

Técnicas baseadas em Lógica Paraconsistente aplicadas na avaliação da resposta celular do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758)

Luiz Fernando G. Nogueira¹, Camilo D. S. Pereira¹ e João Inácio Da Silva Filho^{1,2}

¹UNISANTA- Universidade Santa Cecília –Departamento de Pós Graduação, Santos -SP, Brasil

²IEA-USP-Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo, São Paulo -SP, Brasil

E-mail: lfnog3@terra.com.br, inacio@unisanta.br,

Received january, 2013

Resumo

Devido à sua ampla distribuição na costa do Brasil e atributos necessários aos bioindicadores, como acumular o poluente, possuir hábito sésil e ser abundante no ambiente estudado, o mexilhão *Perna perna* (*Bivalvia*, *Mytilidae*) tem sido uma espécie frequentemente utilizada em estudos de diagnóstico ambiental. Uma das técnicas mais empregadas consiste na avaliação da estabilidade da membrana lisossômica através do Ensaio do tempo de Retenção do Corante Vermelho Neutro. A análise final se baseia principalmente na interpretação visual da coloração e tamanho das células expostas aos corantes, o que, apesar de eficiente, eventualmente provoca erros interpretativos que podem prejudicar as conclusões. Para oferecer um melhor tratamento às incertezas consideradas nas interpretações dos dados, apresenta-se, neste trabalho, uma forma de interpretação quantitativa dos resultados na qual são utilizados os fundamentos de uma lógica não clássica, denominada de Lógica Paraconsistente Anotada com anotação de dois valores (LPA2v). Como demonstração da técnica, um estudo numérico comparativo é efetuado em uma fonte secundária de dados, e os resultados mostraram-se promissores no que concerne a uma nova forma de interpretação que pode servir de referência para os estudos que tratam da utilização da resposta celular do mexilhão *Perna perna*.

Palavras-chave: Ecologia. Integridade lisossômica. Lógica Paraconsistente. Algoritmo. Poluição marinha.

Techniques based on Paraconsistent Annotated Logic in the assessment of the mussel *Perna perna* response (Linnaeus, 1758)

Abstract

Due to its wide distribution on the coast of Brazil and necessary attributes to bioindicators, how to accumulate the pollutant, sessile habit and have to be abundant in the environment studied, the mussel *Perna perna* (*Bivalvia*, *Mytilidae*) has been a species commonly used in environmental assessment studies. One of the techniques more used consists in assessing the Lysosomal membrane stability through the test of time Neutral red dye retention. The final analysis is based mostly on visual interpretation of the coloring and size of cells exposed to dyes, which eventually causes the interpretative errors that may affect the conclusions. To provide better treatment to the uncertainties considered interpretations of the data, we present in this paper a quantitative interpretation of the results in which is used the basics of a non-classical logic called Paracon-

sistent Annotated logic with annotation of two values (PAL2v). For techniques demonstration a numerical comparison study is performed in a secondary source of data and the results were promising with regard to a new form of interpretation that can serve as a reference for studies that deal with the use of the cellular response of Mussel *Perna perna*.

Keywords: Ecology, Lysosomal Integrity, Paraconsistent logic, Algorithm, Marine pollution.

1. Introdução

A Zona Costeira Brasileira, ao longo de várias décadas, vem sendo impactada pela ação humana devido à grande exploração de recursos e sua importância comercial para a produção pesqueira e cultivo de organismos através da aquicultura.

Esses fatores acabam agindo como estressores contínuos dos organismos que ali habitam, causando um desequilíbrio fisiológico não só em um indivíduo, mas em toda uma população, gerando alterações no ecossistema.

Atualmente as análises ecotoxicológicas chegaram a um novo patamar de avaliação, que é feita através da utilização de biomarcadores. Esses biomarcadores apresentam respostas biológicas evidenciadas como alterações bioquímicas, celulares, histológicas ou comportamentais (Lowe, 1995).

A utilização de biomarcadores tem sido indicada em programas de avaliação ambiental devido, entre outros aspectos, à alta sensibilidade, curto prazo de resposta e baixo custo de análise (Pereira et al, 2003).

No Brasil, o mexilhão *Perna perna* tem sido uma das espécies mais utilizadas como biomonitor, devido à sua ampla distribuição na costa e apresentação dos atributos necessários aos bioindicadores, como acumular o poluente, possuir hábito sésil e ser abundante no ambiente estudado (Borenfreund, 1995).

2. O Mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758)

Devido à sua ampla distribuição na costa do Brasil e atributos necessários aos bioindicadores, como acumular o poluente, possuir hábito sésil e ser abundante no ambiente estudado, o mexilhão *Perna perna* tem sido uma das espécies mais utilizadas para se fazer o diagnóstico ambiental.

A técnica utilizada é geralmente realizada por meio da análise do estresse, nos organismos teste, detectado pela alteração em nível bioquímico e celular que consiste em visualizar e efetuar contagem do tempo em que se causou dano oxidativo que resultaram na desestabilização lisossômica das células.

A análise final se baseia principalmente no encontro de significância estatística entre os tempos médios de retenção nos pontos considerados poluídos em relação ao ponto referência, o que eventualmente provoca erros interpretativos que podem interferir nas conclusões.

Para oferecer um melhor tratamento às incertezas consideradas nas interpretações dos dados, apresentamos, neste trabalho, uma nova forma de interpretação quantitativa dos resultados na qual são utilizados os fundamentos de uma lógica não clássica, denominada de Lógica Paraconsistente Anotada com anotação de dois valores.

3. Lógica Paraconsistente Anotada (LPA)

A Lógica Paraconsistente Anotada - LPA pertence às famílias das lógicas não clássicas e tem como principal propriedade a capacidade de tratar sinais de informação contraditórios.

Conforme pode ser visto em Da Silva Filho et al (2011), com base nos fundamentos da LPA podem-se elaborar interpretações em um Reticulado associado no qual se obtêm equações paraconsistentes.

Em Damin e Da Silva Filho (2012), através dessas interpretações foi elaborado um algoritmo capaz de tratar valores de amostras coletadas em sítios ecológicos dedicados à determinada espécie de interesse, utilizando técnicas que unem processos estatísticos e as equações paraconsistentes.

O algoritmo originado da união da estatística com a LPA é denominado de “Paraconsistente/Estatístico Descritivo”, e inicialmente transforma a densidade de frequência de células estressadas coletadas em graus de evidência estabelecidos em um valor normalizado no intervalo fechado entre 0 1 pertencente ao conjunto dos números reais.

Depois dessa primeira ação, o Algoritmo utiliza as equações paraconsistentes e faz o tratamento lógico dos valores transformados em forma de Graus de evidência.

Ao final da análise, é oferecido como resultado um Grau de Evidência resultante que representa um valor quantitativo correspondente à proposição analisada. Estes procedimentos serão detalhados a seguir.

4. Materiais e Métodos

4.1 Método de Retenção do Vermelho Neutro

O método utilizado para análise do tempo de retenção do Corante Vermelho Neutro em lisossomos de hemócitos é descrito por Lowe et al (1995). De maneira geral, usando uma seringa hipodérmica de 2 ml contendo 0,5 ml de solução fisiológica, coleta-se 0,5 ml de hemolinfa do músculo adutor posterior do mexilhão.

O conteúdo da seringa é transferido para tubos de microcentrifuga de 2 ml, onde será suavemente homogeneizado. São pipetados 40 µl desta solução (hemolinfa + solução fisiológica) sobre a superfície de uma lâmina tratada previamente com poly-L-lisina. Essas lâminas são incubadas por 15 minutos em câmara escura e úmida. Após o tempo de incubação, pipetam-se sobre as lâminas 40 µl de solução de Vermelho Neutro. São necessários mais 15 minutos de incubação em câmara escura e úmida antes de se iniciarem as observações.

Na primeira hora, as lâminas são examinadas a cada 15 minutos e, na segunda hora, a cada 30 minutos. A observação final é feita após 180 minutos de exposição.

O tempo de retenção do VN pelos lisossomos (Nicholson, 2001) é obtido pela estimativa da proporção de células exibindo liberação do corante para o citosol e/ou exibindo anormalidades no tamanho e cor dos lisossomos e no formato das células. A cada contagem, as condições são anotadas em uma tabela.

Na observação e anotação dos resultados, a cada contagem as condições são anotadas em uma tabela, conforme a figura 1. A anotação do processo observado é feito do seguinte modo:

- Quando mais do que 50% das células observadas não apresentam sinais de stress, usa-se o sinal + no campo da tabela respectivo ao animal examinado.

- Quando as células apresentam algum sinal de stress, o sinal +/- pode ser utilizado.

A análise termina quando 50% ou mais das células exibem anomalias estruturais ou vazamento do corante para o citosol, e o sinal - é marcado na tabela (King 2000).

Tempo (min)	15	30	45	60	90	120	180	Efeito
Mexilhão/lâmina								
1	+	+	+	+/-	-	-	-	60
2	+	+	+	+/-	+/-	-	-	90
3	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-	60
4	+	+	+/-	+/-	+/-	-	-	90
5	+	+	+/-	+/-	-	-	-	60

+ ⇒ nenhum efeito, hemócitos normais; +/- ⇒ algum sinal de estresse; - ⇒ mais de 50% de hemócitos estressados

Figura 1. Exemplo da anotação em tabela do tempo de retenção do Vermelho Neutro.

4.2 Métodos de Análise Quantitativa Estatístico/Paraconsistente

Recentemente múltiplas teorias e técnicas de tratamento de sinais incertos estão sendo desenvolvidas em Inteligência Artificial, aplicando lógicas não clássicas nas mais variadas áreas. Entre estas diferentes lógicas, as Lógicas Paraconsistentes, que têm como principal vantagem a capacidade de tratar convenientemente informações contraditórias, apresentam, em alguns casos, significativas vantagens em relação à lógica clássica binária (Da Silva Filho, 2012).

Em Da Silva Filho et al (2012), foram apresentados métodos com os algoritmos estatísticos paraconsistentes, conforme o apresentado a seguir.

4.3 Algoritmo Estatístico/Paraconsistente para extração e análise

Apresenta-se a seguir o Algoritmo completo para se fazer a extração dos valores referentes ao Grau de Evidência da Frequência (μ_{fN}) modelados conforme os fundamentos da LPA. Estes valores, portanto, sinais de informação obtidos das técnicas da Estatística Descritiva serão utilizados como entradas nos processos de análises lógicas paraconsistentes fundamentados em LPA2v. A descrição a seguir mostra o algoritmo de extração [Da Silva Filho et al, 2011b].

4.4 Algoritmo de Extração do Grau de Evidência da Densidade de Frequência

1. Apresente um conjunto de dados Amostrais de tamanho de amostra N .

$$C = \{n_1, n_2, \dots, n_n\}$$

2. Determine o número de categorias (ou de classes) desejado N_c .

$$N_c \geq 5$$

3. Determine a Frequência Relativa

3.a. Para processos por categorias (sem agrupamento

de classes).

3.a.1. Faça a contagem de quantas vezes cada item ou objeto coletado aparece em cada categoria.

Número de objetos Categoria A = Frequência Categoria A = f_A

Número de objetos Categoria B = Frequência Categoria B = f_B

...

Número de objetos Categoria n = Frequência Categoria n = f_n

3.a.2. Determine a frequência relativa (f_r) de cada Categoria do Universo Amostral.

$$f_r = \frac{\text{Frequência da Categoria}}{\text{Tamanho da Amostra } N}$$

3.b. Para processos com agrupamento de classes.

3.b.1. Faça o cálculo da amplitude A :

$$A = nValormaior - nValormenor$$

3.b.2. Determine a largura da classe L :

$$L = \frac{A}{Nc} \quad \text{Obs. Arredonda-se } L \text{ caso dê}$$

valor decimal.

3.b.3. Faça:

$$nValormenor + L = ValormáxiClasse1$$

$$ValormáxiClasse1 + 1 = Valor \text{ min } Classe2$$

3.b.4. Faça:

$$Valor \text{ min } Classe2 + L = ValormáxiClasse2$$

$$ValormáxiClasse2 + 1 = Valor \text{ min } Classe3$$

3.b.5. Faça:

$$Valor \text{ min } Classe3 + L = ValormáxiClasse3$$

$$ValormáxiClasse3 + 1 = Valor \text{ min } Classe4$$

3.b.6. Faça:

$$Valor \text{ min } Classe4 + L = ValormáxiClasse4$$

$$ValormáxiClasse4 + 1 = Valor \text{ min } Classe5$$

3.b.7. Faça:

...

$$Valor \text{ min } ClasseN + L = ValormáxiClasseN$$

$$ValormáxiClasseN + 1 = Valor \text{ min } Classe(N + 1)$$

3.b.8. Determine a frequência das Classes.

Faça a contagem de quantas vezes cada valor do Banco de Dados aparece em cada classe.

$$\text{Classe 1} = \text{Frequência da Classe1} = f_1$$

$$\text{Classe 2} = \text{Frequência da Classe2} = f_2$$

...

$$\text{Classe n} = \text{Frequência da Classe n} = f_n$$

3.b.9. Determine a frequência relativa (f_r) de cada classe.

$$f_r = \frac{\text{Frequência da Classe}}{\text{Tamanho da Amostra } N}$$

4. Ordene do menor para o maior valor da Frequência Relativa das Categorias (ou das Classes).

$$C_{fr} = \{f_{r1}, f_{r2}, \dots, f_{rN}\} \text{ onde}$$

$$f_{r1} < f_{r2} < \dots < f_{rN}$$

5. Determine o Grau de Evidência da frequência da Categoria (ou da Classe) de interesse (f_{rint}) no Universo Amostral:

5.1. Para a frequência Relativa da Categoria (ou da classe) de interesse menor que a maior Frequência Relativa do Universo Amostral:

$$\text{Se } f_{rint} < f_{rN} \text{ então}$$

5.1.a. Faça:

(Considere dentro do Universo Amostral o Grau de Evidência unitário como sendo o maior valor da frequência relativa) $\mu_{fr} = f_{rN1}$

5.1.b. Determine o Grau de Evidência da Frequência de cada Categoria (ou de cada classe) relacio-

nando seu valor ao valor da frequência considerada o Grau de Evidência unitário, fazendo:

$$\mu_{fr1} = \frac{f_{r1}}{f_{rN1}}$$

$$\mu_{fr2} = \frac{f_{r2}}{f_{rN1}}$$

.

.

.

$$\mu_{frN} = \frac{f_{rN}}{f_{rN1}} = 1$$

5.2. Para a frequência Relativa da Categoria (ou da classe) de interesse (f_{rint}) igual a maior Frequência Relativa do Universo Amostral:

$$\text{Se } f_{rint} = f_{rN} \text{ então}$$

5.2.a. Faça:

(Considere dentro do Universo Amostral o valor menor de Frequência Relativa (f_{r1}) e some seu valor ao valor da frequência Relativa da Categoria (ou da classe) de interesse (f_{rint}))

$$f_{rint} + f_{r1}$$

5.2.b. Faça:

Considere dentro do Universo Amostral o Grau de Evidência unitário como sendo o valor da soma da frequência Relativa da Categoria (ou da classe) de interesse com o menor valor da frequência relativa:

$$\mu_{fr} = f_{rint} + f_{r1}$$

5.2.c. Determine o Grau de Evidência da Frequência de cada Categoria (ou da classe) relacionando valor da soma da frequência Relativa da Categoria (ou da classe) de interesse com o menor valor da frequência relativa considerada o Grau de Evidência unitário, fazendo:

$$\mu_{fr1} = \frac{f_{r1}}{(f_{rint} + f_{r1})}$$

$$\mu_{fr2} = \frac{f_{r2}}{(f_{rint} + f_{r1})}$$

.

.

.

$$\mu_{frN} = \frac{f_{rN}}{(f_{rint} + f_{r1})}$$

$$\mu_{frN} = \frac{f_{rN}}{(f_{rint} + f_{r1})} = 1$$

6. Fim

Após a extração dos Graus de Evidência da Densidade de Frequência, estes serão tratados convenientemente por Algoritmos especiais fundamentados em Lógica Paraconsistente [Da Silva Filho, 2012]. O Algoritmo NAP-Nó de Análise Paraconsistente é apresentado a seguir.

4.5 Algoritmo de Análise Paraconsistente NAP. Nó de Análise Paraconsistente

Apresentamos abaixo o descritivo NAP – Nó de Análise Paraconsistente típico que será utilizado nas análises dos Graus de Evidência da Densidade da Frequência.

1. Entre com os valores de Entrada.

μ */ Grau de Evidência favorável $0 \leq \mu \leq 1$
 λ */ Grau de Evidência desfavorável $0 \leq \lambda \leq 1$

2. Calcule o Grau de Certeza.

$$G_C = \mu - \lambda$$

3. Calcule o Grau de Contradição.

$$G_{ct} = (\mu + \lambda) - 1$$

4. Calcule a distância d

$$d = \sqrt{(1 - |G_C|)^2 + G_{ct}^2}$$

5. Calcule o Grau de Contradição normalizado.

$$\mu_{ctr} = \frac{\mu + \lambda}{2}$$

6. Calcule o Intervalo de Evidência resultante.

$$\varphi_E = 1 - |2\mu_{ctr} - 1|$$

7. Determine o sinal da Saída.

Se $\varphi_E \leq 0,25$ ou $d > 1$, então faça:

$S1 = 0,5$ e $S2 = \varphi_{E(\pm)}$: Indefinição e vá para o

item 11

Senão vá para o próximo item

8. Determine o Grau de Certeza real.

Se $G_C > 0$ $G_{CR} = (1 - d)$

Se $G_C < 0$ $G_{CR} = (d - 1)$

9. Calcule o Grau de Evidência resultante real.

$$\mu_{ER} = \frac{G_{CR} + 1}{2}$$

10. Apresente os resultados na saída.

Faça $S1 = \mu_{ER}$ e $S2 = \varphi_{E(\pm)}$

11. Fim.

4.6 Algoritmo Extrator de Contradição

O Algoritmo denominado de Extrator de Efeitos da Contradição [Da Silva Filho et al., 2012], recebe um grupo de sinais e, independentemente de outras informações

externas tem a função fazer uma análise paraconsistente em seus valores subtraindo os efeitos causados pela contradição, e apresentar na saída um único Grau de Evidência resultante real representativo do grupo [Da Silva Filho et al., 2012]. O algoritmo utilizado no processo de extração de efeitos da contradição é descrito a seguir:

1. Apresente os valores de Graus de Evidência do grupo em estudo.

$$G\mu_{est} = (\mu_A, \mu_B, \mu_C, \dots, \mu_n) \quad */ \text{ Graus de Evidência } 0,0 \leq \mu \leq 1,0 \quad */$$

2. Selecione o maior valor entre os Graus de Evidência do grupo em estudo.

$$\mu_{maxA} = \text{Max}(\mu_A, \mu_B, \mu_C, \dots, \mu_n)$$

3. Selecione o menor valor entre os Graus de Evidência do grupo em estudo.

$$\mu_{minA} = \text{Min}(\mu_A, \mu_B, \mu_C, \dots, \mu_n)$$

4. Faça a análise Paraconsistente entre os valores selecionados μ_{maxA} e μ_{minA} :

$$\mu_{R1} = \mu_{maxA} \diamond \mu_{minA} \quad */ \text{ Utilização de um NAP } */$$

5. Acrescente o valor obtido μ_{R1} no grupo em estudo excluindo deste os dois valores μ_{max} e μ_{min} selecionados anteriormente.

$$G\mu_{est} = (\mu_A, \mu_B, \mu_C, \dots, \mu_n, \mu_{R1}) - (\mu_{maxA}, \mu_{minA})$$

6. Retorne ao item 2 até que o Grupo em estudo tenha um único elemento considerado o valor resultante das análises.

$$G\mu_{est} = (\mu_{ER})$$

Nesta técnica que utiliza os algoritmos Paraconsistentes são usados os resultados de um biomarcador aplicado ao mexilhão Perna perna, onde na fase inicial, os valores da densidade da frequência encontrados pela contagem de células estressadas através da análise por Tempo de Retenção do Vermelho Neutro (TRVN) são transformados em graus de evidência representativos do processo. Em seguida, estes valores de Graus de evidência expressos por uma normalização, portanto representados por um número real entre o intervalo fechado [0,1], são tratados com a técnica Paraestatística Descritiva e interpretações fundamentadas em Lógica Paraconsistente Anotada (LPA).

5. Resultados

Para demonstrar a aplicação do método Estatístico/Paraconsistente, considerou-se um estudo numérico comparativo a partir de dados obtidos de uma fonte secundária e extraídos de uma investigação da condição da Baía do Espírito Santo, publicados em Souza et al (2008). A coleta foi realizada com o bivalve Perna perna (Linnaeus, 1758) pela metodologia de desestabilização da membrana lisossômica por meio do Tempo de Retenção do Vermelho Neutro (TRVN).

Dos dados brutos publicados nesse trabalho de referência, foram escolhidas duas tabelas e adaptadas às condições fictícias como fonte secundária apenas para o tratamento dos dados através do método estatístico paraconsistente.

As duas tabelas adaptadas com dados e respectivos valores transformados dos Graus de evidência são apresentadas na figura 2. Seguindo os procedimentos, aplicando o Algoritmo da LPA “Paraconsistente/Estatístico Descritivo”, as densidades de frequência das células estressadas pelo corante vermelho neutro são transformadas em Graus de Evidência.

Em seguida, para cada 10 lâminas com os seus correspondentes Graus de Evidência, é aplicado o Algoritmo Extrator de Efeitos da Contradição. Dessa forma, é obtido como resultado um único Grau de Evidência, cujo valor é o representativo do Grupo composto pelas 10 lâminas.

As tabelas da figura 3 mostram os resultados, nos quais, por comparação visual, pode-se inferir como conclusão que o Local 1, em setembro de 2010, mostrava-se mais poluído que o mesmo Local 1 no mês de fevereiro de 2011.

Tempo (minutos) de Retenção do Vermelho Neutro
ÁREA DE REFERÊNCIA 1

Lâmina	15	30	45	60	90	120	180	μ (Grau de evidência favorável)
1	+	+	+	+	+	-	-	0,71428571
2	+	+	+	+	+	-	-	0,71428571
3	+	+	+	+	+	-	-	0,71428571
4	+	+	+	+	+	-	-	0,71428571
5	+	+	+	-	-	-	-	0,42857143
6	+	+	+	-	-	-	-	0,42857143
7	+	+	+	+	-	-	-	0,57142857
8	+	+	+	+	+	-	-	0,71428571
9	+	+	+	+	+	-	-	0,71428571
10	+	+	+	+	+	-	-	0,71428571

Resultado anotado da coleta no mês de setembro de 2010.

Tempo (minutos) de Retenção do Vermelho Neutro
ÁREA DE REFERÊNCIA 1

Lâmina	15	30	45	60	90	120	180	μ (Grau de evidência favorável)
1	+	+	+	+	+	+	+	1,00000000
2	+	+	+	+	-	-	-	0,57142857
3	+	+	+	+	+	+	+	1,00000000
4	+	+	+	+	+	+	-	0,85714285
5	+	+	+	+	+	+	+	1,00000000
6	+	+	+	-	-	-	-	0,42857142
7	+	+	+	-	-	-	-	0,42857142
8	+	+	+	-	-	-	-	0,42857142
9	+	+	+	-	-	-	-	0,42857142
10	+	+	+	+	+	+	+	1,00000000

Resultado anotado da coleta no mês de fevereiro de 2011

Figura 2. Tabelas com dados fictícios adaptados de Souza, I. C. et AL (2008)

GRAU DE EVIDÊNCIA RESULTANTE DO LOCAL 1 Coleta no mês de setembro de 2010: $\mu_{ER} = 0,54004743$
GRAU DE EVIDÊNCIA RESULTANTE DO LOCAL 1 Coleta no mês de fevereiro de 2011: $\mu_{ER} = 0,60070215$

Figura 3. Tabelas com os resultados lógicos paraconsistentes após as aplicações dos algoritmos.

6. Conclusões

Apresentou-se neste trabalho um método de análise quantitativa fundamentado em lógica paraconsistente envolvendo técnicas consolidadas para análise de poluição marinha. A técnica apresentada teve como finalidade investigar possibilidades de agregar qualidade ao tratamento de dados no processo que utiliza a resposta celular do mexilhão *Perna perna* que é baseado em observação e tratamento estatístico dos resultados. A aplicação do método Estatístico Descritivo Paraconsistente neste tipo de análise mostrar uma nova forma de interpretação que pode servir de referência para os estudos que tratam da utilização da resposta celular do mexilhão *Perna perna*.

Verificou-se que aplicando os algoritmos da LPA2v foi possível criar um padrão de evidência que capacitará futuros estudos de diagnóstico ambiental utilizando o método estatístico/paraconsistente alimentado com valores obtidos por meio do Ensaio do Tempo de Retenção do Vermelho Neutro (TRVN). Este trabalho, sendo pioneiro na aplicação de lógicas não clássicas para análise de dados dessa natureza, abre novos caminhos para pesquisas futuras, utilizando métodos e análises técnicas fundamentadas em lógicas diferentes da clássica.

7. Referências

BORENFREUND E, Puerner JA. **Toxicity determinate in vitro by morphological alterations and neutral red absorption**, (1985). *Toxicology Letters* 24: 119-124.

DAMIN, O.C.B. e Da Silva Filho, J. I., **Utilização da Distribuição de Frequência Estatística Associada à Lógica Paraconsistente Anotada de 2 valores: o Modelo de dois Peritos em Vistorias de Engenharia** - Revista Seleção Documental do GLPA N.26 Ano 7 Julho/Agosto/Setembro, ISSN 1809-0648 pp(13-20) Ed. Paralogike - Santos-SP 2012. Brasil.

DA SILVA FILHO J. I. **Treatment of Uncertainties with Algorithms of the Paraconsistent Annotated Logic**, *Journal of Intelligent Learning Systems and Applications*, Vol. 4 No. 2, 2012, pp. 144-153. 10.4236/jilsa.2012.42014

DA SILVA FILHO, J. I. ; Lambert-Torres, G. ; FERARRA, L. F. P. ; MARIO, M. C. ; Santos, M. R.; Onuki, A. S. ; CAMARGO, J. M. ; ROCCO, A. . **Paraconsistent Algorithm Extractor of Contradiction Effects - Paraextrctr**. *Journal of Software Engineering and Applications*, v. 4, p. 579-584, 2011.

DA SILVA FILHO, J. I. et al - **Estatística Descritiva Paraconsistente Aplicada ao Estudo de Poluição de Resíduos Sólidos em Ambiente Costeiro Marinho** - Revista Seleção Documental do GLPA N.26, Ano 7, Setembro de 2012, ISSN 1809-0648 pp(03-12) Ed. Paralogike - Santos-SP, Brasil.

DA SILVA FILHO, J.I. et al. **An Expert System Structured in Paraconsistent Annotated Logic for Analysis and Monitoring of the Level of Sea Water Pollutants**, in: *Expert Systems for Human, Materials and Automation*, Petrică Vizureanu (Ed.), ISBN 978-953-307-334-7, InTech, October 2011, 392 p.

SOUZA I. C., Santana P.J., Almada B et al. **Avaliação da resposta celular do mexilhão *Perna perna* na Baía do Espírito Santo por meio do tempo de retenção do vermelho neutro**, 2008 (TRVN) ISSN 1806-7409.

KING, R. **Rapid assesment of marine pollution – Biological techniques**. Plymouth Environmental Research Center, University of Plymouth, UK, 37p.

LOWE DM, Fossato VU, Depledge MH. **Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussel *Mytilus galloprovinciales* from the Venice Lagoon: in vitro study**. 1995. *Marine Ecology Progress Series* 129: 189-196.

PEREIRA C.D.S., Abessa DMS, Zaroni LP, Gasparro MR, Bicego M C, Taniguchi S, Furley TH, Sousa ECPM **Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in mussels from São Sebastião, São Paulo, Brazil**. 2007. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26: 462-469.