma planta da família *Euphorbiaceae* amplamente distribuída em zonas tropicais e subtropicais. Embora suas propriedades terapêuticas, como ação laxante, anti-infecciosa e antitumoral, sejam conhecidas, sua toxicidade é severa (Franke et al., 2019). Os principais agentes tóxicos são a ricina e a ricinina. A ricina é uma proteína inativadora de ribossomos, capaz de interromper a síntese proteica e levar à morte celular. Em casos de intoxicação por *R. communis*, os sintomas variam conforme a espécie afetada e as condições de exposição. Apesar disso, ainda não existem tratamentos eficazes e padronizados para intoxicações causadas por essa planta, o que destaca a necessidade de estudos voltados ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas (Demant et al., 2012, Albuquerque et al., 2014).

O nematoide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) é amplamente utilizado como modelo eucarioto experimental em estudos biológicos e toxicológicos. Este organismo apresenta cerca de 80% de similaridade genética com humanos, incluindo vias metabólicas relacionadas ao processamento de proteínas e mecanismos de defesa celular (Meneely et al., 2019). Além disso,

é um modelo econômico devido à facilidade de cultivo e sua natureza não patogênica. Estudos prévios têm demonstrado sua aplicabilidade na pesquisa de métodos terapêuticos, incluindo o uso de extratos vegetais com potencial farmacológico. Por ser um modelo confiável para triagem inicial, *C. elegans* oferece *insights* relevantes para projetar estratégias terapêuticas para mamíferos (Lal et al., 2024; Lescouzères and Patten, 2024).

Dessa forma, o presente estudo busca avaliar o potencial do nematoide *C. elegans* como modelo experimental para testar a eficácia de terapias baseadas em plantas medicinais contra a toxicidade de *R. communis*. A metodologia inclui a exposição de grupos de nematoides a extratos ricos em ricina e tratamentos com plantas medicinais de uso terapêutico em humanos. Os resultados esperados poderão contribuir para o desenvolvimento de metodologias para tratamentos inovadores contra intoxicações em humanos e animais, reforçando a importância do modelo experimental no avanço da pesquisa biotecnológica.

9.4 Materiais e Métodos

9.4.1 Local do estudo e Considerações éticas

Todas as análises foram desenvolvidas nos laboratórios do Departamento Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizados na cidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

O estudo foi certificado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV), conforme Processo nº 14/2022. O organismo *C. elegans* é um invertebrado e o trabalho não envolveu humanos e animais vertebrados, dessa forma o trabalho segue os critérios obrigatórios da Lei Arouca (Lei 11.794/2008) para aprovação ética.

9.4.2 Seleção de plantas e extração do extrato aquoso

A identificação da planta *Ricinus communis* foi realizada com base em suas características morfológicas, incluindo folhas palmadas, frutos espinhosos e sementes elípticas, garantindo a correta classificação da espécie. A coleta foi conduzida nas dependências da universidade, onde a planta ocorre como espécie invasora em diversas áreas do campus. Durante a coleta, foram selecionadas apenas sementes maduras, identificadas por sua coloração característica e consistência rígida. As sementes maduras foram cuidadosamente separadas, armazenadas em temperatura ambiente e utilizadas na primeira hora após colheita, para evitar qualquer deterioração do material antes da extração. Foi utilizada uma faca cirúrgica para abrir

e cortar o fundo da semente de mamona, esta que é a parcela da planta de contem maior concentração de ricina. Esta parcela da semente foi reservada (Pinkerton et al., 1999).

9.4.3 Extração aquosa do *Ricinus Communis*

Para realizar a extração da ricina, utilizamos o método de extração aquosa com calor com algumas adaptações. Esta técnica de extração é eficiente devido as características hidrossolúveis da ricina (Demant et al., 2012). A porção das sementes selecionadas foram maceradas utilizando um almofariz, alocadas em tubo falcon de 15 ml e homogeneizadas por vórtex com água destilada na proporção 1:1. Em sequência o tubo ficou por 3 horas em banho-maria a 45°C, sendo homogeneizados por vórtex a cada 10 min.

Após as 3 horas de extração o tubo foi centrifugado a 4.000 rpm onde soluto aquoso foi removido com uma seringa e alocado em eppendorfs de 2 ml. O extrato de ricina foi protegido da luz utilizando papel alumínio e após atingir temperatura ambiente foi utilizado para garantir sua integridade e eficácia no experimento.

9.4.4 Cultivo de *Caenorhabditis elegans*

Foram utilizadas a cepa de *C. elegans* Bristol N2 e a cepa da bactéria *Escherichia Coli* OP50, ambos com origem do *Caenorhabditis Genetics Center* (CGC). Os vermes foram cultivados em incubadora *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D) a 20°C em placas contendo *Nematode Growth Medium (Meio-NGM)* (1,7% Bactoágar, 0,5% Bactopeptona, 50 mM NaCl, 25 mM tampão fosfato de potássio pH 6,0, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄ e 5 µg/mL de colesterol, H₂O a 1 litro) semeadas com caldo Luria Broth incubado com a cepa *E. coli* OP50, como fonte de alimento. Foi preparado meio tampão M9 (3 g KH₂PO₄, 6 g Na₂HPO₄, 5 g NaCl, 1 ml 1 M MgSO₄, H₂O para 1 litro) para coleta e lavagem dos animais das placas. Para o meio de exposição e diluições das amostras foi utilizado S. Basal (5.85 g NaCl, 1 g K₂HPO₄, 6 g KH₂PO₄, 1 ml colesterol (5 mg/ml em etanol), H₂O para 1 litro) (Gubert, 2022).

9.4.5 Sincronização dos vermes

Para se cultivar *C. elegans* com a mesma idade e estagio larval, foi utilizada a técnica de sincronização por lise alcalina. Vermes grávidos foram expostos a Solução de Lise (Água destilada (H₂O), Hidróxido de Sódio (NaOH) a 0,5 M e Hipoclorito de Sódio (NaClO) a 4% em tubos falcon e agitados manualmente por cerca de 5 minutos. Após a agitação, as amostras foram lavadas e centrifugadas 3 vezes com meio M9. Os ovos foram resuspendidos em meio S.

Basal e mantidos a 20°C por 16 horas. Durante esse período os ovos eclodem, liberando larvas L1 que por falta de comida entram em inanição. Assim, em sequência, quando alocadas em placas NGM contendo *E. coli*, todos os animais se alimentam e se desenvolvem juntos até o estágio L4 em cerca de 60 horas. Os vermes em L4 foram lavados e alocados em meio S. Basal ajustado para conter mais de 30 vermes por 50ul.

9.4.6 Teste de sobrevivência

A porcentagem de sobrevivência foi calculada utilizando a seguinte fórmula: sobrevivência (%) = (vermes vivos/total de vermes utilizados) × 100. Os vermes foram considerados vivos ao apresentarem movimento e mortos quando não responderam a estímulo mecânico. Para cada teste, 30 indivíduos foram avaliados (Gubert, 2022).

9.4.7 Seleção dos tratamentos pré-exposição

Todos os extratos alcoólicos utilizados fazem parte do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde do Brasil e foram adquiridos em farmácias locais. Foram utilizados os seguintes extratos como tratamento pré-exposição: *Arnica montana*; *Baccharis trimera*; *Calendula officinalis*; *Casearia sylvestris*; *Cynara scolymus*; *Equisetum arvense*; *Erythrina verna*; *Eucalyptus globulus*; *Glycyrrhiza glabra*; *Harpagophytum procumbens*; *Matricaria recutita*; *Maytenus ilicifolia*; *Melissa officinalis*; *Mentha piperita*; *Mikania glomerata*; *Plectranthus barbatus*; *Rhamnus purshiana*; *Rosmarinus officinalis*; *Uncaria tomentosa* e *Zingiber officinale*.

Os 20 extratos selecionados foram avaliados quanto ao seu potencial efeito tóxico por meio de testes de sobrevivência. Para isso, os animais foram expostos a concentrações finais de 1%, 2,5% e 5% dos extratos, diluídos em S. Basal. Após 24 horas de exposição, foram realizados os testes de sobrevivência para determinar a presença de qualquer efeito tóxico significativo que pudesse gerar mortalidade nos animais. Os resultados não indicaram mortalidade nos grupos de nematoides analisados, evidenciando que os fitoterápicos não apresentaram toxicidade nas condições avaliadas.

9.4.8 Experimento de exposição aos organismos

Todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Cada repetição experimental foi conduzida em dias distintos, utilizando extratos de *R. communis* recém-preparados.

Os vermes em estágio L4 foram lavados das placas NGM e ajustados para cada 50 ul de S. Basal conter grupos com cerca de 50 animais, em sequência alocados nas placas de 96 poços. Cada grupo foi tratado por 30 minutos com 50 ul (S. Basal com concentração final de 2.5%) de extrato alcoólico dos 20 fitoterápicos selecionados

Após os 30 minutos de exposição ao tratamento, 100 ul do extrato de *R. communis* foi adicionado e as placas foram mantidas na B.O.D. por 18 horas (tempo ideal de exposição ao extrato). S. Basal foi utilizada como controle negativo no lugar do tratamento e do extrato de *R. communis*. Para o controle positivo, da eficácia do extrato, S. Basal substituiu os 50ul do tratamento. Após as 18 horas de exposição a sobrevivência dos animais foi avaliada (Demant et al., 2012).

9.4.9 Estatística

O software Microsoft Excel foi utilizado para realizar as análises estatísticas. As comparações entre o controle negativo, controle positivo (de eficácia do extrato) e os grupos expostos aos 20 fitoterápicos foram conduzidas usando a análise de variância de uma via (ANOVA). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ utilizando pós-teste de Tukey (Fay, 2013; Sant'anna et al., 2013).

9.5 Resultados e Discussão

Após as 18 horas de exposição, não foi encontrada nenhuma diferença estatística entre as medias de sobrevivência dos animais tratados com os fitoterápicos e do controle nos animais expostos ao extrato de *R. communis* (Tabela-1). Dessa forma, os grupos experimentais, incluindo o controle negativo (nematoides tratados com S. Basal antes da exposição), apresentaram taxas de mortalidade superiores a 90%. Isso indica que não houve efeito na resistência dos animais e/ou na neutralização do agente tóxico capaz de reduzir a mortalidade nos animais testados. Houve diferença estatística entre a média de sobrevivência dos tratamentos e controle do Extrato de *R. communis* ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).

Testes utilizando o modelo e o extrato de *R. communis* evidenciaram a correlação entre 0.78 e 0.87 da mortalidade do verme e o conteúdo da ricina na metodologia aplicada. Assim, as altas taxas de mortalidade em todos os testes realizados com *C. elegans* validaram a extração da proteína tóxica e sua atividade (Demant et al., 2012). A falta de mortalidade no controle

negativo (S. basal), evidencia que não havia agentes tóxicos capazes de gerar mortalidade nos meios cultivados e utilizados na exposição.

Tabela 1. Resultados das medias de mortalidade de *Caenorhabditis elegans* tratados com fitoterápicos antes da exposição ao extrato de *Ricinus communis*. A alta mortalidade dos testes e do controle extrato de *R. communis* indica altas taxas de ricina no material.

Tratamentos	% de Mortalidade após 18 horas de exposição					
	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão
<i>Arnica montana</i>	97	97	100	98*	192%	1,1
<i>Baccharis trimera</i>	100	97	93	97*	333%	1,9
<i>Calendula officinalis</i>	100	100	100	100*	0%	0,0
<i>Casearia sylvestris</i>	93	93	100	96*	385%	2,2
<i>Cynara scolymus</i>	100	97	90	96*	509%	2,9
<i>Equisetum arvense</i>	97	100	100	99*	192%	1,1
<i>Erythrina verna</i>	93	93	100	96*	385%	2,2
<i>Eucalyptus globulus</i>	100	100	97	99*	192%	1,1
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	97	100	100	99*	192%	1,1
<i>Harpagophytum procumbens</i>	100	97	97	98*	192%	1,1
<i>Matricaria recutita</i>	100	100	100	100*	0%	0,0
<i>Maytenus ilicifolia</i>	100	100	100	100*	0%	0,0
<i>Melissa officinalis</i>	100	93	100	98*	385%	2,2
<i>Mentha piperita</i>	97	100	97	98*	192%	1,1
<i>Mikania glomerata</i>	100	100	100	100*	0%	0,0
<i>Plectranthus barbatus</i>	100	90	97	96*	509%	2,9
<i>Rhamnus purshiana</i>	93	100	100	98*	385%	2,2
<i>Rosmarinus officinalis</i>	100	90	100	97*	577%	3,3
<i>Uncaria tomentosa</i>	97	97	90	94*	385%	2,2
<i>Zingiber officinale</i>	100	100	100	100*	0%	0,0
Controle Negativo (S. Basal)	0	0	0	0	0%	0,0
Controle Extrato de <i>R. communis</i>	97	100	90	96	509%	2,9

Valores com (*) não apresentam diferença estatística em relação ao controle do Extrato de *R. communis* ($p < 0,05$; One-way ANOVA, Tukey pós-teste). **Fonte:** Autores (2024).

Nesse trabalho foram utilizados fitoterápicos terapêuticos de uso em humanos e que não apresentaram toxicidade aos organismos. Não foram encontrados agentes para tratamentos contra *R. communis* dentre os fitoterápicos testados. Embora os fitoterápicos testados não tenham apresentado toxicidade aos organismos, é importante discutir como o extrato pode ter interagido com *C. elegans*. A absorção dos princípios ativos pode ocorrer através da cutícula do nematoide ou por ingestão direta, dependendo das características da solução. É importante investigar como o extrato interage com o organismo, já que as vias de exposição podem influenciar a eficácia do tratamento. Como foi utilizado apenas um lote de cada fitoterápicos, testes com novas amostras também são necessários.

A utilização de *C. elegans* independe da aprovação de conselhos de ética em uso de animais, desde que não envolva humanos e animais vertebrados. Essas vantagens técnicas também potencializam o uso do modelo na pesquisa, já que o mesmo pode ser utilizado em pesquisas pré-clínicas e no ensino. Seu cultivo é barato e relativamente fácil de ser implementado em laboratórios. Diversas outras técnicas utilizando o animal podem ser utilizadas junto com as PT para diversos trabalhos. Desde evidenciar a patogenicidade desses compostos, avaliar estresse oxidativo, realizar testes histopatológicos, pesquisar agentes neuroprotetoras e antitumorais podem ser realizados com diferentes cepas e técnicas em *C. elegans* (Balla & Troemel, 2013; Kobet et al., 2014; Meneely et al., 2019). Dessa forma, pode-se prospectar bioatividades úteis para humanos, animais e para o ambiente. O próprio *R. communis* é uma PT também utilizada como defensivo agrícola agroecológico (Gusmão & Carreira, 2023). Assim, inúmeros testes podem ser realizados na busca desses tratamentos para intoxicações. A partir desses achados, é possível desenvolver estratégias para mitigar danos à saúde de humanos e animais causados por intoxicações (Swinney, 2013).

C. elegans foi utilizado como plataforma para pesquisa de tratamentos de intoxicações causadas por Paraquat, agrotóxico bastante utilizado no mundo. Foi evidenciado em testes com o modelo, que a Coenzima Q10, cofator lipossolúvel responsável pelo transporte de elétrons, aumenta as chances de *C. elegans* sobreviver a intoxicação pelo Paraquat. Essa coenzima é naturalmente sintetizada por células mamíferos e plantas. Desempenha assim, papel essencial na integração dos processos de metabolismo energético e na proteção antioxidante. Em sequência, foi utilizado ratos para se confirmar o efeito protetivo (Ji et al., 2022).

Dessa forma, considerando as diferenças fisiológicas entre *C. elegans* e vertebrados como humanos, cães e animais de produção, modelos mamíferos para pesquisa de tratamentos para

intoxicações são sempre necessários para confirmar o potencial antídoto evidenciado através do modelo nematódeo (Ji et al., 2022).

C. elegans se mostrou uma eficiente biotecnologia para a pesquisa desses tratamentos por PT e outros agentes tóxicos. O organismo foi selecionado pelas suas vantagens técnicas e éticas e ser sensível a intoxicação por diversas PT, incluindo *R. communis*. Para tal, deve se averiguar a compatibilidade do organismo com o agente tóxico, o tempo e vias de exposição adequadas. Assim, como agentes terapêuticos que demonstrem potencial bioativo compatível.

9.6 Conclusões

Esse estudo apresentou *C. elegans* como uma metodologia alternativa para pesquisa de tratamentos contra intoxicações causadas por plantas tóxicas em humanos e animais. Nesse trabalho, utilizamos o extrato de *R. communis*, rico em ricina como fonte de intoxicação e 20 fitoterápicos como potencial tratamento. Não foram encontrados dentre os fitoterápicos testados, nas condições empregadas, agentes que neutralizassem e/ou aumentassem a resistência dos animais a intoxicação. *C. elegans* se mostrou competente para tais pesquisas, por ser um animal invertebrado de fácil cultivo e suas similaridades com mamíferos como modelo eucarioto. Outras plantas tóxicas e agentes tóxicos de interesse podem ser utilizadas em associação com o modelo para pesquisa de tratamentos e prospecção de bioatividades de interesse humano e veterinário.

9.7 Referências

ALBRETSEN J., GWALTNEY-BRANT S, KHAN S. Evaluation of castor bean toxicosis in dogs: 98 cases. **J Am Anim Hosp Assoc.** 36:229–33, 2000.

<https://doi.org/10.5326/15473317-36-3-229>

ALBUQUERQUE S.S.C., ROCHA B.P., ALBUQUERQUE R.F., OLIVEIRA J.S., MEDEIROS R.M.T., RIET-CORREA F., et al. Spontaneous poisoning by *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) in cattle. **Pesqui Veterinária Bras.** 34:827–31, 2014.

<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000900004>

BALDONI A.B., CARVALHO M.H.D., SOUSA N.L., NÓBREGA M.B.D.M., MILANI M., ARAGÃO F.J.L. Variability of ricin content in mature seeds of castor bean. **Pesqui Agropecuária Bras.** 46:776–9, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000700015>

BALINT G.A. Ricin: The toxic protein of castor oil seeds. **Toxicology.** 2:77–102, 1974.

[https://doi.org/10.1016/0300-483X\(74\)90044-4](https://doi.org/10.1016/0300-483X(74)90044-4)

BALLA K.M., TROEMEL E.R. *Caenorhabditis elegans* as a model for intracellular pathogen infection: Intracellular pathogen infection in *C. elegans*. **Cell Microbiol.** 15:1313–22, 2013. <https://doi.org/10.1111/cmi.12152>

BRASIL. **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008.** Regulamenta o inciso VII do parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União [Internet]. Brasília, 9 out 2008 Seção 1. Disponível: <http://bit.ly/2Ghb5ZU>

COSTA A.B.O., ROCHA D.D.C., SOUSA J.S.P.D., LUNA L.A.S.D., SOUZA S.F.D., MACIEL J.D.C. Principais causas de intoxicação em crianças: uma revisão integrativa. **E-Acadêmica.** 3:e1631109, 2022. <https://doi.org/10.52076/eacad-v3i1.109>

DEMANT C.A.R, AULD D., DEMANT A.R.D.M. Development of a bioassay to quantify the ricin toxin content of castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds. **Acta Sci Agron.** 34:397–402, 2012. <https://doi.org/10.4025/actasciagronomy.v34i4.11284>

FAY D.S. A biologist’s guide to statistical thinking and analysis. **WormBook.** 1–54, 2013.

FRANKE H., SCHOLL R., AIGNER A. Ricin and *Ricinus communis* in pharmacology and toxicology—from ancient use and “Papyrus Ebers” to modern perspectives and “poisonous plant of the year 2018.” **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.** 392:1181–208, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00210-019-01691-6>

GÓRNIAK S. Plantas tóxicas ornamentais. In: **Toxicologia aplicada à medicina veterinária.** Barueri: Manole; 2008.

GUBERT P. **Guia para pesquisadores iniciantes em *Caenorhabditis elegans*.** Publicar Editora; 2022.

GUSMÃO V.M.D., CARREIRA R.C. *Ricinus communis* L. (MAMONA): Sementes Tóxicas Com Potencial Alelopático. **Sci Gen.** 4:1–22, 2023. <https://doi.org/10.22289/sg.V4N2A1>

JI P., LI H., JIN Y., PENG Y., ZHAO L., WANG X. *C. elegans* as an *in vivo* model system for the phenotypic drug discovery for treating paraquat poisoning. **PeerJ.** 10:e12866, 2022. <https://doi.org/10.7717/peerj.12866>.

KEBEDE B., SHIBESHI W. In vitro antibacterial and antifungal activities of extracts and fractions of leaves of *Ricinus communis* Linn against selected pathogens. **Vet Med Sci.** 8:1802–15, 2022. <https://doi.org/10.1002/vms3.772>

KOBET R.A, PAN X., ZHANG B., PAK S.C., ASCH A.S., LEE M-H. *Caenorhabditis elegans*: A Model System for Anti-Cancer Drug Discovery and Therapeutic Target Identification. **Biomol Ther** 22:371–83, 2014. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.084>

LAL R., SINGH A., WATTS S., CHOPRA K. Experimental models of Parkinson’s disease: Challenges and Opportunities. **Eur J Pharmacol** 980:17681, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176819>

LESCOUZÈRES L., PATTEN S.A. Promising animal models for amyotrophic lateral sclerosis drug discovery: a comprehensive update. **Expert Opin Drug Discov.** 1–21, 2024. <https://doi.org/10.1080/17460441.2024.2387791>

MAJUMDER M., DEBNATH S., GAJBHIYE R.L., SAIKIA R., GOGOI B., SAMANTA S.K., et al. Ricinus communis L. fruit extract inhibits migration/invasion, induces apoptosis in breast cancer cells and arrests tumor progression in vivo. **Sci Rep.** 9:14493, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50769-x>

MELO D.B.D., MACEDO L.M.D., ALMEIDA I.O.D., PEREIRA T.D.R.S., SILVA T.M.D., LEAL M.M.T., et al. Intoxicação por plantas no Brasil: uma abordagem cienciométrica / Plant intoxication cases in Brazil: a scientometric approach. **Braz J Dev.** 7:40919–37, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n4-517>

MENEELY P.M., DAHLBERG C.L., ROSE J.K. Working with Worms: *Caenorhabditis elegans* as a Model Organism. **Curr Protoc Essent Lab Tech.** 19:e35, 2019. <https://doi.org/10.1002/cpet.35>

MUTLU H., MEIER M.A.R. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. **Eur J Lipid Sci Technol.** 112:10–30, 2010. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900138>

PARKOUDA C., NIELSEN D.S., AZOKPOTA P., IVETTE IRÈNE OUOBA L., AMOA-AWUA W.K., THORSEN L., et al. The microbiology of alkaline-fermentation of indigenous seeds used as food condiments in Africa and Asia. **Crit Rev Microbiol.** 35:139–56, 2009. <https://doi.org/10.1080/10408410902793056>

PINKERTON S.D., ROLFE R., AULD D.L., GHETIE V., LAUTERBACH B.F. Selection of Castor for Divergent Concentrations of Ricin and *Ricinus communis* Agglutinin. **Crop Sci.** 39:353–7, 1999.

RIET-CORREA F., MEDEIROS R.M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesqui Veterinária Bras.** 21:38–42, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2001000100008>

SANT'ANNA V., VOMMARO R.C., DE SOUZA W. *Caenorhabditis elegans* as a model for the screening of anthelmintic compounds: Ultrastructural study of the effects of albendazole. **Exp Parasitol.** 135:1–8, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.011>

SWINNEY D.C. Phenotypic vs. Target-Based Drug Discovery for First-in-Class Medicines. **Clin Pharmacol Ther.** 93:299–301, 2013. <https://doi.org/10.1038/clpt.2012.236>

WORBS S., KÖHLER K., PAULY D., AVONDET M.-A., SCHAER M., DORNER M.B., et al. Ricinus communis Intoxications in Human and Veterinary Medicine—A Summary of Real Cases. **Toxins.** 3:1332–72, 2011. <https://doi.org/10.3390/toxins3101332>

YEBOAH A., YING S., LU J., XIE Y., AMOANIMAA-DEDE H., BOATENG K.G.A., et al. Castor oil (*Ricinus communis*): a review on the chemical composition and physicochemical properties. **Food Sci Technol.** 41:399–413, 2021. <https://doi.org/10.1590/fst.19620>

- 260 BRASIL. **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**. Regulamenta o inciso VII do
261 parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso
262 científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.
263 Diário Oficial da União [Internet]. Brasília, 9 out 2008 Seção 1. Disponível:
264 <http://bit.ly/2Ghb5ZU>
- 265 COSTA A.B.O., ROCHA D.D.C., SOUSA J.S.P.D., LUNA L.A.S.D., SOUZA S.F.D.,
266 MACIEL J.D.C. Principais causas de intoxicação em crianças: uma revisão integrativa. **E-**
267 **Acadêmica**. 3:e1631109, 2022. <https://doi.org/10.52076/eacad-v3i1.109>
- 268 DEMANT C.A.R., AULD D., DEMANT A.R.D.M. Development of a bioassay to quantify
269 the ricin toxin content of castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds. **Acta Sci Agron**. 34:397–
270 402, 2012. <https://doi.org/10.4025/actasciagronomy.v34i4.11284>
- 271 FAY D.S. A biologist’s guide to statistical thinking and analysis. **WormBook**. 1–54, 2013.
- 272 FRANKE H., SCHOLL R., AIGNER A. Ricin and *Ricinus communis* in pharmacology and
273 toxicology—from ancient use and “Papyrus Ebers” to modern perspectives and “poisonous
274 plant of the year 2018.” **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**. 392:1181–208, 2019.
275 <https://doi.org/10.1007/s00210-019-01691-6>
- 276 GÓRNIAK S. Plantas tóxicas ornamentais. In: **Toxicologia aplicada à medicina**
277 **veterinária**. Barueri: Manole; 2008.
- 278 GUBERT P. **Guia para pesquisadores iniciantes em *Caenorhabditis elegans***. Publicar
279 Editora; 2022.
- 280 GUSMÃO V.M.D., CARREIRA R.C. *Ricinus communis* L. (MAMONA): Sementes Tóxicas
281 Com Potencial Alelopático. **Sci Gen**. 4:1–22, 2023. <https://doi.org/10.22289/sg.V4N2A1>
- 282 JI P., LI H., JIN Y., PENG Y., ZHAO L., WANG X. *C. elegans* as an *in vivo* model system
283 for the phenotypic drug discovery for treating paraquat poisoning. **PeerJ**. 10:e12866, 2022.
284 <https://doi.org/10.7717/peerj.12866>.
- 285 KEBEDE B., SHIBESHI W. In vitro antibacterial and antifungal activities of extracts and
286 fractions of leaves of *Ricinus communis* Linn against selected pathogens. **Vet Med Sci**.
287 8:1802–15, 2022. <https://doi.org/10.1002/vms3.772>
- 288 KOBET R.A., PAN X., ZHANG B., PAK S.C., ASCH A.S., LEE M-H. *Caenorhabditis*
289 *elegans*: A Model System for Anti-Cancer Drug Discovery and Therapeutic Target
290 Identification. **Biomol Ther** 22:371–83, 2014. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.084>
- 291 LAL R., SINGH A., WATTS S., CHOPRA K. Experimental models of Parkinson’s disease:
292 Challenges and Opportunities. **Eur J Pharmacol** 980:17681, 2024.
293 <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176819>
- 294 LESCOUZÈRES L., PATTEN S.A. Promising animal models for amyotrophic lateral
295 sclerosis drug discovery: a comprehensive update. **Expert Opin Drug Discov**. 1–21, 2024.
296 <https://doi.org/10.1080/17460441.2024.2387791>

- 297 MAJUMDER M., DEBNATH S., GAJBHIYE R.L., SAIKIA R., GOGOI B., SAMANTA
 298 S.K., et al. Ricinus communis L. fruit extract inhibits migration/invasion, induces apoptosis in
 299 breast cancer cells and arrests tumor progression in vivo. **Sci Rep.** 9:14493, 2019.
 300 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50769-x>
- 301 MELO D.B.D., MACEDO L.M.D., ALMEIDA I.O.D., PEREIRA T.D.R.S., SILVA T.M.D.,
 302 LEAL M.M.T., et al. Intoxicação por plantas no Brasil: uma abordagem cienciométrica / Plant
 303 intoxication cases in Brazil: a scientometric approach. **Braz J Dev.** 7:40919–37, 2021.
 304 <https://doi.org/10.34117/bjdv7n4-517>
- 305 MENEELY P.M., DAHLBERG C.L., ROSE J.K. Working with Worms: *Caenorhabditis*
 306 *elegans* as a Model Organism. **Curr Protoc Essent Lab Tech.** 19:e35, 2019.
 307 <https://doi.org/10.1002/cpet.35>
- 308 MUTLU H., MEIER M.A.R. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry.
 309 **Eur J Lipid Sci Technol.** 112:10–30, 2010. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900138>
- 310 PARKOUDA C., NIELSEN D.S., AZOKPOTA P., IVETTE IRÈNE OUOBA L., AMOA-
 311 AWUA W.K., THORSEN L., et al. The microbiology of alkaline-fermentation of indigenous
 312 seeds used as food condiments in Africa and Asia. **Crit Rev Microbiol.** 35:139–56, 2009.
 313 <https://doi.org/10.1080/10408410902793056>
- 314 PINKERTON S.D., ROLFE R., AULD D.L., GHETIE V., LAUTERBACH B.F. Selection of
 315 Castor for Divergent Concentrations of Ricin and *Ricinus communis* Agglutinin. **Crop Sci.**
 316 39:353–7, 1999.
- 317 RIET-CORREA F., MEDEIROS R.M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e
 318 no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesqui**
 319 **Veterinária Bras.** 21:38–42, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2001000100008>
- 320 SANT'ANNA V., VOMMARO R.C., DE SOUZA W. *Caenorhabditis elegans* as a model for
 321 the screening of anthelmintic compounds: Ultrastructural study of the effects of albendazole.
 322 **Exp Parasitol.** 135:1–8, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.011>
- 323 SWINNEY D.C. Phenotypic vs. Target-Based Drug Discovery for First-in-Class Medicines.
 324 **Clin Pharmacol Ther.** 93:299–301, 2013. <https://doi.org/10.1038/clpt.2012.236>
- 325 WORBS S., KÖHLER K., PAULY D., AVONDET M-A., SCHAER M., DORNER M.B., et
 326 al. Ricinus communis Intoxications in Human and Veterinary Medicine—A Summary of Real
 327 Cases. **Toxins.** 3:1332–72, 2011. <https://doi.org/10.3390/toxins3101332>
- 328 YEBOAH A., YING S., LU J., XIE Y., AMOANIMAA-DEDE H., BOATENG K.G.A., et al.
 329 Castor oil (*Ricinus communis*): a review on the chemical composition and physicochemical
 330 properties. **Food Sci Technol.** 41:399–413, 2021. <https://doi.org/10.1590/fst.19620>

10. CONCLUSÕES GERAIS

O uso de *Caenorhabditis elegans* nas metodologias realizadas apresentaram aplicabilidade em diferentes cenários, reforçando sua utilidade como modelo experimental acessível, ético e de baixo custo. A tese apresentou modelos pluriversitários de integração entre ensino, pesquisa, inovação e extensão (IEPIE) que conseguiram gerar trabalhos científicos em Saúde-Única com alunos do ciclo básico.

Várias inovações foram apresentadas neste trabalho. Controles de qualidade para bebidas industrializadas e Whey Protein foram desenvolvidos. O óleo de *Citrus arantium* e o leite equino foram evidenciados pela primeira vez na literatura científica como agentes nematicidas naturais. Foi desenvolvido uma metodologia de bioindicação de agrotóxicos superficiais em frutas e legumes utilizando o modelo e como animal experimentação para pesquisa de tratamentos contra intoxicações por plantas tóxicas, neste caso, *Ricinus Communis*. Assim, como a divulgação em eventos e publicação de artigos científicos.

O desenvolvimento desta tese demonstrou que *Caenorhabditis elegans* e outros organismos modelo invertebrados são ferramentas biotecnológicas promissoras e versáteis, com potencial significativo para integrar ensino, pesquisa, extensão e inovação no contexto da Saúde-Única em um eixo Pluriversitario Solidário.

11. REFERÊNCIAS

- ALIMI, D.; REKIK, M.; AKKARI, H. Comparative in vitro efficacy of kefir produced from camel, goat, ewe and cow milk on *Haemonchus contortus*. **Journal of Helminthology**, v. 93, n. 04, p. 440–446, jul. 2019. <https://doi.org/10.1017/S0022149X18000378>.
- ALIMI, Dhouha; HAJAJI, S.; REKIK, M.; ABIDI, A.; GHARBI, M.; AKKARI, H. First report of the in vitro nematicidal effects of camel milk. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 153–159, set. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.09.003>.
- D S, C.; I S, L.; V M, F.; R C, P.; M A S, M.; J V, A. Nematicidal Activity of Goat Milk in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Dairy & Veterinary Sciences**, 3 abr. 2023. DOI 10.19080/JDVS.2023.15.555915. Disponível em: <https://juniperpublishers.com/jdvs/JDVS.MS.ID.555915.php>. Acesso em: 18 set. 2024.
- DEMANT, C. A. R.; AULD, D.; DEMANT, A. R. D. M. Development of a bioassay to quantify the ricin toxin content of castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, n. 4, p. 397–402, 6 set. 2012. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i4.11284>.
- FELIX, P. O consumo de Whey Protein no Brasil é expressivo, cresceu 25% no último ano em relação a 2021. **G1 Minas**, 2023. Disponível em: [https://veja.abril.com.br/saude/consumo-de-whey-protein-cresce-25-no-brasil-veja-beneficios#:~:text=Apenas%20no%20ano%20passado%2C%20o,Especiais%20e%20Cong%20C%20Aneres%20\(Abiad\)](https://veja.abril.com.br/saude/consumo-de-whey-protein-cresce-25-no-brasil-veja-beneficios#:~:text=Apenas%20no%20ano%20passado%2C%20o,Especiais%20e%20Cong%20C%20Aneres%20(Abiad)).
- FRANKE, H.; SCHOLL, R.; AIGNER, A. Ricin and *Ricinus communis* in pharmacology and toxicology—from ancient use and “Papyrus Ebers” to modern perspectives and “poisonous plant of the year 2018”. **Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology**, v. 392, n. 10, p. 1181–1208, out. 2019. <https://doi.org/10.1007/s00210-019-01691-6>.
- FRÉZAL, L.; FÉLIX, M.-A. *C. elegans* outside the Petri dish. **eLife**, v. 4, p. e05849, 30 mar. 2015. <https://doi.org/10.7554/eLife.05849>.
- GLATER, E. E. The Basics of Setting up Successful Teaching Labs and Short-Term Projects with *C. elegans*. In: HASPEL, G.; HART, A. C. (orgs.). **C. elegans**. Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer US, 2022. v. 2468, p. 25–41. DOI 10.1007/978-1-0716-2181-3_2. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-2181-3_2. Acesso em: 30 ago. 2024.
- GONÇALVES, N. G. Indissociabilidade entre Ensino, Pesquisa e Extensão: um princípio necessário. **Perspectiva**, v. 33, n. 3, p. 1229–1256, 1 abr. 2016. <https://doi.org/10.5007/2175-795X.2015v33n3p1229>.
- HEUCKMANN, B.; ZEYER, A. Science|Environment|Health, One Health, Planetary Health, Sustainability, and Education for Sustainable Development: How Do They Connect in Health Teaching? **Sustainability**, v. 14, n. 19, p. 12447, 29 set. 2022. <https://doi.org/10.3390/su141912447>.
- HOSHINO, K.; YASUI, C., IKEDA, T., ARIKAWA, K., TOSHIMA, H., & NISHIKAWA, Y. Evaluation of *Caenorhabditis elegans* as the host in an infection model for food-borne

pathogens. *Japanese Journal of Food Microbiology*, 25(4), 137-147. **Japanese Journal of Food Microbiology**, v. 25, n. (4), p. 137-147., 2008. .

ISO. **Water Quality – Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). ISO 10872: 2020.** [S. l.]: Geneva: International Organization for Standardization, 2020.

KAHN, L. H. Perspective: The one-health way. *Nature*, v. 543, n. 7647, p. S47–S47, mar. 2017. <https://doi.org/10.1038/543S47a>.

KAHN, L.; KAPLAN B; MONATH TM; STEELE JH. Teaching ‘One Medicine, One Health’. *Am J Med*, v. 121, p. 169–170, 2008. .

MUDD, N.; LICEAGA, A. M. *Caenorhabditis elegans* as an in vivo model for food bioactives: A review. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 845–856, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.05.001>.

NOVAES, M. A. B. D.; LIMA, M. T. T.; OLIVEIRA, R. V. D.; OLIVEIRA, D. N. D. S. (Orgs.). **ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO NA FORMAÇÃO DE PROFESSORES**. 1. ed. [S. l.]: Editora Itacaiúnas, 2022. DOI 10.36599/qped-ed1.150. Disponível em: <https://quipaeditora.com.br/ensino-pesquisa>. Acesso em: 6 fev. 2025.

OMS. WHO. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015. **Who**, 2015. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/.

SOUZA SANTOS, B. **A Universidade no sec. XXI: por uma universidade nova**. Editora: Almedina Brasil, 2008.

VALEJO, F. A. M.; MANTOVAN, F. B.; , RISTER, G. P.; , SANTOS, G. D. D.; ANDRÉS, C. D. R. Vigilância sanitária: avaliação e controle da qualidade dos alimentos. **Hig. aliment**, , p. 16–21, 2003. .

12. ANEXOS

Viçosa, 18 de maio de 2022

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa, CEUA/UFV, certifica que o Processo nº 14/2022, com o Projeto de Pesquisa intitulado, **“Caenorhabditis elegans como plataforma de pesquisa, ensino e extensão integrada à Saúde Única”** coordenado pelo(a) professor(a) Jackson Victor de Araújo do Departamento de Veterinária, está de acordo com a legislação vigente, Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008, com as Resoluções Normativas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal, CONCEA e, apresenta especificidade, caracterizando *“A não utilização de animais vivos”*, portanto sendo aprovado por esta comissão em 18 de maio de 2022.

CERTIFICATE

The Ethics Committee in Use of Animals of the University of Federal de Viçosa, CEUA-UFV, certify that the 14/2022 Process, with the Research Project titled, **“Caenorhabditis elegans as a platform for research, teaching and extension integrated to One Health”**, coordinated by Jackson Victor de Araújo of Department of Veterinary, is of according to current legislation, Law No. 11,794, of October 08, 2008, with the Normative Resolutions issued by the National Council for the Control of Animal Experimentation, CONCEA and, presents specificity, characterizing "Non-use of live animals", therefore being approved by this commission in May 18, 2022.



Prof. Fabrício Luciani Valente
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV