

EFEITO GENOTÓXICO NOS ERITRÓCITOS DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM CREOLINA VIA ORAL

Fabiane Luizetti

Zootecnista e Médica Veterinária, Mestre, Discente do curso de Especialização em Análises Clínicas do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR; E-mail: fabiluzetti@gmail.com

Caroline Scilovski Avancini

Farmacêutica; Discente do curso de Especialização em Análises Clínicas do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR; E-mail: krolscilovski@hotmail.com

Jerônimo Perez Vargas Filho

Discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR; e-mail: jeronimovargas@hotmail.com

Tatiane Garcia da Silva

Médica Veterinária; E-mail: tati.garcia.veterinaria@gmail.com

Mirian Ueda Yamaguchi

Farmacêutica, Doutora, Docente do curso de Farmácia, Biomedicina, Especialização em Análises Clínicas do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR, Mestrado em Promoção da Saúde; e-mail: mirianueda@gmail.com

RESUMO: A creolina, um composto de hidrocarbonetos, fenol e cresóis, é utilizada como desinfetante de eficácia comprovada contra várias bactérias. A creolina também faz parte de experimentos recentes, não como fator de intoxicação, mas na cura de feridas e sobre reparação tecidual, apresentando uma cicatrização do ferimento, com acentuada neovascularização e reepitelização. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito genotóxico da creolina nas células sanguíneas de camundongos através do teste do micronúcleo. Foram utilizados 16 camundongos fêmeas adultas, divididas em 3 grupos, sendo o primeiro, o grupo controle positivo onde foi administrado ciclofosfamida em dosagem única de 50mg/kg. O segundo grupo recebeu solução fisiológica 0,9%, como controle negativo e o terceiro grupo foi tratado com a creolina. A eutanásia foi realizada 48 horas após os tratamentos e as lâminas confeccionadas com sangue intracardíaco, avaliando 1.000 eritrócitos policromáticos para a contagem de micronúcleos. Na concentração testada, a creolina é uma substância genotóxica capaz de induzir alterações no DNA celular provocando a formação de micronúcleos residuais.

PALAVRAS-CHAVE: Genotoxicidade; Creolina; Células Sanguíneas; Micronúcleo

GENOTOXIC EFFECT IN ERYTHROCYTES OF MICE TREATED ORALLY WITH CREOLIN

ABSTRACT: Creolin is a hydrocarbonate, phenol and cresol compound used as a highly efficient disinfectant against several bacteria. Creolin has recently been used in experiments in the cure of wounds and tissue recovery. In fact, it features wound healing with neo-vascularization and re-epithelization. Current analysis evaluates the genotoxic effect of creolin in mice's blood cell by micronucleus test. Sixteen female mice were employed and divided into three groups. The first group was the positive control to which cyclophosphamide at a single dose of 50mg/kg was administered. The second group received a physiological solution 0.9%, as negative control. The third group was treated with creolin. Euthanasia occurred 48 h after treatment and laminae with intracardiac blood were investigated by evaluating 1000 polychromatic erythrocytes for micronucleus counting. Within the concentration tested, creolin is a genotoxic compound that induces alteration in cell DNA and causes the formation of residual micronuclei.

KEYWORDS: Genotoxicity; Creolin; Blood Cells; Micronucleus.

INTRODUÇÃO

A creolina, um composto de hidrocarbonetos, fenol e cresóis, é utilizada como desinfetante de eficácia comprovada contra algumas bactérias como *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*.

Os cresóis são conhecidos por pertencer a um grupo de compostos químicos fenólicos que agem sobre o protoplasma de células bacterianas e dos mamíferos causando desnaturação e precipitação de proteínas (GORNIAK; SPINOSA, 2003). A exposição ao composto geralmente ocorre em níveis muito baixos, mas, quando são respirados, ingeridos ou aplicados na pele em níveis muito elevados, podem ser muito prejudiciais (HANSEN, 2006).

Spiller, Quadrani-Kushner e Cleveland (1993) avaliaram os efeitos da exposição a desinfetantes fenólicos numa revisão retrospectiva, onde os principais efeitos encontrados em pacientes após a exposição oral foram uma rápida depressão do sistema nervoso central, vômito, tosse, prurido e ardência; entretanto, nenhuma avaliação ou coleta de amostras foram feitas diretamente com os pacientes e o risco de contaminação corrosiva e sistêmica não foram mensurados. Segundo Hansen (2006) os cresóis produzem ainda danos ao coração, fígado, rins, anemia, paralisia facial, coma e morte.

A creolina também faz parte de experimentos recentes não como fator de intoxicação, mas na cura de feridas. Miller e Rodríguez (2010) utilizaram a creolina líquida sobre as feridas causadas por “Tungiasis”, uma infecção cutânea causada pelo parasita *Tunga penetrans*. A parasitose foi controlada tanto em humanos como em cães, levando os pacientes à cura.

Em estudo sobre reparação tecidual, Barbudo et al. (2001) utilizaram um hidrocarboneto alifático sobre feridas cutâneas provocadas no dorso

de roedores. O grupo que recebeu o tratamento tópico com hidrocarboneto mostrou uma cicatrização completa do ferimento, com acentuada neovascularização, reepitelização e presença de fibras colágenas quando comparado ao grupo controle que recebeu solução fisiológica.

Zachiewicz (2003), em estudo sobre a automedicação de pacientes com doenças crônicas (HIV, Chagas e Paracoccidiodomicose), verificou que a ingestão da creolina ocorre com baixa frequência na tentativa de auxiliar a prescrição médica em busca da cura e também para reduzir os efeitos colaterais provocados pelos medicamentos em uso.

A análise citogenética permite avaliar os danos provocados no DNA ou nos cromossomos após uma exposição a agentes nocivos. Uma vez identificados os agentes, ações para diminuir sua presença no meio ambiente ou para proteger a população contra eles podem minimizar as consequências sobre a saúde das pessoas (MARTINO-ROTH et al., 2002).

Uma parte experimental na confirmação e liberação de uso de medicamentos é a avaliação da capacidade mutagênica e genotóxica da substância em questão. Esse procedimento pode ser realizado com sucesso através do teste de micronúcleo.

A mutagênese é determinada quando ocorre uma alteração espontânea ou induzida por agentes físicos ou químicos (LEWIN, 2001) e está relacionada ao desenvolvimento do câncer (DE FLORA; IZZOTTI apud GOMES, 2008); entretanto, o desenvolvimento da doença envolve mais fatores que apenas uma mutação no material genético (ALBERTS et al., 2002). Já a citotoxicidade ocorre em nível celular, onde os testes avaliam se a viabilidade celular foi ou não afetada pela substância em questão, e tal viabilidade é inferida através da atividade mitocondrial (GOMES, 2008).

A genotoxicidade pode ser avaliada de acordo com a interação do agente mutagênico com o DNA, sendo a capacidade de ligação ao DNA avaliada pela observação de aductos no DNA, a capacidade de quebra pelo teste cometa e a capacidade de

induzir mutações cromossômicas através do teste do micronúcleo ou aberrações cromossômicas (GOETHEM; LISON; KIRSCHI-VOLDERS apud GOMES, 2008).

A formação de micronúcleos é resultante da ação de agentes clastogênicos, que promovem quebras cromossômicas, bem como alterações na fibra do fuso mitótico, que interfere na migração provocando a perda do cromossomo durante a divisão celular, denominada aneugênese (GOMES, 2008)

Os agentes genotóxicos interferem durante a replicação e divisão do DNA acarretando em erros e danos ao cromossomo. Assim o material genético pode se separar de forma desigual sendo então excluído ou não incorporado corretamente no núcleo da célula-filha, originando um núcleo de menor dimensão designado de micronúcleo (FENECH, 2002).

Os micronúcleos são encontrados em uma grande variedade de células da medula óssea: mieloblastos, mielócitos e eritrócitos. No entanto, são principalmente observados nos eritrócitos policromáticos (jovens), que durante um período de 24 horas se “coram em azul-acinzentado basofílico com Giemsa” (LEDEBUR; SCHMID apud SILVA; NEPOMUCENO, 2010; HEDDLE et al., 1983)

Após a expulsão do núcleo, o eritrócito propriamente dito cai na circulação sanguínea e os micronúcleos formados ainda permanecem no citoplasma. Dessa forma se forem contados apenas os eritrócitos policromáticos, há uma maior segurança de que os micronúcleos foram formados na mitose anterior, na presença do agente mutagênico (HEDDLE, 1973).

O objetivo, neste estudo, foi avaliar, através do teste do micronúcleo, o potencial genotóxico da substância creolina, administrada via oral em camundongos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 16 camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, fêmeas, com 15 semanas de vida e peso médio de 28g, provenientes do biotério da Universidade Estadual de Maringá. Os animais passaram por período de adaptação de 6 dias, recebendo água e ração comercial *ad libitum*.

Foi utilizado fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, em temperatura média de 23°C.

Os animais foram divididos em três grupos, sendo o primeiro o grupo controle positivo, composto por 6 camundongos, onde foi administrado ciclofosfamida em dosagem única de 50mg/kg, que induz a atividade carcinogênica nas células. O segundo grupo, composto por 4 camundongos, recebeu 0,3mL de solução fisiológica 0,9%, como controle negativo, e o terceiro grupo, composto por 6 camundongos, foi tratado com a creolina numa dosagem de 0,0016mL do produto/grama de peso corpóreo animal, considerando uma concentração de 0,56ml de hidrocarboneto em 1mL de creolina, diluída em 0,3mL de solução fisiológica. A administração dos compostos foi feita através de *gavage*, introduzindo a agulha especial pela boca até o estômago do animal, sendo a via similar a ingestão acidental ou intencional da substância testada.

A dose teste da creolina foi estabelecida em um ensaio prévio que determinou a DL50 da substância seguindo a Resolução Normativa nº 425 da OECD (2001).

A formação dos micronúcleos ocorre apenas em células eucarióticas em divisão, ou seja, é necessário conhecer a cinética da divisão celular da espécie para poder fazer uma análise quantitativa dos micronúcleos (FENECH, 2000) independente do cariótipo envolvido (HAYASHI et al., 1998).

O tempo necessário para a formação dos micronúcleos após o tratamento varia, segundo os autores, principalmente devido às espécies trabalhadas.

Em sangue periférico de ratos, Primo et al. (2010), comparando a coleta com 24 e 48 horas após o tratamento, observaram que em 48 horas o número

de micronúcleos formados era maior. Ribeiro et al. (2009) testou os animais com 48 e 72 horas e observou que ocorre uma queda na produção de micronúcleos após as 48 horas. Outros autores como Sewerynek et al. (1996) e Vilar et al. (2008), encontraram que o pico de produção de micronúcleos ocorre de 36 a 48 horas, que concorda com Vikram, Ramarao e Jena (2007) em seu experimentos com ratos. Por isso foi estabelecido, neste estudo, o período de 48 horas para a coleta da amostra.

MacGregor, Wehr e Gould (1980) verificaram que o pico de incidência dos micronúcleos no sangue, ocorre 24 horas após o pico encontrado na medula óssea. O equilíbrio de eritrócitos policromáticos na medula óssea e no sangue é atingido de 2 a 3 dias, respectivamente, após a administração do indutor mutagênico (COLE et al., 1981). Já os eritrócitos normocromáticos levam cerca de 35 dias para sua estabilização no sangue periférico (MACGREGOR et al., 1990).

O ensaio de micronúcleos com sangue periférico se mostra vantajoso em relação ao teste através da medula óssea, devido à facilidade no preparo das lâminas, o uso de pouca quantidade de sangue, possibilidade de avaliação do mesmo animal em diversos intervalos, fácil contagem, entre outros (MACGREGOR; WEHR; GOULD, 1980; SCHLEGEL; MACGREGOR, 1984; MAVOURNIN; BLANKEY; CIMINO, 1990).

A medula óssea costuma ser o material escolhido para a análise do micronúcleo, por ser o local da produção das células sanguíneas (eritropoiese que ocorre em apenas 24 horas), mas a avaliação através da circulação periférica é indicada em camundongos, pois as células micronucleadas são facilmente detectadas no sangue (SCHLEGEL; MACGREGOR, 1984; RAMIREZ-MUNOZ et al., 1999) e não são eliminadas, pois seu baço não possui a capacidade de retirar as células micronucleadas da circulação (MACGREGOR; WEHR; GOULD, 1980).

Após a formação dos eritrócitos, estes

permanecem policromáticos por 10 a 24 horas, que fornece uma coloração azulada devido à presença de RNA no citoplasma. A contagem de eritrócitos policromáticos garante que os micronúcleos formados são devido à mitose anterior que estava na presença do agente mutagênico, pois o período entre a última divisão celular e a formação do eritrócito policromático é de 8 a 12 horas (ALMEIDA NETO et al., 2005). É por esse motivo que a maioria dos trabalhos realizados com pesquisa de micronúcleos utiliza uma aplicação única do agente mutagênico, observando os resultados em 24 ou 48 horas após o tratamento porque os policromáticos aparecem na circulação e sofrem maturação nesse período (SCHIMID, 1975).

Após 48 horas da indução dos tratamentos, os animais receberam uma dose de 120mg/kg de tiopental (via intraperitoneal) como processo de anestesia para a coleta de sangue. A eutanásia foi realizada através de deslocamento cervical de cada animal, como prevê a Resolução nº 876 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (2008) para não haver interação do anestésico inalatório nos tecidos e sangue dos animais. Estes passaram por necrópsia para avaliação dos órgãos, principalmente fígado.

O sangue coletado através de punção cardíaca foi homogeneizado com EDTA na proporção de 0,1mL/5mL de sangue para então ser feito o esfregaço na lâmina. As lâminas foram secas ao ar por 24 horas e então coradas com May-Grunwald-Giemsa, para a contagem de 1.000 células policromáticas.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio de ANOVA Bayesiana, utilizando-se o *software WinBUGS* (SPIEGELHALTER et al., 2007). O nível de significância assumido foi de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O grupo 1 foi tratado com a ciclofosfamida, um agente clastogênico (que promove a quebra do

cromossomo) utilizado no tratamento de câncer e neste trabalho, como indutor de micronúcleos (RIBEIRO et al., 2009). Foi encontrada uma média de 17,62 micronúcleos. O grupo 2, tratado com solução fisiológica, também apresentou micronúcleos, mas numa quantidade inferior ao controle positivo. O controle negativo apresentou média de 3 micronúcleos por animal que já era um valor esperado e o grupo 3, tratado com a creolina, apresentou média de 14,63 micronúcleos, como pode ser observado na tabela 1.

ciclofosfamida.

Os valores referentes a ratos e camundongos são diferentes devido à capacidade do rato em eliminar as células defeituosas da circulação sanguínea por outras vias além do baço, maximizando sua eficiência de limpeza, e, assim, os camundongos apresentam maior número de células micronucleadas na circulação periférica (MACGREGOR; WEHR; GOULD, 1980).

Tabela 1 Número de micronúcleos encontrados nos eritrócitos policromáticos nos esfregaços sanguíneos da punção cardíaca de camundongos após 48 horas do tratamento.

Tratamento	Nº animais	Total MN	Média ± desvio
Controle positivo	6	106	17,62 ± 0,02 a
Controle negativo	4	12	3,02 ± 0,01 b
Tratado creolina	6	88	14,63 ± 0,01 a

Letras diferentes entre os grupos significam que as médias diferem.

Como o intervalo de credibilidade de 95% para o grupo controle positivo-grupo controle negativo foi de (-1,53; 7,70), exclui a possibilidade de existir diferença entre esses grupos tratados, pois inclui o valor 0 (zero). Para as demais comparações conclui-se que as médias são distintas.

Os valores encontrados para o controle positivo feito com a ciclofosfamida foram semelhantes aos valores encontrados por outros autores como Andrade et al. (2008), que contaram 1.000 células policromáticas na medula óssea de camundongos e encontraram um número de 18,8 micronúcleos após 24 horas do tratamento. Primo et al. (2010), contabilizando 2.000 células policromáticas de camundongos, encontraram 26,44 e 24,56 micronúcleos em 24 e 48 horas após o tratamento, respectivamente, concordando com Yamaguchi et al. (2010), que observaram 27 micronúcleos para o controle positivo após as 24 horas do tratamento. Ribeiro et al. (2009) encontraram 21,3 micronúcleos em 2.000 eritrócitos policromáticos na medula de ratos após 24 horas da administração da

Bueno e Agostini (2001) verificaram que o valor médio de micronúcleos em eritrócitos policromáticos no controle negativo varia de 1 a 3,5 micronúcleos. Alves Júnior (1999) encontrou um valor médio de 3 micronúcleos, semelhante ao resultado encontrado neste trabalho, que foi de 3 micronúcleos em lâminas de sangue cardíaco.

Os números de micronúcleos encontrados no controle positivo e negativo concordam com as médias encontradas por vários autores referenciados anteriormente e, por tal motivo, o resultado observado para a creolina, de 14,63 micronúcleos, é confiável para afirmar que a substância tem capacidade genotóxica.

Não há trabalhos disponíveis relacionando a ingestão de creolina com a formação de micronúcleos, entretanto é fato que pessoas fazem uso da substância para vários procedimentos como a ingestão e uso em animais, podendo levar a intoxicação aguda e morte. É necessário um estudo mais amplo, considerando também o uso crônico da creolina e avaliar os benefícios relatados pelos usuários,

visando relacionar vantagens e desvantagens do uso da substância.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O teste do micronúcleo é um dos primeiros parâmetros a ser avaliado para o uso de uma substância nos seres vivos. A creolina, administrada por via oral, apresentou-se como uma substância genotóxica capaz de induzir alterações no DNA celular provocando a formação de micronúcleos residuais. Entretanto, trabalhos futuros devem ser realizados a fim investigação para uso em tratamentos de aplicação tópica e crônica.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L. S. et al. Absence of antimutagenicity of *Cochlospermum regium* (Mart. and Schr.) Pilger 1924 by micronucleus test in mice. **Braz. J. Biol.**, v. 68, n. 1, p. 155-159, 2008.
- ALBERTS, B. et al. **Fundamentos da biologia celular: uma introdução à biologia molecular da célula.** Porto Alegre, RS: Artes Médicas, 2002. 757p.
- ALMEIDA NETO, J. X. A. et al. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do teste de micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) in vivo. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 2005.
- ALVES JÚNIOR, L. **Estudo dos possíveis efeitos mutagênicos do extrato hidroalcoólico de *Wedelia paludosa* D. C. (Asteraceae).** 1999. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso. – Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Florianópolis, 1999.
- BARBUDO, G. R. et al. Reparação de feridas cutâneas de roedores da espécie *Calomys callosus*, tratadas com hidrocarboneto alifático: aspectos morfológicos, morfológicos e histológicos. **Braz. J. Vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 62-65, 2001.
- BUENO, A. M. S.; AGOSTINI, J. M. S. **Estabelecimento de um controle histórico da frequência de eritrócitos micronucleados em camundongos da linhagem Swiss, do Biotério Central da UFSC.** 2001. 24 f. Relatório Final. Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Florianópolis, out. 2001.
- CFMV. Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Resolução nº 876 de 15 de fevereiro de 2008.** Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais. Brasília: [s.n.], 2008.
- COLE, R. J. et al. Short-term tests for transplacentally active carcinogens I. micronucleus formation in fetal and maternal mouse erythroblasts. **Mutat. Res.**, v. 80, p. 141-157, 1981.
- FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**, v. 455, p. 81-95, 2000.
- FENECH, M. Chromosomal biomarkers of genomic instability relevant to cancer, **Drug Discovery Today**, v. 7, n. 22, p. 1128-1137, 2002.
- GOMES, C. C. **Avaliação da citotoxicidade e da genotoxicidade de um liga metálica utilizada em implantes médicos.** 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, SP, 2008.
- GORNIK, S. L.; SPINOSA, H. S. Farmacologia veterinária: considerações sobre farmacocinética que contribuem para explicar as diferenças de respostas observadas entre espécies animais. **Revista CFMV**, v. 9, n. 30, set./dez. 2003.
- HANSEN, D. T. K. **Prevalência de intoxicações de cães e gatos em Curitiba.** 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias ênfase em patologia veterinária). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- HAYASHI, M. et al. Development of genotoxicity assays systems that use aquatic organisms. **Mutation Research**, v. 399, n. 2, p. 125-133, 1998.
- HEDDLE, J. A. A rapid in vivo test for chromosome damage. **Mutation Research**, v. 18, p. 187-192, 1973.

- HEDDLE, J. A. et al. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v. 123, p. 61-118, 1983.
- LEWIN, B. **Genes VII**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2001.
- MACGREGOR, J. T., WEHR, C. M.; GOULD, D. H. Clastogen-induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes: the basis of an improved micronucleus test. **Environmental Mutagenesis**, v. 2, n. 4, p. 509-514, 1980.
- MACGREGOR, J. T. et al. The *in vivo* erythrocyte micronucleus test: measurement at steady state increases assay efficiency and permits integration with toxicity studies. **Fund. Appl. Toxicol.**, v. 14, p. 513-522, 1990.
- MARTINO-ROTH, M. G. et al. Evaluation of genotoxicity through micronuclei test in workers of car and battery repair garages. **Genet. Mol. Biol.**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 495-500, 2002.
- MAVOURNIN, K. H.; BLANKEY, D. H.; CIMINO, M. C. The *in vivo* micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v. 239, n. 1, p. 29-80, 1990.
- MILLER, H.; RODRÍGUEZ, G. Tungiasis in native amerindians in Vaupés province: epidemiology, clinical aspects, treatment, and prevention. **Biomedica**, Colombia, v. 30, n. 2, p. 215-237, 2010.
- OECD. Organization for Economic Co-operation and Development. **Guideline for testing of chemicals: Acute oral toxicity-up-and-down Procedure (N° 425)**, 2001.
- PRIMO, M. S. et al. Avaliação da mutagenicidade e antimutagenicidade de um biopolímero extraído do microorganismo *Agrobacterium radiobacter* em camundongos *Swiss*. **Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 3, p. 340-347, jun./jul. 2010.
- RAMIREZ-MUÑOZ, M. P. et al. Evaluation of the micronucleus test in peripheral blood erythrocytes by use of the splenectomized model. **Laboratory Animal Science**, v. 49, n. 4, august, 1999.
- RIBEIRO, J. C. et al. Evaluation of the genotoxic potential of *Austroplenckia populnea* (Reiss) Lundell chloroform fraction from barkwood extract in rodent cells *in vivo*. **Braz. J. Biol.**, v. 69, n. 4, p. 1141-1147, 2009.
- SCHLEGEL, R.; MACGREGOR, J.T. The persistence of micronucleated erythrocytes in the peripheral circulation of normal and splenectomized Fischer 344 rats: implications for cytogenetic screening. **Mutat. Res.**, v. 127, p. 169-174, 1984.
- SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutation Research**, v. 31, p. 9-15, 1975.
- SEWERYNEK, E. et al. Lipopolysaccharide-induced DNA damage is greatly reduced in rats treated with the pineal hormone melatonin. **Mol. Cell. Endocrinol**, v. 117, n. 2, p. 183-188, 1996.
- SILVA, A. C.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba. **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM**, Patos de Minas, v. 1, n. 7, p. 167-179, ago, 2010.
- SPIEGELHALTER, D. et al. **BUGS: bayesian Inference using Gibbs Sampling**. Cambridge: MRC Biostatistics Unit. Versão 1.4.3, 2007. Disponível em: <<http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs>>. Acesso em: 01 out. 2011.
- SPILLER, H. A.; QUADRANI-KUSHNER, D. A.; CLEVELAND, P. A Five year evaluation of acute exposures to phenol disinfectant (26%). **J. Toxicol. Clin. Toxicol.**, v. 31, n. 2, p. 307-313, 1993.
- VIKRAM, A.; RAMARAO, P.; JENA, G. Prior bleeding enhances the sensitivity of peripheral blood and bone marrow micronucleus tests in rats. **Mutagenesis**, v. 22, n. 4, p. 287-291, 2007.
- VILAR, J. B. et al. Assessment of the mutagenic, antimutagenic and cytotoxic activities of ethanolic extract of araticum (*Annona crassiflora* Mart. 1841) by

m micronucleus test in mice. **Braz. J. Biol.**, v. 68, n. 1, p. 141-147, 2008.

YAMAGUCHI, M. U. et al. Antifungal effects of Ellagitannin isolated from leaves of *Ocotea odorifera* (Lauraceae). **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 99, n. 3, p. 507-514, 2010.

ZACHIEWICZ, C. **Investigação das práticas de automedicação em pacientes crônicos sob terapia medicamentosa**. 2003. 90 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), Fundação Oswaldo Cruz-Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2003.

Recebido em: 29 de novembro 2011

Aceito em: 11 de abril 2012