

ISSN 1984-235X

Boletim do Instituto Adolfo Lutz

Bol Inst Adolfo Lutz. 2012: ano 22, n. 2, p.1-72



Boletim do INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Bol Inst Adolfo Lutz. 2012: ano 22, n. 2, p.1-61

Diretor-Geral do Instituto Adolfo Lutz

Dr. Alberto José da Silva Duarte

Coordenadora

Maria Anita Scorsafava

Membros do Corpo Editorial

Cristina Takami Kanamura

Divani Maria Capuano

Adriana Aparecida Buzzo Almodovar

Pedro Luiz Silva Pinto

Pedro Antonio Federsoni Junior

Núcleo de Acervo do IAL

Rocely A. Bueno Moita

ISSN (impresso) 1984-235X

ISSN (on line) 1984-2368

Carta ao Editor

Avenida Dr. Arnaldo, 355

Cerqueira César – CEP 01246-902

E-mail: bial@saude.sp.gov.br

Caixa postal 1783 – CEP 01059-970

São Paulo, SP – Brasil

Telefone: (0XX11) 3068-2869

Núcleo de Acervo

Assessoria Editorial:

TIKInET

www.tiki.net.br/tiki/

Editorial

Ao Instituto Adolfo Lutz (IAL), órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, foram concedidas 10 (dez) vagas, para o exercício de um ano no período de julho de 2010 a junho de 2011, do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Instituto Adolfo Lutz (PIBIC/IAL). O objetivo do PIBIC/IAL é a promoção do desenvolvimento do pensamento científico e a iniciação à pesquisa de estudantes de graduação do ensino superior, contribuindo para a formação de recursos humanos para a área da saúde. Este programa conta com a coordenação da Comissão de Ensino do Instituto Adolfo Lutz (CEIAL), Conselho Técnico Científico (CTC), apoio do Núcleo de Seleção e Desenvolvimento de Recursos Humanos (NSDRH), e a Diretoria Geral. As atribuições da Coordenação são: realização das etapas do processo de seleção e do cumprimento do Programa. As bolsas vinculadas a Projetos de Pesquisa foram previamente selecionadas de acordo com as linhas de pesquisa do Instituto Adolfo Lutz, de relevância em Saúde Pública nas seguintes áreas: Microbiologia médica, Biologia molecular, Ciências biológicas, Bioquímica, Morfologia, Imunologia aplicada, Microbiologia, Parasitologia e Virologia. A CEIAL, em junho de 2011, realizou o II Seminário do PIBIC-CNPq, com o objetivo de divulgar os trabalhos desenvolvidos no período, com apresentação oral dos bolsistas à comunidade do IAL. Os relatórios finais dos trabalhos desenvolvidos pelos bolsistas foram encaminhados ao CNPq para avaliação da bolsa PIBIC.

Comissão de Ensino do Instituto Adolfo Lutz (CEIAL)

Sumário

- 7 | Estudo de portador de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) e *Streptococcus pneumoniae* em crianças vacinadas com Hib no município de São Paulo, SP, Brasil. (epidemiologia molecular de *Streptococcus pneumoniae* isolados da nasofaringe de crianças saudáveis, no município de São Paulo)
- 9 | Resistência genotípica aos Inibidores de Integrase
- 11 | Detecção de genes de resistência microbiana produzidos por *Klebsiella pneumoniae* isoladas de infecção ou colonização de diferentes hospitais do estado de São Paulo: padronização de PCR para outros genes de resistência microbiana produzidos por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC isoladas de infecção e colonização hospitalar de vários hospitais do estado de São Paulo
- 13 | Caracterização de Linhagens Celulares I. Verificação de espécie de origem. Análise dos padrões de migração da enzima LDH e cariótipo
- 15 | Diversidade genética dos Echovirus 30 detectados em pacientes com meningite asséptica no estado de São Paulo
- 17 | Avaliação da técnica da determinação do iodo na matriz selecionada de leite comercial para posterior utilização em leite materno
- 19 | Resposta imune desencadeada por *Cryptococcus neoformans* em camundongos suscetíveis (A/Sn)
- 21 | Emprego da técnica imuno-histoquímica no diagnóstico anátomo-patológico do Sarcoma de Kaposi em pacientes portadores do HIV
- 23 | Avaliação do uso de anticorpos policlonais e monoclonais e polímeros no diagnóstico imuno-histoquímico de casos de dengue
- 25 | Perfil de células do infiltrado inflamatório no músculo cardíaco de *Calomys callosus* na fase crônica de infecção
- 27 | Avaliação de ensaio imunoenzimático de procedência nacional na pesquisa de anticorpos anti-HTLV-1/2
- 29 | Otimização e validação de método cromatográfico (clae-uv) para determinação de omeprazol em cápsulas
- 33 | A importância da conscientização do descarte de resíduos em institutos de pesquisa na área da saúde
- 36 | Levantamento de dizeres de rótulos e análise microbiológica de produtos vegetais realizado pelo Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes
- 39 | Experiência de dez anos do Curso Integrado de Virologia do Instituto Adolfo Lutz

- 41 Contribuições laboratoriais mediante a verificação da qualidade de penicilinas prescritas no tratamento da sífilis
- 44 Suspeita de adulteração em bicarbonato de sódio de uso alimentar: agravos à saúde
- 46 Consumo de sal: sódio *versus* iodo
- 48 Saúde do trabalhador: histórico da atuação do Instituto Adolfo Lutz quanto à exposição ocupacional a agentes químicos no estado de São Paulo
- 51 Rotulagem de aditivos alimentares
- 55 Anemia: tratamento clássico com o medicamento sulfato ferroso
- 57 Avaliação da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e água servidos nas escolas municipais de ensino fundamental e creches do município de Mauá, SP
- 59 Instituto Adolfo Lutz: produtor de materiais de referência de água para controle da qualidade e incentivo à cultura metrológica no país
- 61 Avaliação da exatidão de um método analítico usando material de referência certificado
- 63 Avaliação dos teores de gorduras totais, saturadas e *trans* em empanados de frango
- 66 Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Estado de São Paulo. Expansão da endemia na região de São José do Rio Preto-SP

Estudo de portador de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) e *Streptococcus pneumoniae* em crianças vacinadas com Hib no município de São Paulo, SP, Brasil.

Subprojeto: Epidemiologia molecular de *Streptococcus pneumoniae* isolados da nasofaringe de crianças saudáveis, no município de São Paulo

Camila Recchioni BAPTISTA*, Samanta Cristine Grassi ALMEIDA¹, Maria Cristina de Cunto BRANDILEONE¹

* Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)

¹ Núcleo de Meningites – Pneumonias e Infecções pneumocócicas – Centro de Bacteriologia – Instituto Adolfo Lutz

S*treptococcus pneumoniae* faz parte da microbiota da nasofaringe dos seres humanos. É agente das pneumonias e meningites bacterianas, ocorrendo em todas as faixas etárias, principalmente em crianças de até 2 anos de idade e em idosos. Na população infantil, na qual é maior o consumo de antibióticos, cepas resistentes aos principais antimicrobianos, têm emergido e se disseminado. Devido a sua alta incidência, somados a altos níveis de resistência antimicrobiana, houve a necessidade de prevenção das doenças pneumocócicas por vacinas. As vacinas conjugadas, além de reduzir as doenças pelos sorotipos vacinais, induzem efeito indireto, isto é, reduzem o estado de portador dos sorotipos vacinais na nasofaringe¹.

O objetivo deste estudo foi conhecer a diversidade genética das cepas de *Streptococcus pneumoniae* isoladas da nasofaringe de crianças do município de São Paulo. O estudo selecionou

107 cepas (sorotipos 6A, 6C e 19A) e nestas foram realizados antibiogramas para as drogas eritromicina e clindamicina². As cepas resistentes à eritromicina foram estudadas para a presença dos genes de resistência aos macrolídeos pela PCR^{3,4}. Posteriormente, as cepas foram estudadas pela metodologia “Pulsed-field Gel Electrophoresis” (PFGE)⁵.

Foram observadas taxas de resistência à eritromicina de 21%, com prevalência do mecanismo de resistência de efluxo mediado pelo gene *mefE*^{1,6}. O estudo por meio da metodologia PFGE revelou a presença de linhagens genéticas com características brasileiras⁷.

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

REFERÊNCIAS

1. Moraga-Lop F. A Efermedad neumocócica en la era vacunal y emergencia de serotipos. Tendencias temporales y reemplazo de serotipos?. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(1) 1-4.

-
2. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S20. Wayne, PA, USA, Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
 3. Sutcliffe J, Grebe T, Kamradt AT, Wondrack L. Detection of Erythromycin-Resistant Determinants by PCR. *Antimicrob Agents and Chemoth.* 1996;40(11):2562-6.
 4. Widdowson CA, Klugman KP. Emergence of the M Phenotype of Erythromycin-Resistant pneumococci in South Africa. *Emerg Infect Dis.* 1998;4(2):277-81.
 5. Mc Ellistrem CM, Stout JE, Harrison LH. Simplified Protocol for Pulsed – Field Gel Electrophoresis Analysis of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2000;38(1):351-3.
 6. Hidalgo M, Santos C, Duarte C, et al. Incremento de la resistência a eritromicina de *Streptococcus pneumoniae*. *Biomedica.* 2011;31:124-31.
 7. PMEN. Pneumococcal Molecular Epidemiology Network. [acesso 2012 maio 27.] Disponível em: [<http://www.sph.emory.edu/PMEN/>].

Resistência genotípica aos Inibidores de Integrase

André Minhoto LANÇA*, Luis Fernando de Macedo
BRÍGIDO, Jaqueline de Souza CAVALCANTI, João
Leandro de Paula FERREIRA

*Núcleo de Doenças Sanguíneas e Sexuais – Centro de Virologia
– Instituto Adolfo Lutz*

**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica
(PIBIC/CNPq)*

Raltegravir (Merck) é o único antirretroviral inibidor da enzima Integrase aprovado para uso em pacientes multifalhados como terapia de resgate^{1,2}. Ensaios *in-vitro* e *in-vivo* apresentaram três vias de resistência a este fármaco: N155H, Q148HRK e Y143RHC^{3,4}. Este estudo teve como objetivo avaliar a variabilidade genética da Integrase em pacientes não expostos aos inibidores desta enzima ou em uso de raltegravir, visando a identificar polimorfismos naturais relacionados à resistência, assim como à conservação do gene nos diferentes subtipos virais estudados. Para avaliar o perfil de resistência antirretroviral, foi padronizada uma metodologia de sequenciamento genômico da Integrase, após extração de RNA viral de indivíduos infectados, Transcrição Reversa, amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase e sequenciamento do produto amplificado. A sequência obtida foi submetida ao *site* HIV Stanford Resistance Database, que possui ferramentas capazes de avaliar o perfil de mutações das sequências obtidas, apresentando laudo de resistência. Além disso, as sequências foram analisadas utilizando o software Microsoft Excel para identificação e quantificação de polimorfismos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Epiinfo6.

Foram obtidas 136 sequências de 2004 a 2011, sendo 46 de pacientes expostos ao Raltegravir. O subtipo B foi o mais prevalente, seguido dos subtipos F e C. Formas únicas recombinantes entre os subtipos BF e BC foram observados. Os isolados dos subtipos F e C mostraram-se significativamente mais conservados do que as sequências do subtipo B ($p < 0,01$). Vinte e seis pacientes tratados apresentaram mutações de resistência ao raltegravir, sendo a via Q148HR a mais comum (15 sequências), seguida da via N155H (9 sequências) e Y143RHC (4 sequências), sendo que destas, duas foram simultâneas às vias Q148 e N155. Embora regiões polimórficas tenham sido identificadas, nenhuma mutação de resistência foi identificada em pacientes não expostos ao Raltegravir. Entretanto, mutações acessórias à resistência aos inibidores de integrase, capazes de aumentar a resistência ou restaurar o *fitness* viral em presença das mutações principais, apresentaram-se frequentes, como V151I, I72V e T124A.

A alta taxa de conservação da Integrase contribui para confirmar a eficácia destes antirretrovirais em pacientes com falência terapêutica à HAART. Entretanto, há elevada prevalência de polimorfismos em codons relacionados indiretamente à resistência, o

que poderia impactar na susceptibilidade aos inibidores de Integrase durante a terapia de resgate e consequentemente facilitar a emergência das mutações principais de resistência^{5,6}. O monitoramento destes polimorfismos pode se mostrar necessário conforme outros inibidores de integrase, como dolutegravir (Glaxo-Smith-Kline), sejam disponibilizados para o uso no tratamento da infecção pelo HIV-1.

REFERÊNCIAS

1. FDA. FDA approves new HIV drug: Raltegravir tablets used in combination with other antiretroviral agents. Administration USFaD, editor. FDA News; 2007.
2. Markovitz M. Targeting Integrase: Mechanisms of Action and Mechanisms of Resistance to Integrase Inhibitors. Clinical Care Options; 2008.
3. Charpentier C, Karmockine M, Laureillard D, Tisserand P, Belec L, Weiss L, et al. Drug resistance profiles for the HIV Integrase gene in patients failing Raltegravir salvage therapy. HIV Med. 2008;9:765-70.
4. Hu Z, Kuritzkes DR. Effect of Raltegravir Resistance Mutations in HIV-1 Integrase on Viral Fitness. J Acquir Immune Defic Syndr. 2010;55:148-55.
5. Hackett JJ, Swanson P, Harris B, Holzmayer V, Yamaguchi J, Bodelle P, et al. Conf Retr. Opportunistic Infect. Comprehensive evaluation of HIV-1 integrase gene diversity in group m, n, and o viruses. Abstract. 2005;Feb:22-25:366.

Detecção de genes de resistência microbiana produzidos por *Klebsiella pneumoniae* isoladas de infecção ou colonização de diferentes hospitais do estado de São Paulo: padronização de PCR para outros genes de resistência microbiana produzidos por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC isoladas de infecção e colonização hospitalar de vários hospitais do estado de São Paulo

Flávia Yngrid Mazza MACEDO*, Amanda Gameiro BIASIOLI*, Doroti de Oliveira GARCIA

Centro de Bacteriologia-Instituto Adolfo Lutz

*Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)

K*lebsiella pneumoniae* são bacilos Gram-negativos frequentemente envolvidos em infecções hospitalares. Os antibióticos beta-lactâmicos apresentam efeitos sobre a integridade da parede celular e destruição da bactéria. Em contrapartida, as bactérias desenvolveram diferentes mecanismos de resistência para neutralizar a ação dessas drogas, tais como a produção de beta-lactamases, enzimas que degradam o anel beta-lactâmico. Dentre essas enzimas, as principais são as beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs), carbapenemases, tais como KPC, metalo-beta-lactamases (IMP, SPM, NDM) e oxacilinas^{1,2,3,4,5}. Metilases 16S RNA ribossômico (16S RNAr), tal como RmtD, também têm se disseminado no Brasil, acarretando alto nível de resistência aos aminoglicosídeos, os quais, associados aos carbapenêmicos, são amplamente

utilizados na terapêutica clínica⁶. O objetivo geral foi padronizar PCR para a detecção de genes de resistência em amostras de *K.pneumoniae* produtoras de KPC provenientes de colonização e/ou infecção hospitalar. Os objetivos específicos foram detectar genes de resistência responsáveis pela produção de KPC através da reação de polimerase em cadeia e padronizar PCR para a detecção de metalo β -lactamases, β -lactamases de espectro estendido, oxacilinas e metilases 16S RNAr. Foram utilizadas cepas de *K.pneumoniae* enviadas de diversos hospitais do Estado de São Paulo suspeitas de serem produtoras de KPC, isoladas de amostras clínicas. Foram utilizados diversos métodos para a confirmação da identificação bioquímica, testes de sensibilidade (disco-difusão), PCR em termociclador gradiente para a padronização de protocolos de PCR para outros genes de resistência microbiana. No

período de setembro de 2011 a dezembro de 2011 e de 19 de abril a 24 de maio de 2012, 277 cepas de *K. pneumoniae*, isoladas de colonização, foram confirmadas como produtoras de ESBL e apresentaram resistência ou sensibilidade diminuída aos carbapenêmicos. Todas as cepas foram submetidas ao PCR para a detecção do gene de bla_{KPC} . Das 277 cepas de *K. pneumoniae* submetidas ao PCR, 213 (77%) foram confirmadas como produtoras de KPC. Na padronização do protocolo para PCR multiplex para a detecção de bla_{KPC} e bla_{NDM} , a melhor temperatura de anelamento foi a 54 °C. Na padronização de protocolo para PCR para a detecção de metilase 16s rRNA (RmtD), os melhores parâmetros definidos foram com a temperatura de anelamento de 52,4°C e concentração de MgCl₂ a 2 mM. A partir desses dados foi realizado um protocolo utilizando o Mix PCR (Easy Path) que tem, na sua composição, uma concentração de MgCl₂ a 2 mM. Na padronização de protocolo para PCR multiplex para a detecção de MBLs (bla_{SPM} e bla_{IMP}) os melhores parâmetros definidos foram com a temperatura de anelamento de 56,8°C com uso do Mix 2 Easy Path. O multiplex PCR funcionou muito bem para bla_{SPM} , mas não para bla_{IMP} , a reação será repetida com novos ajustes. Optamos pela padronização de um PCR multiplex que também pudesse detectar, além da bla_{KPC} , também a bla_{NDM} , porém não foram detectadas cepas produtoras de NDM nas cepas analisadas. Para detectar a presença da RmtD, uma metilase 16S RNAr, padronizamos uma reação de PCR, que será utilizada sempre que

houver a suspeita da produção dessa enzima, ou seja, alto nível de resistência aos aminoglicosídeos. Portanto, a continuidade da padronização de PCR para a detecção de outros genes de resistência é de fundamental importância no intuito de se criar novas estratégias para evitar a disseminação desses microrganismos em nosso meio.

REFERÊNCIAS

1. Gales AC, Menezes LC, Silbert S, Sader HS. Dissemination in distinct Brazilian regions of an Epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo-beta-lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003;52(4):699-702.
2. De Oliveira Garcia D, Doi Y, Szabo D, Adams-Haduch JM, Vaz TM, Leite D, Padoveze MC, et al. Multiclonal outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-2 and novel variant CTX-M-59 in a neonatal intensive care unit in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008; 52(5):1790-3.
3. Monteiro J, Santos AF, Asensi MD, Peirano G, Gales AC. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53(1):333-4.
4. Abboud CS, Bergamasco MD, Doi AM, Zandonadi EC, Barbosa V, Cortez D, et al. First report of investigation into an outbreak due to carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary Brazilian hospital, with extension to a patient in the community. *J Infect Prevent.* 2011;12(4):150-3.
5. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordman P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70:119-223.
6. Doi Y, Arakawa Y. 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis.* 2007;45(1):88-94.

Caracterização de Linhagens Celulares I. Verificação de espécie de origem. Análise dos padrões de migração da enzima LDH e cariótipo

Mayla LEANDRO*, Aurea Silveira CRUZ

Núcleo de Cultura de Células – Centro de Procedimentos Interdisciplinares – Instituto Adolfo Lutz

**Programa Institucional Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)*

As linhagens celulares têm apresentado ampla aplicação em diversas áreas da saúde, como virologia, bacteriologia, toxicologia, genética, entre outras, por isso é essencial que elas sejam certificadas, já que usar células com identificação errada, contaminada por outras, ou por micro-organismos, pode levar a conclusões equivocadas e invalidar todo o trabalho. A certificação envolve uma série de metodologias que fornecem dados indispensáveis sobre as características das células, como a presença de contaminantes microbiológicos, morfologia, citogenética, suscetibilidade a diferentes agentes virais, além da comprovação da espécie animal e tecido de origem. Com o objetivo de garantir a qualidade das culturas de células do NCC-IAL, este estudo vem sendo realizado, implantando metodologias reconhecidas para a identificação da espécie de origem de linhagens celulares, utilizando duas técnicas: eletroforese de isoenzimas e cariótipo.

A determinação do padrão de isoenzimas é baseada na existência de enzimas com especificidades idênticas ou similares ao substrato, mas diferentes estruturas moleculares, apresentando padrões de mobilidade que são específicos para cada espécie^{1,2}. Neste estudo, a enzima utilizada

foi a lactato desidrogenase (LDH) em eletroforese horizontal com gel de agarose 2%. As bandas foram reveladas com solução de coloração composta por lactado de sódio, MTT e PMS. Nesta técnica, foram utilizadas linhagens celulares de diferentes espécies animais, tais como: humanas (HeLa, RD, MRC-5, NCI-H292 e Caco-2), camundongo (NCTC clone 929), coelho (SIRC), bovina (MDBK), macaco (FRhK-4 e Vero), hamster (BHK-21/13S) e canina (MDCK).

O cariótipo permite conhecer o número de cromossomos, verificar a presença de cromossomos marcadores característicos e alterações citogenéticas durante o período de cultivo da linhagem celular. Neste ensaio, foram utilizadas as linhagens celulares de origem humana (HeLa e RD), camundongo (NCTC clone 929), coelho (SIRC) e macaco (Vero).

Para obtenção das metáfases, as linhagens na fase exponencial de crescimento foram cultivadas por 4 a 6 horas com solução de colchicina na concentração final de 0,08 µg/ mL. Após este período, as células em metáfase foram lisadas com solução hipotônica (KCl 0,075 M), os cromossomos fixados com solução de metanol/ ácido acético na proporção de 3:1. A suspensão celular obtida foi pingada em lâminas histológicas previamente

lavadas. As metáfases foram coradas com solução de Giemsa a 0,5%, capturadas por câmera acoplada ao microscópio óptico e o número de cromossomos registrados^{4,5}

Na Figura 1, pode-se observar os padrões de migração da enzima LDH obtidas na eletroforese. Comparando-se com a literatura, verifica-se que a maioria das linhagens celulares analisadas apresentaram a mesma posição e número de bandas. As outras apresentaram pequenas variações com relação ao número e/ou direção de migração. A linhagem Vero, de rim de macaco, apresentou 4 bandas, mas na literatura são citadas 5 bandas^{1,4,5}. Nas linhagens celulares de origem humana, espera-se a presença de 5 bandas e isto foi observado para a maioria das linhagens analisadas, com exceção das linhagens NCI-H292 e CaCo₂, que apresentaram, respectivamente, 3 e 4 bandas, todas migrando para o pólo positivo. A linhagem celular MDCK, de rim de cachorro, apresentou 4 bandas, diferentemente do encontrado na literatura, na qual verificam-se estudos descrevendo a presença de 5 ou 3 bandas^{1,4}.

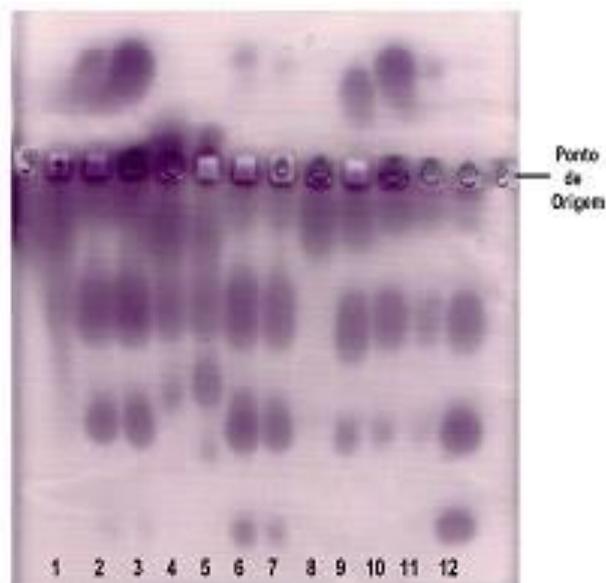


Figura 1. Eletroforese para aisoenzima LDF nas seguintes linhagens celulares: NCTC done 929 (1), HeLa (2), RD (3), SIRC (4), MDBK (5), FrhK (6), MRC-5 (7), BHK-21/13S (8), MDCK (9), Vero (10), NCI-H292 (11) e CaCo₂ (12)

Na Tabela 1, pode-se observar os resultados obtidos para as linhagens analisadas. Comparando-se estes resultados com os dados da literatura, observa-se que a linhagem NCTC clone 929 e Vero apresentaram aproximadamente os mesmos valores modais. Nas outras linhagens celulares, este valor não foi o mesmo, mas apresentou pouca variação¹.

Tabela 1. Número de metáfases obtidas nas diferentes linhagens celulares, número mínimo e máximo de cromossomos por metáfase e seus respectivos números modais

Linhagem celular	Metáfases analisadas	Número mín. e máx.	Número modal
NCTC clone 929	128	36-83	66-67
RD	45	54-90	85
Vero	51	51-166	58-63-64
HeLa	50	66-91	78
SIRC	50	36-66	63

Com base nestes resultados, verifica-se que estas técnicas, após uma melhor padronização, podem ser usadas na autenticação das linhagens celulares pertencentes ao acervo do Núcleo de Cultura de Células, NCC-IAL.

AGRADECIMENTOS

Ana Cristina Scarparo de Miranda, Cláudia Regina Gonçalves e Tamiko I. Ikeda pelo desenvolvimento das técnicas de eletroforese e cariótipo.

REFERÊNCIAS

1. ATCC quality control methods for cell lines. 2. ed. Rockville: American Type Culture Collection; 1992.
2. Stacey GN, Bolton BJ, Doyle A. DNA fingerprinting transforms the art of cell authentication. *Nature*. 1992;357:261-2.
3. Montes de Oca F, Macy ML, Shannon JE. Isoenzyme characterization of animal cell cultures. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1969;132:462-9.
4. Fernandes MJB, Simoni IC. Caracterização de linhagens celulares: I- Identificação de espécies por análise isoenzimática. *Arq Inst Biol*. 1995;62(1/2):59-63.

Diversidade genética dos Echovirus 30 detectados em pacientes com meningite asséptica no estado de São Paulo

Débora de Souza GREGÓRIO*, Rita de Cássia Compagnoli CARMONA

Núcleo de Doenças Entéricas-Centro de Virologia-Instituto Adolfo Lutz

*Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)

Meningite asséptica (MA) é uma infecção do sistema nervoso central (SNC) que pode ocorrer esporadicamente ou em forma de surtos. Aproximadamente 90% dos casos estão associados aos Enterovírus. Caracterizada pela inflamação das meninges, sem associação bacteriana no líquido cefalorraquidiano (LCR), é desta forma considerada uma doença benigna. Em termos de frequência, o número de casos de meningite asséptica que ocorre anualmente excede o número total de casos de meningite causada por todas as outras etiologias^{1,2}. Os enterovírus humanos (HEV) estão associados a uma variedade de doenças como a poliomielite, encefalite, miocardite, conjuntivites, entre outras². A transmissão do HEV é de pessoa a pessoa, através das vias respiratórias, por gotículas e secreções da nasofaringe, ou por contato direto com as secreções respiratórias do paciente. A transmissão fecal-oral possui relevante importância em infecções por enterovírus.

O Echovirus 30 (EV-30), que pertence à espécie HEV-B, está comumente associado a surtos de MA e presente entre os sorotipos detectados com maior frequência nos últimos anos³. O objetivo do

presente estudo foi conhecer a diversidade genética dos EVs-30 detectados em pacientes com quadro de meningite asséptica no Estado de São Paulo. Foram selecionadas 89 amostras de Enterovírus previamente isolados em culturas de células e identificadas por imunofluorescência indireta (IFI) no período de 2004 a 2011, provenientes de líquido e fezes encaminhadas para diagnóstico laboratorial ao Núcleo de Doenças Entéricas, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz. As amostras selecionadas foram submetidas às técnicas de caracterização molecular, como RT-PCR (transcrição reversa - reação em cadeia pela polimerase) e sequenciamento genômico. Foram utilizados *primers* consenso 292 e 222 para amplificação e sequenciamento parcial do gene VP1 do Enterovírus⁴. O conhecimento da diversidade genética dos sorotipos de EVs por sequenciamento genômico tem sido fundamental para a compreensão da epidemiologia da meningite asséptica na população. Dentre as amostras analisadas, obtivemos amplificação do gene VP1 em 81% (n= 72/89) dos casos positivos para EVs, utilizando RT-PCR. Os produtos amplificados do gene apresentaram 340 pares de bases (Figura 1). Dentre estas, 32% (n= 23/72) dos casos positivos em RT-PCR foram

identificados anteriormente por IFI como sorotipo Echovirus 30. A sequência parcial do gene VP1 do EV foi realizada em sete amostras (30,4%; n=7/23). Destas, cinco amostras sequenciadas foram editadas utilizando o programa *Sequencher 4.1.4* e, em seguida, comparadas com cepas padrões disponíveis na base de dados do GenBank, utilizando *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) no site *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Estas amostras, identificadas anteriormente por IFI, foram confirmadas como Echovirus 30 e quando comparadas com as cepas padrões humanas observou-se identidade de nucleotídeos >90% com amostras provenientes do Brasil, França, Itália, Finlândia, Taiwan, Malásia, China e Japão⁵⁻⁸. O conhecimento da diversidade genética do Echovirus 30 também tem auxiliado na compreensão da epidemiologia da meningite asséptica na população. Devido a isto, as amostras que não puderam ser sequenciadas e as que não apresentaram resultados que permitissem a comparação nos registros de cepas padrões do *GenBank* deverão ser processadas e refeitas. Para conclusão deste estudo, será realizada posteriormente análise filogenética das amostras utilizando programas específicos para classificação destes vírus em Linhagens.

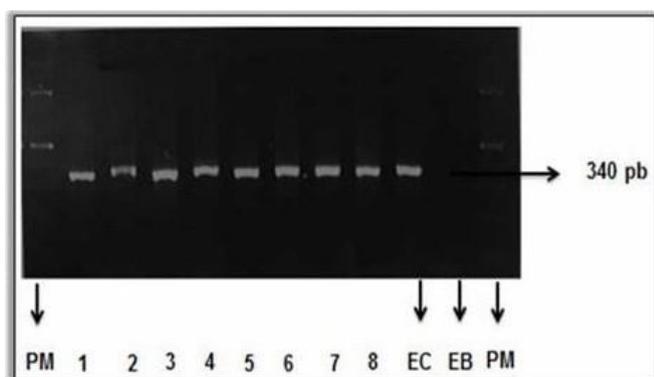


Figura 1. Eletroforese em gel de agarose. Identificação do gênero *Enterovírus* por RT-PCR da região VP1 utilizando *primers* 292-222. Colunas PM: padrão de peso molecular 100 pares de base – DNA *Ladder*; coluna EB: controle negativo (água Milli-Q); coluna EC: controle positivo (amostra positiva de *Enterovírus*); colunas de 1 a 8: amostras positivas com 340 pb

Agradecimentos

Agradecemos a Heloisa Rosa Vieira e ao Pesquisador Científico Bráulio Caetano Machado do Núcleo de Doenças Entéricas, Centro de Virologia do Instituto Adolfo Lutz, que colaboraram para a realização do estudo e aos demais colegas da equipe. Apoio CNPq e Fapesp processo nº 2012/50234-5.

REFERÊNCIAS

1. Machado BC, Ferreira RS, Carmona RCC, Timenetsky MCST. Aseptic meningitis by echovirus 30 in São Paulo state, Brazil. *Braz J Microbiol.* 2007;38(1):97-103.
2. David NI. Aseptic meningitis and viral myelitis. *Neurol Clin.* 2008;26(3):635.
3. Pinto JVL, Rebelo MC, Costa EV, Silva Edson E, Bóia MN. Description of Widespread Outbreak of Aseptic Meningitis due to Echovirus 30 in Rio de Janeiro State, Brazil. *Braz. J Infect Dis.* 2009;13(5):367-70.
4. Oberste MS, Nix WA, Maher K, Pallansch MA. Improved molecular identification of enteroviruses by RT-PCR and amplicon sequencing. *J Clin Virol.* 2003;26(3):375-7.
5. Santos GP, Costa EV, Tavares FN, Costa LJ, Silva EE. Genetic Diversity of Echovirus 30 Involved in Aseptic Meningitis Cases in Brazil (1998–2008). *J Med Virol.* 2011;83(12):2164-71.
6. Castro CM, Oliveira DS, Macedo O, Lima MJ, Santana MB, Wanzeller AL, et al. Echovirus 30 associated with cases of aseptic meningitis in state of Pará, Northern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104(3):444-50.
7. Bailly JL, Brosson D, Archimbaud C, Chambon M, Henquell C, Peigue-Lafeuille H. Genetic diversity of echovirus 30 during a meningitis outbreak, demonstrated by direct molecular typing from cerebrospinal fluid. *J Med Virol.* 2002;68(4):558-67.
8. Savolainen C, Hovi T, Mulders MN. Molecular epidemiology of echovirus 30 in Europe: succession of dominant sublineages within a single major genotype. *Arch Virol.* 2001;146(3):521-37.

Avaliação da técnica da determinação do iodo na matriz selecionada de leite comercial para posterior utilização em leite materno

Nicoli Santos PERES*, Regina Maria CATARINO

Núcleo de Hematologia e Bioquímica - Centro de Patologia - Instituto Adolfo Lutz

*Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)

A dieta inadequada de iodo está associada a um largo espectro de doenças sob o termo de Doenças por Deficiência de Iodo. Hipertireoidismo, hipotireoidismo, retardo do crescimento e deficiência mental são somente alguns dos exemplos da persistência da carência ou do excesso de iodo no organismo. A Organização Mundial da Saúde define como grau suficiente de iodo em seres humanos concentrações que variam de 10,0 a 30,0 µg/dL (Quadro 1)¹. Essas desordens afetam potencialmente em média 2 bilhões de pessoas no mundo, tornando-se um problema de saúde pública².

QUADRO 1. Valores de referência de concentração de iodo

Valores de referência (segundo OMS e ICCIDD)	
	Concentração de iodo µg/dL
Suficiência	10,0 a 30,0
Deficiência leve	5,0 a 9,9
Deficiência moderada	2,5 a 4,9
Deficiência grave	< 2,5

Na gravidez, a necessidade de iodo eleva-se devido à estimulação tireoidiana e à perda do iodo para o feto, sendo necessário cerca de 200 mg de iodo inorgânico por dia, o que corresponde a um acréscimo de 25% em relação às necessidades da população em geral. Por essa razão o seguimento da medição da ingesta de iodo possui uma importante relevância clínica³.

Para avaliar a técnica de determinação de iodo, foi necessária a seleção de uma matriz de leite comercial que tivesse características mais próximas do leite materno⁴.

A avaliação da técnica de determinação de iodo na matriz selecionada de leite comercial permitiu reproduzir a metodologia de determinação de iodo baseada na reação de Sandell-Kolthoff⁵, na qual ocorre uma reação bioquímica colorimétrica. O método caracteriza-se por uma etapa de digestão química para eliminação de substâncias oxidantes e redutoras que interferem na reação. Esse método baseia-se na detecção indireta do iodo pela monitoração da redução do sulfato cérico amoniacal, sendo que, quanto mais intensa a cor amarela, menor a concentração de iodo na reação. Para tal, foi construída uma curva analítica utilizando-se soluções de trabalho com leite comercial fortificadas com concentrações de 2 µg/dL, 5 µg/dL, 10 µg/dL e 15 µg/dL de iodeto de potássio. As leituras das concentrações foram realizadas no comprimento de onda de 450 nm utilizando-se um espectrofotômetro associado a um software (Figura 1).

Para estudos futuros, serão realizadas análises complementares acompanhadas de diferentes

técnicas para determinação de iodo no leite materno, com a finalidade de comparar a reprodução entre as metodologias.

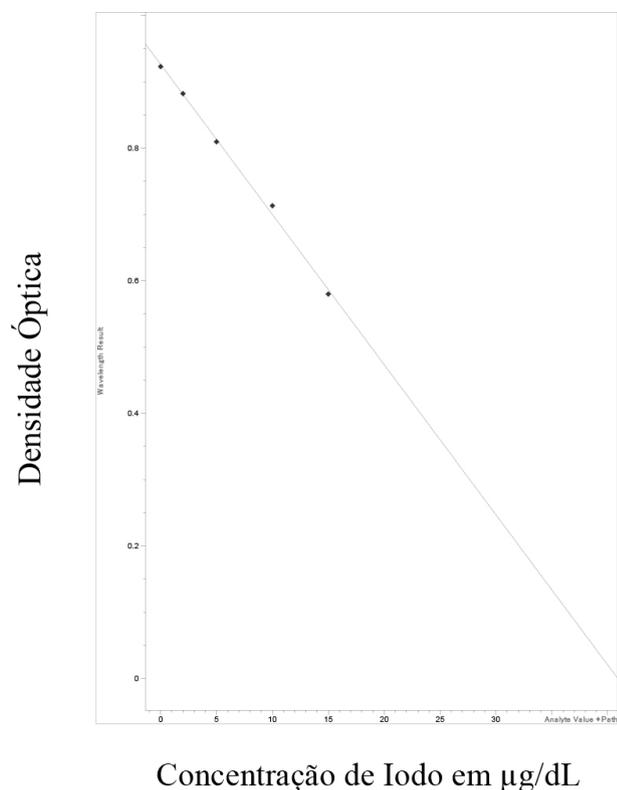


Figura 1. Curva analítica utilizando as concentrações de 0 µg/dL, 2 µg/dL, 5 µg/dL, 10 µg/dL e 15 µg/dL de iodeto de potássio. As leituras realizadas no comprimento de onda de 450 nm

REFERÊNCIAS

1. International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders-ICCIDD: Iodine requirements in pregnancy and infancy. IDD Newsletter. 2007;23(1):1-2.
2. Hetzel BS, Delange F, Dunn J, Lin J, Mannar V. Introduction: the nature and magnitude of the iodine deficiency disorders (IDD). In: Towards the Global Elimination of Brain Damage Due to Iodine Deficiency. Nova Déli: Oxford University Press; 2004. p. 10-20.
3. WHO/Unicef/ICCIDD. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination. A guide for program managers. 2. ed. WHO/Unicef/ICCIDD; 2001.
4. MARTINI F, CATARINO RM. Seleção da matriz de leite comercial utilizado para a padronização da determinação do iodo no leite materno. Bol Inst Adolfo Lutz. 2011;21(2):9-11.
5. SANDELL EB, KOLTHOFF IM. Micro determination of iodide by a catalytic method. Mikrochim Acta. 1937;1:9-25.

Resposta imune desencadeada por *Cryptococcus neoformans* em camundongos suscetíveis (A/Sn)

Kate Bastos dos Santos BRIGHENTE*, **Marilena dos Anjos MARTINS**, **Vera Lúcia Pereira CHIOCCOLA**

Núcleo de Parasitologia e Micologia-Centro de Parasitologia e Micologia - Instituto Adolfo Lutz.

**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)*

A criptococose é infecção fúngica causada por leveduras capsuladas do gênero *Cryptococcus*. As espécies do complexo *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans* e *C. gattii*) são patogênicas e responsáveis por micoses distintas do ponto de vista clínico e epidemiológico. *C. neoformans* é cosmopolita e causa, predominantemente, criptococose oportunista associada a condições de imunodepressão celular. *C. gattii* causa, predominantemente, criptococose primária em hospedeiro, aparentemente, imunocompetente e é endêmica em áreas tropicais e subtropicais¹. A infecção pode ocorrer por inalação de partículas infecciosas suspensas no ar e pode evoluir para meningite ou meningoencefalite aguda, subaguda ou crônica. Os sintomas são cefaleia, febre, alteração do nível de consciência, confusão mental, perda da memória, perda da visão, convulsão e coma. Em pacientes coinfectados por HIV e *C. neoformans*, as taxas de mortalidade e morbidade são elevadas². Uma das hipóteses é a ocorrência do desequilíbrio das citocinas no sistema nervoso central. Para tal, estabelecer um modelo animal com a associação imunossupressão/meningite criptocócica parece ser uma alternativa para estudar a resposta imune

humoral e celular envolvida nesta infecção. O presente estudo avaliou a resposta imune humoral e os níveis de fungemia no modelo animal.

Dois grupos constituídos de 8 a 10 camundongos isogênicos fêmeas da linhagem AS/n provenientes do Biotério Central do Instituto Adolfo Lutz foram infectados com 3×10^5 leveduras de *C. neoformans*, sendo o primeiro por via endovenosa e o segundo por via intraperitoneal. Posteriormente, os camundongos de ambos os grupos foram sacrificados entre o 6º e 21º dia de infecção e foram coletadas as amostras de sangue e tecido encefálico para realização de exame direto com tinta da china e PCR, pois o fungo tem predileção por se instalar nas meninges, tanto no homem como no modelo murino. Um terceiro grupo foi inoculado com 3×10^5 de leveduras, sendo coletadas amostras de sangue para avaliação de ensaios sorológicos (reação de imunofluorescência indireta e ELISA) e a avaliação da taxa de mortalidade. As metodologias foram realizadas conforme descrito previamente^{3,4}.

Os resultados demonstraram que os camundongos desenvolveram uma rápida infecção cerebral com presença de leveduras no tecido encefálico a partir do 6º dia de infecção e com um pico entre o 9º e 11º dias. Em torno do 21º dia,

40% dos animais se restabeleceram da fase crônica da infecção, sem presença de fungos no tecido encefálico. Os demais (60%) foram a óbito. A via ideal de inoculação é a endovenosa e o monitoramento da infecção foi realizado pela tinta da china e PCR. Os testes sorológicos mostraram que os animais não foram capazes de produzir anticorpos específicos, sugerindo a alta suscetibilidade desta linhagem de camundongos.

REFERÊNCIAS

1. Kon AS, Grumach AS, Colombo AL, Penalva ACO, Wanke B, Telles FQ, et al. Consenso em criptococose. Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41:524-44.
2. Ministério da Saúde do Brasil. Dados e pesquisas em DST e AIDS. Disponíveis em: <http://www.AIDS.gov.br/data/Pages/LUMISD3352823PTBRIE.htm> e <http://www.aids.gov.br>.
3. Zaragoza O, Casadevall A. Antibodies produced in response to *Cryptococcus neoformans* pulmonary infection in mice have characteristics of nonprotective antibodies. Infect Immun. 2004;72:4271-74.
4. Costa-Silva TA, Meira CS, Ferreira IM, Hiramoto RM, Pereira-Chioccola VL. Evaluation of immunization with tachyzoite excreted-secreted proteins in a novel susceptible mouse model (A/Sn) for *Toxoplasma gondii*. Exp Parasitol. 2008;120:227-34.
5. Financiamento: FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Brasil. Proc-2011/13939-8); CNPq bolsa PIBIC (KBSB).

Emprego da técnica imuno-histoquímica no diagnóstico anátomo-patológico do Sarcoma de Kaposi em pacientes portadores do HIV

Luciana Tendolini BRITO*, **Cristina Takami KANAMURA**,
Gislene Mitsue NAMİYAMA, **Roosecelis Araujo BRASIL**
Núcleo de Anatomia Patológica – Centro de Patologia – Instituto Adolfo Lutz
**Programa de Aprimoramento Profissional (PAP/SES/FUNDAP)*

O Sarcoma de Kaposi (SK) é um tumor maligno do endotélio linfático, descrito por Moritz Kaposi em 1872. Considerado uma neoplasia rara, de progressão lenta e que acometia, principalmente, homens idosos do Mediterrâneo e do Leste Europeu, anos depois se tornou conhecido por desenvolver-se também em indivíduos imunossuprimidos e imunodeprimidos, como pacientes transplantados e infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). O SK apresenta, na maioria dos casos, lesões cutâneas, mas também pode afetar órgãos internos, especialmente nódulos linfáticos, pulmões e sistema digestivo¹.

Estudos mais recentes demonstraram que o desenvolvimento do SK, em portadores do HIV, está associado à presença do vírus Herpes Humano 8 (HHV-8). O antígeno nuclear associado à latência (LANA), presente em todas as células infectadas pelo HHV-8, desempenha papel importante na manutenção e distribuição do genoma viral².

O SK é diagnosticável por exame anátomo-patológico e pelo método imuno-histoquímico (IHQ), que detecta o HHV-8 através da pesquisa de LANA³.

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial da IHQ como ferramenta diagnóstica do SK por meio

da detecção de LANA em amostras preservadas em formol e embebidas em parafina. Foram estudadas amostras de 106 casos (uma biópsia de cada caso) com suspeita inicial de SK recebidos no Núcleo de Anatomia Patológica, Centro de Patologia, do Instituto Adolfo Lutz Central, no período de 2007 a 2011, assim distribuídas: 45 biópsias de pele, 35 gástricas, 16 intestinais, duas de nódulos linfáticos, duas pulmonares, duas de palato duro, duas de mucosa oral, uma de língua e uma de palato mole. Inicialmente, foi realizado estudo histopatológico pela coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) de todas as amostras para confirmação da presença de parâmetros morfológicos associados ao SK: lesão vascularizada, com espaços neovasculares (fendas) e feixes de células predominantemente fusiformes (de fenótipo endotelial), infiltrado por células inflamatórias mononucleares e plasmócitos^{1,4}.

Para o ensaio IHQ⁵, cortes histológicos de 3 mm foram submetidos a recuperação antigênica em solução de ácido cítrico 10 mM/pH6,0 para marcação de células endoteliais (CD34), e solução-tampão TRIS-EDTA 1 mM/pH9,0 para pesquisa de LANA. Para detecção de marcador endotelial foi utilizado anticorpo monoclonal de

camundongo anti-CD34 humano, clone QBEnd/10 (Dako Cytomation, USA), e do antígeno LANA foi empregado anticorpo monoclonal de rato anti-HHV-8, clone LN53 (Diagnostic BioSystems, USA). As reações foram amplificadas com polímeros conjugados enzima peroxidase (LabVision / Thermo Fisher, USA) e reveladas com diaminobenzidina (Sigma, USA).

Segundo os critérios histopatológicos estabelecidos (lesão vascularizada, presença de células fusiformes, infiltração de células inflamatórias) (Figura 1A e 1B) e a demonstração da presença de antígeno LANA (Figura 1C), do total de 106 casos com suspeita inicial de SK, 50 (47%) (Tabela 1) atenderam aos critérios morfológicos e imuno-histoquímicos estabelecidos (Figuras 1C e 1D) e foram conclusivos para SK.

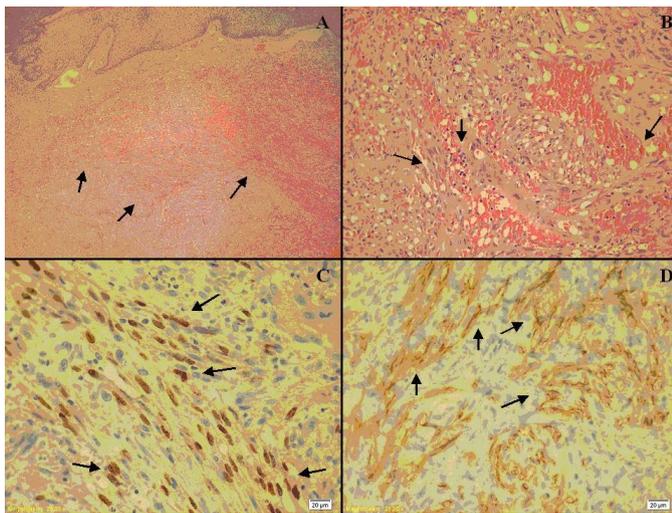


Figura 1. A / B: lesão vascularizada, com espaços neovasculares (fendas) e feixes de células predominantemente fusiformes (de fenótipo endotelial), infiltrado por células inflamatórias mononucleares e plasmócitos (H.E.); C: Imunomarcagem nuclear para HHV-8 (LANA) (IHQ); D: Imunomarcagem para CD34 em membrana de células endoteliais (IHQ)

Segundo a bibliografia consultada, estudos comparativos entre técnicas moleculares (como a “Real time-polymerase chain reaction” (RT-PCR) e IHQ demonstraram que a taxa de sensibilidade para IHQ é de 99% e a especificidade para a técnica atinge 100% no diagnóstico anátomo-patológico de SK associado ao HHV-8³.

Tabela 1. Distribuição dos casos de SK confirmados dentre os órgãos biopsiados

Órgão biopsiado	No casos com suspeita de SK	No casos SK confirmados
Pele	45	24
Estômago	35	12
Intestino	16	8
Linfonodo	2	0
Pulmão	2	1
Pálato duro	2	1
Mucosa oral	2	2
Língua	1	1
Pálato mole	1	1
Nº. casos estudados	106	50

Concluiu-se, neste estudo, que a IHQ pode ser considerada como ferramenta extremamente útil e de custo relativamente baixo para o diagnóstico precoce do SK, dado este corroborado pela literatura mundial. Além disso, acrescenta-se o fato de esta técnica não ser influenciada pelo problema de contaminação de amostras, a exemplo do que ocorre com a técnica de RT-PCR, e também de não exigir espécimes frescos ou congelados (desde que mantidos em formol ou já emblocados em parafina).

REFERÊNCIAS

- Schoen FJ. Os vasos sanguíneos: Tumores de grau intermediário (limitrofes, malignos de baixo grau) – Sarcoma de Kaposi. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N (orgs.). *Robins e Cotran Patologia – Bases Patológicas das Doenças*. 7. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2005. p. 575-7.
- Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, *et al* . Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi’s sarcoma. *Science*. 1994;266:1865-69.
- Robin, YM, Guillou L, Michels JJ, Coindre JM. Human Herpesvirus 8 immunostaining – A sensitive and specific method for diagnosing Kaposi Sarcoma in paraffin-embedded sections. *Am J Clin Pathol*. 2004;121:330-4.
- Guedes ACM. Pele e anexos. In: Brasileiro Filho G (Ed.). *Bogliolo Patologia*. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2010. p. 1311.
- Alves VAF. Garantia de qualidade em imuno-histoquímica. In: Alves VAF, Bacchi CE, Vassalo J. *Manual de imuno-histoquímica*, São Paulo, SP: Sociedade Brasileira de Patologia; 1999. p. 1-9.

Avaliação do uso de anticorpos policlonais e monoclonais e polímeros no diagnóstico imuno-histoquímico de casos de dengue

Joyce Cândido FERREIRA*, Cristina Takami KANAMURA, Gislene Mitsue NAMİYAMA, Getúlio Thiago dos Santos RAMOS*, Roosecelis Araujo BRASIL

Núcleo de Anatomia Patológica – Centro de Patologia – Instituto Adolfo Lutz

*Programa de Aprimoramento Profissional (PAP/SES/FUNDAP)

ADengue é uma doença infecciosa de transmissão vetorial de grande impacto em termos de morbidade e mortalidade¹. Devido à expansão dos diferentes sorotipos do vírus na população mundial nos últimos anos, a ocorrência de óbitos tem aumentado significativamente². Por isso, o diagnóstico de Dengue nos casos fatais encontra importante fundamentação principalmente em resposta à vigilância epidemiológica, atuando na vigilância laboratorial desses casos. A confirmação diagnóstica de Dengue pode ser realizada através da detecção de anticorpos por ensaios sorológicos ou por detecção de moléculas virais específicas com uso de técnicas moleculares como Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Isolamento Viral, pesquisa de NS1 e imuno-histoquímica (IHQ)³. A IHQ é uma técnica molecular baseada na identificação de antígenos presentes em amostras de tecidos fixadas e incluídas em parafina. Sumariamente, consiste no uso de anticorpos específicos para o antígeno, seguido de um sistema que amplifica a sensibilidade da ligação antígeno-anticorpo⁴. A IHQ tem sido amplamente utilizada no diagnóstico de casos fatais de origem

infecciosa, pois, muitas vezes, amostras destinadas a outras metodologias podem estar indisponíveis. A padronização da IHQ e o desenvolvimento de reagentes que elevem sua sensibilidade motivam diversos estudos visando a minimizar o número de óbitos de etiologia infecciosa desconhecida⁵.

Este trabalho teve como objetivo, avaliar o uso de anticorpos policlonais e monoclonais para o diagnóstico imuno-histoquímico aliado ao uso de sistema de amplificação de última geração, os polímeros.

Foram selecionados 45 casos com diagnóstico de Dengue, confirmados por pelo menos duas metodologias, que foram encaminhados ao núcleo de Anatomia Patológica do Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz. Todas as amostras foram submetidas a revisão histopatológica e ao ensaio imuno-histoquímico com uso de anticorpo policlonal aliado ao sistema de amplificação com polímeros. Posteriormente, foi realizada a padronização do anticorpo monoclonal e foram utilizadas apenas amostras em que foram anteriormente identificado o sorotipo viral pela técnica de PCR, totalizando 9 amostras.

O anticorpo policlonal demonstrou boa sensibilidade e especificidade de antígenos de Dengue associados a polímeros, identificando 71,1% dos casos. O uso de anticorpos monoclonais específicos para cada um dos sorotipos de Dengue (Dengue-1, Dengue-2 e Dengue-3) possibilitou a identificação do sorotipo viral em 33,3% das amostras.

Concluiu-se que a IHQ é importante ferramenta diagnóstica para elucidação de casos de Dengue, podendo ser usada sobretudo em casos de óbito que contenham apenas amostras de tecido incluídas em parafina. Seu uso encontra maior aplicabilidade com anticorpos policlonais, não havendo ainda anticorpos monoclonais que apresentem alta sensibilidade para determinação dos diferentes sorotipos em tecidos. Ressalta-se ainda que o uso do sistema de amplificação com polímeros elevou a qualidade da reação diminuindo a coloração inespecífica, superando, inclusive,

a perda da antigenicidade tecidual causada pelo possível mau processamento das amostras na fase pré-analítica.

REFERÊNCIAS

1. Gusmán MG, Kourí G. Dengue: an update. *Lancet Infectious Diseases*. 2002;2:33-42.
2. Chaturvedi UC, Nagra R. Dengue and dengue haemorrhagic fever: Indian perspective. *Journal of Biosciences*. 2008;33(4):429-41.
3. Gubler DG. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Microbiology Reviews*. 1998;11(3):480-96.
4. Taylor CR, Shi SR, Barr NJ. Techniques of Immunohistochemistry: Principles, Pitfalls, and Standardization. In: Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. 3. ed. Filadélfia: Saunders Elsevier, 2010. p. 1-41.
5. Ezyaguire EJ, Walker DH, Zaki SR. Immunohistology of Infectious Diseases. In: Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. 3. ed. Filadélfia: Saunders Elsevier. 2010. p. 58-74.

Perfil de células do infiltrado inflamatório no músculo cardíaco de *Calomys callosus* na fase crônica de infecção

Cybelle Almeida Freitas DA SILVA*, Cibele Rodella DE ALMEIDA*, Vanessa Galdeno FREITAS, Deborah Yamazaki HUKUDA, Noemi Nosomi TANIWAKI
Núcleo de Microscopia Eletrônica - Centro de Procedimento Interdisciplinar - Instituto Adolfo Lutz
*Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)

Trypanosoma cruzi é o agente etiológico da doença de Chagas, uma importante parasitose que afeta milhões de pessoas na América Latina. Estudos sugerem o envolvimento do sistema imune no desenvolvimento da doença de Chagas durante a infecção crônica. Um estudo no local da resposta imune em lesões de corações chagásicos pode levar a um entendimento da patogênese da doença de Chagas e da resistência do hospedeiro à infecção.

Neste estudo, um modelo experimental da doença de Chagas crônica foi desenvolvido a fim de examinar a distribuição de células do infiltrado inflamatório no miocárdio de *Calomys callosus* infectados com as cepas G (*T. cruzi* I), Y (*T. cruzi* II) e CL (*T. cruzi* VI) do *Trypanosoma cruzi*, após 6 e 12 meses de infecção. Um estudo imunohistoquímico foi realizado utilizando anticorpos contra as células inflamatórias: macrófagos, células T CD8+, células T CD4+, células B CD20, para identificar a resposta imunológica no sítio da infecção em animais infectados com cepas de parasitas de diferentes linhagens filogenéticas. Análise semiquantitativa de 15 campos microscópicos no aumento de

400X ao longo do ventrículo foram realizadas. As lâminas foram observadas no microscópio Zeiss Axio Scope A1 com câmera digital AxioCam MRC.

A análise histológica mostrou um número reduzido de células inflamatórias em animais infectados com as cepas Y, CL e G após 6 e 12 meses de infecção, em relação à fase aguda da doença. Foram observados focos de fibrose em animais infectados com as cepas Y e G em animais infectados após 12 meses (Figura 1).

A análise semiquantitativa de células inflamatórias mostrou que os macrófagos foram as células predominantes na fase aguda entre as três cepas. Entretanto, o número de macrófagos diminuiu consideravelmente na fase crônica. O número de células T CD8+ em animais infectados com a cepa Y e G aumentaram em relação a outras células inflamatórias. O número de células T CD4+ e B CD20 não variou significativamente entre a fase aguda e a fase crônica (Figura 2).

As presenças de células inflamatórias e focos de fibrose no miocárdio de animais infectados com as cepas Y e G mostram um *background* morfológico que sugere um desenvolvimento da doença de Chagas crônico.

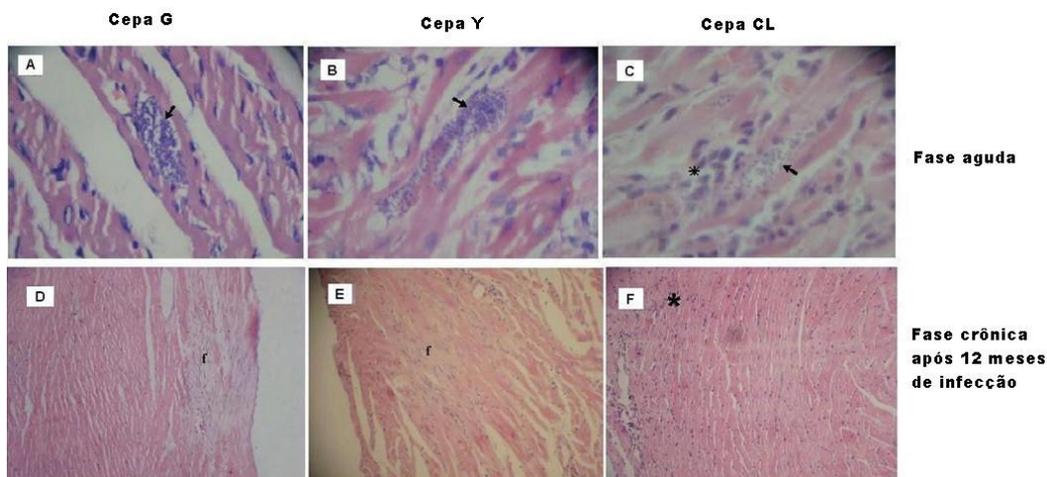
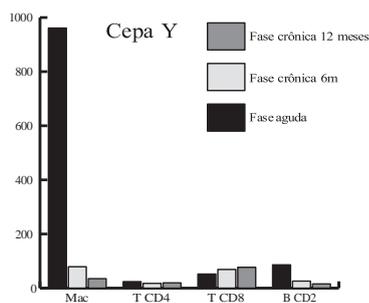
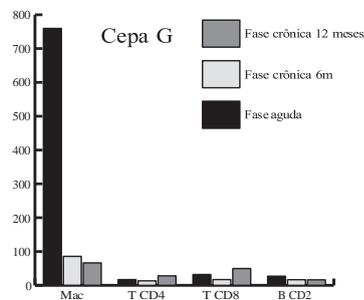


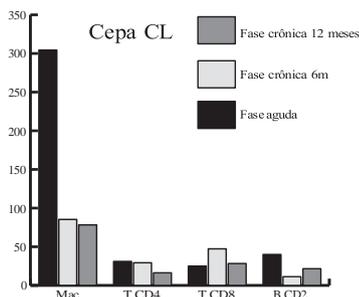
Figura 1. Cortes de coração de *Calomys callosus* infectados com *Trypanosoma cruzi* das cepas G, Y e CL na fase aguda (A, B, C) e após 12 meses de infecção (D, E, F). Infiltrado inflamatório(*), ninhos de parasita (setas), focos de fibrose (f). Hematoxilina&Eosina



Cepa Y			
Cels	Fase aguda	Fase crônica 6 meses	Fase crônica 12 meses
MAC	960,9	79	35
T CD4	24	17,6	19,5
T CD8	52	69	77
B CD2	86	26	15,6



Cepa G			
Cels	Fase aguda	Fase crônica 6 meses	Fase crônica 12 meses
MAC	759,4	85,6	66,3
T CD4	17	13,3	28
T CD8	32	17	49,6
B CD2	27	16,6	16,3



Cepa CL			
Cels	Fase aguda	Fase crônica 6 meses	Fase crônica 12 meses
MAC	304,4	85,3	78,3
T CD4	31	29,3	16,3
T CD8	25	47,3	28,3
B CD2	40	11,3	21,6

Figura 2. Análise semiquantitativa de células do infiltrado inflamatório: macrófagos, células T CD4+, células T CD8+ e células B CD20 no ventrículo de *Calomys callosus* infectados pelo *Trypanosoma cruzi* das cepas Y, CL e G na fase aguda (azul), após seis meses (vermelho) e doze meses (verde) de infecção

REFERÊNCIAS

- Higuchi ML, Benvenuti LA, Reis MM, Metzger M. Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. *Cardiovascular Research*. 2003;60:96-107.
- Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, et al. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. 2009; 104:1051-4.

Avaliação de ensaio imunoenzimático de procedência nacional na pesquisa de anticorpos anti-HTLV-1/2

Talita Bueno VILCHES*, Suely Sanae KASHINO, Adele CATERINO-DE-ARAÚJO

Centro de Imunologia - Instituto Adolfo Lutz

**Bolsista do Fundo Especial de Despesas do Instituto Adolfo Lutz (FEDIAL)*

O Brasil é o país com o maior número de pessoas infectadas pelos vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) com mais de 2,5 milhões de infectados e, em 1993, a sorologia para estes vírus tornou-se obrigatória em Bancos de Sangue no país¹. A infecção por HTLV-1 está relacionada a doenças graves (leucemia/linfoma de células T do adulto - ATL e mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical - HAM/TSP), além de outras doenças dermatológicas, reumáticas e oftalmológicas². O HTLV-2, embora menos associado a doenças, tem sido apontado como responsável por quadros neurológicos semelhantes aos do HTLV-1 e por “proteger” o indivíduo infectado pelo HIV da evolução para a Aids². Desde novembro de 1998, o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo realiza a sorologia para HTLV-1/2 em população de risco e tem observado problemas no diagnóstico, principalmente de infecção por HTLV-2². Foi observado que, para esta população, o emprego de apenas um ensaio imunoenzimático (EIA) para pesquisa de anticorpos específicos foi insuficiente para detectar todos os casos verdadeiramente positivos para a infecção por HTLV-1/2. Assim, desde então, foi sugerido e passou-se a utilizar dois EIA de princípios e composições antigênicas diferentes na rotina

diagnóstica. Vários algoritmos de testes de triagem e de testes confirmatórios foram testados, mas nenhum deles se mostrou 100% eficiente²⁻⁴. Atualmente, estão disponíveis no mercado nacional apenas kits de 3ª geração que, embora possibilitem a detecção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA (por conterem proteínas recombinantes e/ou peptídeos sintéticos, sozinhos ou em combinação na fase sólida e conjugado), mostraram-se menos específicos em relação aos kits de gerações anteriores quando testados com casuística do IAL⁵⁻⁹. Tomando como base a experiência pregressa e buscando melhor otimizar custo/benefício dos testes de triagem para a clientela atendida pelo IAL, o presente estudo objetivou comparar os resultados obtidos com o kit Murex HTLV I+II (Diasorin, Dartford, UK, utilizado como referência) com os resultados obtidos com o kit Gold ELISA HTLV-I/II (REM Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, SP). Foram testadas 105 amostras de sangue da rotina diagnóstica do IAL coletadas entre os anos de 2009 e 2012, cujos resultados dos testes confirmatórios de *Western Blot* (HTLV Blot 2.4, MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd, Singapore) e PCR¹⁰ estavam disponíveis. Das amostras testadas, 26 (24,76%) resultaram reagentes no Gold ELISA HTLV-I/II, 19 foram confirmadas como HTLV-1 ou HTLV-2 positivas e as outras 7

resultaram indeterminadas no WB e negativas na PCR. Pelo kit Murex HTLV I+II, 33 (31,43%) amostras de plasma resultaram reagentes, 19 confirmaram a infecção (as mesmas amostras do Gold ELISA), 10 apresentaram padrão indeterminado e 4 resultaram negativas no WB (todas PCR negativas). Nas amostras discordantes entre os dois kits (total de 7 amostras), 6 resultaram reagentes no Murex e 1 no Gold ELISA. Quatro apresentaram resultado indeterminado no WB e todas foram negativas na PCR. Tomando como base os resultados dos testes confirmatórios de WB e PCR, o kit Gold ELISA se mostrou 100% sensível e específico, enquanto o kit Murex mostrou sensibilidade de 100% e especificidade de 80%. Portanto, o novo kit pode ser utilizado com segurança na rotina diagnóstica de HTLV-1/2 no IAL.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria 1.376, de nov. 1993. Diário Oficial da União, Brasília, 2 de dez. 1993. Aprova alterações na Portaria n. 721/GM, de 9 de ago. 1989, que aprova normas técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e da outras providências.
2. Caterino-de-Araujo A. Diagnóstico de infecção por vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e 2 (HTLV-2) em população de risco: passado, presente e futuro. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009;68(2):182-6.
3. Jacob F. Levantamento do perfil sorológico de infecção pelos vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) em casuística encaminhada ao Instituto Adolfo Lutz de São Paulo para análise. [dissertação]. São Paulo, SP: Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde; 2007.
4. Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araújo A. Performances of HTLV serological tests in diagnosing HTLV infection in high-risk population of São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2007;49(6):361-4.
5. Jacob F, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araújo A. Algoritmo de testes sorológicos de triagem para infecção por HTLV-1/2 usado no Instituto Adolfo Lutz. *Bepa – Bol Epidemiol Pauli*. 2008;5(23):12-8.
6. Costa EAS, Jacob F, Feliciano RS, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araújo A. Falha na implantação de um novo algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 em população de risco. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009;68(2):314-7.
7. Costa EAS, Caterino-de-Araújo A, Campos KR. Análise do custo-benefício de dois algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTVL-2. *Bepa*. 2011;8(94):5-16.
8. Jacob F, Magri MC, Costa EAS, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araújo A. Comparison of signal-to-cutoff values in first, second, and third generation enzyme immunoassays for the diagnosis of HTLV-1/2 infection in “at-risk” individuals from São Paulo, Brazil. *J Virol Methods*. 2009;159(2):288-90.
9. Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araújo A. Serological patterns for HTLV-I/II and its temporal trend in high-risk populations attended at Public Health Units of São Paulo, Brazil. *J Clin Virol*. 2008a;42(2):149-55.
10. Costa EAS, Magri MC, Caterino-de-Araujo A. The best algorithm to confirm the diagnosis of HTLV-1 and HTLV-2 in at-risk individuals from São Paulo, Brazil. *J Virol Methods*. 2011;173:280-6.

Otimização e validação de método cromatográfico (clae-uv) para determinação de omeprazol em cápsulas

Blanca Elena Ortega MARKMAN, Paulo Sergio David de MORAES, Viviane Jesus Marques da CRUZ, Elizabeth Meihuey WU

Núcleo de Ensaios Físico-Químico em Medicamentos – Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

Omeprazol é um inibidor da enzima H⁺,K⁺Adenosina Tri-Fosfatase (H⁺,K⁺ATPase ou bomba de prótons), com capacidade de suprimir valores entre 80% a 95% da produção de ácido, tanto basal, quanto estimulada. Como os demais inibidores, trata-se de um pró-fármaco utilizado como primeira escolha para o tratamento de diversos distúrbios gastro-esofágicos decorrentes do excesso de secreção ácida, entre eles, úlcera péptica gastroduodenal, refluxo gastro-esofágico, síndrome de Zollinger-Ellison, e em co-terapia com antibióticos em patologias relacionadas com a bactéria *Helicobacter pylori*¹.

Apesar da meia-vida plasmática do Omeprazol ser em torno 1 a 2 horas, seu efeito pode se prolongar de forma acentuada nas primeiras 24 horas e permanecer por até 3 ou 4 dias. Este efeito é promovido em decorrência da inibição irreversível da enzima H⁺,K⁺ATPase, tornando-se necessária a síntese e inserção de novas bombas de prótons pelas células parietais em sua membrana para que a produção de ácido retorne ao estado anterior¹.

A molécula do omeprazol apresenta centros quirais consistindo de uma mistura racêmica de enantiômeros R e S (S-Omeprazol ou esomeprazol e R-Omeprazol). Farmacocineticamente, o S-Omeprazol possui meia-vida maior, o que pode representar ação mais duradoura no sítio de ação¹. Atualmente, são

comercializados na forma isolada como esomeprazol ou como mistura racêmica (omeprazol).

Dentre as apresentações farmacêuticas disponíveis, encontramos as formas de administração injetáveis e orais. Pelo fato de o omeprazol ser instável no pH ácido do estômago, faz-se necessário o uso de modernas técnicas de revestimento, entre elas, comprimidos com revestimento entérico e/ou sistemas multiparticulados revestidos (pellets) contidos em cápsulas duras. Além de garantir a estabilidade, as formas multiparticuladas permitem uma liberação controlada, mantendo a concentração plasmática do fármaco estável por um período maior, promovendo uma melhoria na biodisponibilidade².

Os compêndios oficiais não contemplam métodos para verificação da qualidade do omeprazol em apresentações farmacêuticas, sendo necessário recorrer às metodologias de fabricantes e publicações científicas. A literatura reporta várias técnicas analíticas para a determinação de omeprazol: eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (CLAE-UV)³, entre outras. O objetivo deste estudo é otimizar e validar um método analítico por CLAE-UV para determinação de omeprazol na forma de pellets contidos em cápsulas duras, suprimindo a ausência na Farmacopeia Brasileira 5ª edição⁴ para apresentações farmacêuticas.

Na otimização e validação do método para determinação de omeprazol, foram utilizados: substância química de referência de omeprazol; fosfato de sódio; acetonitrila (grau HPLC); água ultrapurificada; filtros de celulose regenerada de 0,45 µm para filtrar a fase móvel; e amostras de medicamentos genéricos e similar do fármaco em questão.

Os equipamentos utilizados foram: balança analítica Mettler Toledo modelo AL 204; vidrarias calibradas e certificadas; cromatógrafo líquido de alta eficiência marca Shimadzu série LC-10A/VP, certificado pela Sinc do Brasil Instrumentação Científica Ltda., que compreende uma bomba LC-10AD-VP, um detector ultravioleta UV-Vis SPD-10 AV-VP, um forno CTO-10 AC-VP e um autoinjeter modelo SIL 20HT Prominense – Auto Sampler – Shimadzu. Os cromatogramas foram processados pelo sistema controle SCL-10 A-VP.

O método cromatográfico descrito por Linden et al.³, para determinação de concentração plasmática de omeprazol, foi otimizado após vários testes com alteração da composição da fase móvel, do pH do diluente, da temperatura, do fluxo e da coluna. O sistema cromatográfico adotado e otimizado foi constituído de: coluna Hypersil Gold com partículas 5 µm, de 150 × 4,6 mm (L1-C18), da Thermo Scientific; detector UV em comprimento de onda 302 nm; temperatura de 40 °C; fluxo de 1,2 mL/min; volume de injeção 20 µL, fase móvel composta de tampão fosfato de sódio (pH 7,6) e acetonitrila (65:35 v/v) e diluente tampão fosfato de sódio (pH 11).

Antes de realizar os estudos de validação do método, foi avaliado se o sistema cromatográfico adotado seria capaz de fornecer dados de qualidade aceitável, por meio da verificação da conformidade do sistema (*system suitability*)⁵. Os parâmetros cromatográficos selecionados para avaliar a conformidade do método foram: tempo de retenção do padrão de omeprazol, fator de capacidade, fator de alargamento dos picos ou assimetria e número de pratos teóricos.

Os valores obtidos foram: tempo de retenção foi de 2,81 minutos, número de pratos teóricos 4.187, assimetria 1,05, e fator capacidade 0,14. Os valores determinados dos parâmetros cromatográficos conferem ao método otimizado conformidade do sistema. A Figura 1 do cromatograma de omeprazol desenvolvido no método otimizado apresenta simetria no pico, o tempo de retenção e a boa separação de outros picos.

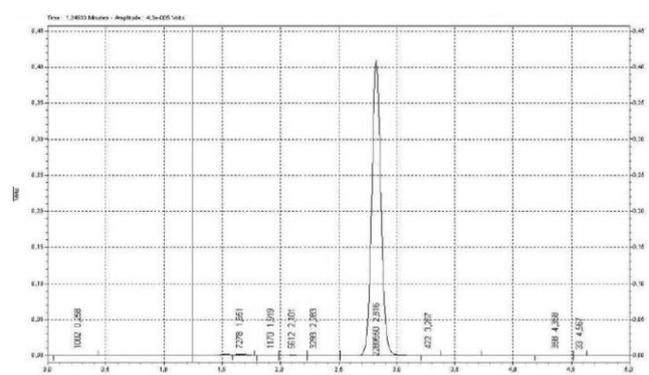


Figura 1. Cromatograma demonstrando pico simétrico do padrão de omeprazol no sistema cromatográfico otimizado

A validação do método foi realizada segundo as normas descritas na RDC nº 899/2003⁶ da ANVISA e Categoria 1 da Farmacopeia Americana 32ª edição para quantificação de princípio ativo em medicamentos. Em razão disto, os parâmetros validados foram linearidade, seletividade, exatidão e precisão.

Seletividade/especificidade

Para determinação da seletividade realizou-se degradação forçada do padrão de omeprazol em solução em três condições: em meio ácido (solução de ácido clorídrico 2N), em meio alcalino (hidróxido de sódio 2N) e em presença de oxidante (água oxigenada 40 volumes). Estas soluções foram submetidas a banho-maria a 100 °C por 4 horas. Nas três condições observou-se nos cromatogramas o surgimento de outros picos concomitantemente com a diminuição da área do pico do omeprazol, sugerindo que o método otimizado foi capaz de separar os compostos de degradação forçada do princípio ativo, expressando

especificidade para o omeprazol. A Figura 2 demonstra o resultado da degradação forçada em meio alcalino. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro componente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam, porventura, estar presentes.

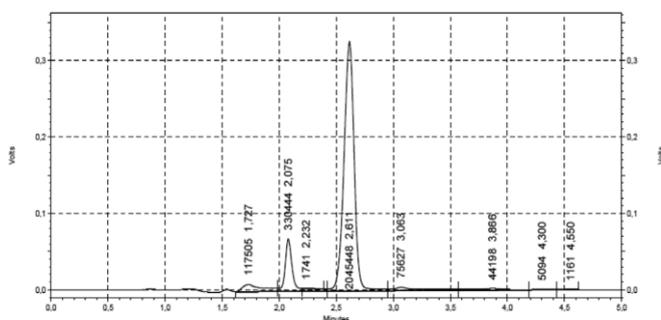


Figura 2. Cromatograma do padrão de omeprazol sob condições de degradação forçada em meio alcalino (NaOH 2N) por um período de 4 horas e temperatura de 100 °C

Exatidão

Determinou-se a exatidão mediante a recuperação do método pela adição (*spike*) do padrão a uma solução diluída do medicamento de omeprazol (concentração 46,5 µg/mL) em três níveis de concentração: 50%, 100% e 150%. A média dos nove valores de recuperação do omeprazol foi de 98%, sendo assumido como a exatidão do método.

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro.

Precisão

A precisão do método foi avaliada mediante a determinação da repetitividade intra-dia (n = 9) do padrão de omeprazol na concentração de 50,06 µg/mL. O desvio-padrão relativo calculado foi de 0,14%. A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de

medição, chamadas de condições de repetitividade: mesmo procedimento; mesmo analista; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local; e repetições em um curto intervalo de tempo.

Linearidade

A linearidade do método proposto foi determinada com a utilização de cinco concentrações diferentes, em quadruplicata. Os intervalos de concentrações estabelecidos através do procedimento analítico foram: 25,03 µg/mL, 50,01 µg/mL, 75,01 µg/mL, 100,01 µg/mL e 125,01 µg/mL. A plotagem da representação gráfica da área dos picos versus concentração gerou a curva de calibração, da qual se obteve o coeficiente de regressão linear $r^2 > 0,9993$. Segundo a RDC nº 899/03, o r^2 deve ser igual ou superior a 0,99. O teste de Cochran aplicado às respostas (unidades de área) dos cinco níveis de concentração mostrou homogeneidade das variâncias (homoscedasticidade).

O método otimizado e validado na determinação de omeprazol em pellets contidos em cápsulas foi comparado com a técnica de espectrofotometria na região do UV, utilizando-se duas amostras de medicamento genérico e uma de medicamento similar. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Comparação entre resultados obtidos nos métodos CLAE-UV (otimizado) e espectrofotometria na região do ultravioleta.

Amostras	CLAE (mg/ conteúdo médio)	UV (mg/ conteúdo médio)
1 (med. similar)	17,6	23,0
2 (med. genérico)	20,0	27,4
3 (med. genérico)	20,6	29,0

A técnica de espectrofotometria na região do ultravioleta foi utilizada na análise comparativa porque é a técnica mais utilizada para determinação deste fármaco em apresentações farmacêuticas, além de ser oficial para identificação do omeprazol em matéria-prima de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

Os resultados obtidos para omeprazol por espectrofotometria na região do ultravioleta, conforme demonstradas na Tabela 1, evidenciaram a interferência dos excipientes, apresentando valores acima da especificação do produto de 20 mg, podendo ser aceitos valores entre 18 e 22 mg.

Quando comparado com o método otimizado e validado por CLAE-UV, isto não é observado por ser este um método de separação, reportando valores reais para os produtos analisados. Estes resultados demonstram bom desempenho do método otimizado.

A otimização do método analítico, partindo do método publicado por Linden et al³ envolveu vários estágios, como: alteração do pH da fase móvel, da temperatura, coluna, fluxo e do volume de injeção. Cada alteração foi avaliada mediante o desempenho do método, levando-se em conta a simetria do pico e um tempo de retenção curto para o omeprazol. A validação do método analítico é importante porque garante o sucesso da utilização da metodologia desenvolvida e/ou otimizada, além de detectar erros de procedimento analítico e oferecer evidências comprovadas da eficiência do método.

O método CLAE-UV otimizado e validado no presente trabalho é simples, seletivo, exato e preciso

para a quantificação de omeprazol em formulações farmacêuticas e matérias-primas, podendo ser alternativo ao oficial.

REFERÊNCIAS

1. Hardman JG, Limberd LE (eds.). Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw- Hill: New York; 2001.
2. Murakami FS, Mendes C, Pereira RN, Valente BR. Estudo de Estabilidade de Comprimidos Gastro-Resistentes contendo 20 mg de Omeprazol. *Lat. Am J Pharm.* 2009; 28 (5):645-52.
3. Linden R, Ziulkoski AL, Wingert M, Tonello P, Souto AA. Simultaneous determination of omeprazole, hidroxiomeprazole and domperidone in human plasma by isocratic HPLC-DAD: Application to the phenotyping of CYP2C19 and CYP3A4 in Brazilian volunteers. *J Braz Chem Soc.* 2007;18(4):733-40.
4. Farmacopeia Brasileira. 5a edição. Parte 2. Brasília: Fiocruz; 2010.
5. United States Pharmacopeia. 32. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Conventions. 2009;734-7.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos" anexo, fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002. *Diário Oficial [da] União, Brasília, Seção 1, DF, p. 56-9, 2 de junho de 2003.*

A importância da conscientização do descarte de resíduos em institutos de pesquisa na área da saúde

Márcia Liane BUZZO¹, Adriana Aparecida Buzzo ALMODOVAR², Carolina Machado Tavares Duarte FRANÇA³, Maria de Fátima Henriques CARVALHO¹, Paulo TIGLEA¹, Richard MATSUZAKI¹

¹Núcleo de Contaminantes Inorgânicos – Centro de Contaminantes – Instituto Adolfo Lutz

²Núcleo de Ensaios Biológicos e de Segurança – Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

³Núcleo Especializado de Engenharia de Segurança e Medicina do Trabalho – Centro de Recursos Humanos – Instituto Adolfo Lutz

As atividades desenvolvidas em laboratórios de instituições de pesquisa e de ensino, tais como laboratórios de análises bioquímicas e laboratórios de análises físico-químicas, empregam substâncias e produtos de diversas classes, sendo considerados materiais perigosos por poderem apresentar características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade, patogenicidade e toxicidade¹. Considerados pelos órgãos fiscalizadores como atividades não impactantes, a quantidade gerada de resíduos biológicos, químicos e radioativos nestes segmentos, tais como metais pesados, solventes halogenados, materiais infectantes e radioisótopos, pode ser considerada desprezível quando comparada à quantidade de resíduo gerado por indústrias de grande porte que executam atividades similares. Apesar do pequeno volume de resíduo gerado pelos laboratórios de análise e pesquisa, deve ser considerada ainda a composição variada e inconstante que apresenta, com grande diversidade e complexidade².

Dentro deste contexto, considerando a necessidade de aprimoramento, atualização e

complementação dos procedimentos contidos na Resolução RDC nº 33, de 25 de fevereiro de 2003, relativos ao gerenciamento dos resíduos gerados nos serviços de saúde (RSS), com vistas à preservação da saúde pública e da qualidade do meio ambiente, a Resolução RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde, define como geradores de resíduos de serviços da saúde todos os serviços relacionados com o atendimento à saúde humana ou animal, inclusive os serviços de assistência domiciliar e de trabalhos de campo; laboratórios analíticos de produtos para a saúde; estabelecimentos de ensino e pesquisa na área de saúde; dentre outros, a ser cumprido em todo o território nacional, na área pública e privada³.

Ainda de acordo com esta legislação, o gerenciamento dos RSS constitui-se em um conjunto de procedimentos de gestão, planejados e implementados a partir de bases científicas e técnicas, normativas e legais, com o objetivo de minimizar a produção de resíduos gerados e dar-lhes um encaminhamento seguro, de forma eficiente, visando

a proteção dos trabalhadores, a preservação da saúde pública, dos recursos naturais e do meio ambiente. O gerenciamento deve abranger todas as etapas de planejamento dos recursos físicos, dos recursos materiais e da capacitação dos recursos humanos envolvidos no manejo dos RSS. Deve ainda elaborar um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS), baseado nas características dos resíduos gerados e na classificação por grupos – Grupo A (resíduos com possível presença de agentes biológicos); Grupo B (resíduos contendo substâncias químicas); Grupo C (materiais resultantes de atividades humanas que contenham rejeitos radioativos); Grupo D (resíduos que não apresentem risco biológico, químico ou radioativo à saúde ou ao meio ambiente) e Grupo E (materiais perfurocortantes) – estabelecendo as diretrizes de manejo dos RSS. Além disso, o PGRSS deve ser compatível com as normas locais relativas à coleta, ao transporte e à disposição final dos resíduos gerados nos serviços de saúde, estabelecidas pelos órgãos locais responsáveis por estas etapas.

A escassez de programas de gestão na maioria das instituições de pesquisa e de ensino do país pode acarretar situações de riscos ao meio ambiente, como descarte de materiais residuais potencialmente perigosos em pias ou em lixo comum, bem como gerar passivos ambientais expressivos, que são acumulados de forma precária. Cita-se como exemplo de descarte inadequado um fato ocorrido no município de Rosana/SP, amplamente divulgado na mídia, no qual foram encontrados frascos contendo mercúrio metálico, utilizados na área odontológica, dispensados em terrenos baldios, expondo os moradores locais a potencial contaminação pelo metal, incluindo casos de intoxicação por este elemento químico.

Diante deste cenário, e com a crescente conscientização da sociedade com relação à questão ambiental, a legislação brasileira tem se adaptado às novas necessidades coibindo os abusos de descartes de resíduos inadequados. Trabalhos encontrados na literatura evidenciam o estabelecimento de

rotas de gestão de resíduos gerados principalmente em laboratórios de ensino e pesquisa na área de química^{2,4-6}.

No Instituto Adolfo Lutz, o Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) foi implantado e é implementado desde 2010, tornando-se ferramenta indispensável para atuação de seus servidores com respeito à educação ambiental, com imprescindível conscientização da importância da adequação da caracterização e manejo do descarte dos resíduos gerados e armazenados em seus laboratórios de análises de rotina e de pesquisa, a fim de motivar, além de obter máximo aproveitamento e maior eficiência no cumprimento aos procedimentos implantados de acordo com o Programa Institucional, bem como em relação à legislação em vigor.

O tratamento de resíduos ainda envolve desafios como a prevenção de impactos ambientais causados pelas atividades laboratoriais e minimização da exposição ocupacional dos servidores. A prática adequada das atividades de gerenciamento de descarte de resíduos de laboratórios pode contribuir para o decréscimo nos gastos com a compra de reagentes, desenvolvimento de técnicas de tratamento para redução, reciclagem e reutilização dos resíduos. Como exemplo, cita-se a reação de neutralização de soluções de ácidos utilizados em banhos de descontaminação de material empregado em procedimentos de análises laboratoriais realizada periodicamente no Núcleo de Contaminantes Inorgânicos. Também, neste sentido, o Núcleo de Ensaio Biológicos e de Segurança realiza o descarte de seu material potencialmente contaminado por micro-organismos seguindo os padrões de descarte adotados pela Instituição, minimizando as chances de ocorrência de acidentes. Além disso, em função da potencial contaminação ambiental e com vistas à proteção do trabalhador exposto ao mercúrio, a Instituição promove o descarte de termômetros de mercúrio, antes usados

em laboratórios, e de mercúrio metálico, os quais são encaminhados para empresa responsável para reciclagem deste tipo de material.

Para tanto, o Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde do Instituto Adolfo Lutz encontra-se bem estabelecido por meio de procedimentos disponibilizados em rede institucional e de constantes treinamentos efetuados aos servidores pelo Núcleo Especializado de Engenharia de Segurança e Medicina do Trabalho. Para alcançarmos esta condição, é fundamental a adoção de postura participativa de todos os membros envolvidos neste tipo de atividade. Assim, o sistema de descarte adequado de resíduos e seus indicadores no Instituto Adolfo Lutz remetem à importância da preocupação de disseminação de novas atitudes e de condutas favoráveis com respeito ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

1. ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 10004:2004. Resíduos sólidos – classificação. 2004.
2. Gerbase AE, Coelho FS, Machado PFL, Ferreira VF. Gerenciamentos de resíduos químicos em instituições de ensino e pesquisa. *Quim Nova*. 2005;28(1):3.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, p. 49-56, 10 dez. 2004, Seção 1.
4. Marinho CC, Bozelli RL, Esteves FA. Gerenciamento de resíduos químicos em um laboratório de ensino e pesquisa: a experiência do laboratório de limnologia da UFRJ. *Ecl Quím*. 2011;36:85-104.
5. Lichtig J, Carvalho MFH, Kira CS, Maio FD. Descarte de resíduos de laboratório contendo metais pesados (Hg, Pb, Cd) por adsorção em hidróxido de ferro (III). *Rev. Ins. Adolfo Lutz*. 2004; 63(1):70-2.
6. Penatti FE, Guimarães STL, Silva PM. Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de análises e pesquisa: o desenvolvimento do sistema em laboratórios da área química. *Fórum Ambiental da Alta Paulista*. 2008;4:106-18.

Levantamento de dizeres de rótulos e análise microbiológica de produtos vegetais realizado pelo Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes

Helena Miyoco YANO, Adriana BUGNO, Adriana Aparecida Buzzo ALMODOVAR

Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes-Instituto Adolfo Lutz

Os produtos de origem vegetal têm sido utilizados, ao longo dos tempos, para tratamento de diferentes doenças. A fitoterapia é uma terapêutica caracterizada pela utilização de plantas medicinais, em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas. Oferece vantagens considerando que o Brasil possui a maior biodiversidade do planeta, agregada a uma rica diversidade étnica e cultural, detendo um valioso conhecimento tradicional associado ao uso de plantas medicinais. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os fitoterápicos são considerados medicamentos e devem garantir sua eficácia, segurança e qualidade¹.

Drogas vegetais, fitoterápicos e outros produtos de origem vegetal com finalidade terapêutica, sem registro e que circulam pelo comércio (industrializados ou manipulados) nem sempre seguem as normas sanitárias de rotulagem e de conformidade microbiológica. O rótulo e a bula devem transmitir informações sobre o produto para uso adequado, dispensação, armazenamento correto e rastreamento, desde a sua fabricação até o consumo e em algumas situações, também devem alertar sobre os riscos do uso¹. A contaminação microbiológica é outro fator

importante quanto à segurança no uso do produto, tendo como fontes de contaminação o ambiente de cultivo, procedimentos de colheita, secagem e o transporte entre outros. O risco associado à presença de micro-organismos em um produto farmacêutico depende da finalidade de uso deste, sua natureza e do dano potencial ao usuário. Em medicamentos não estéreis, principalmente aqueles de origem natural, os limites microbianos qualitativos e quantitativos devem ser observados, visando a evitar a transmissão de doenças e riscos de deterioração do produto, com consequente perda da eficácia terapêutica^{2,3}. Por este motivo, as especificações farmacopeicas relativas à qualidade microbiológica de produtos farmacêuticos e seus insumos tornaram-se gradativamente mais rígidas. Sendo assim, considerou-se a utilização dos limites máximos de bactérias aeróbias e de bolores e leveduras, e a pesquisa de micro-organismos indesejados, bem como as técnicas descritas utilizadas para a enumeração de micro-organismos e identificação conforme especificação farmacopeica vigente³.

Considerando-se o controle de vigilância sanitária pós-comercialização para detecção de problemas relacionados a fitoterápicos e drogas vegetais, este trabalho teve como objetivo avaliar

amostras coletadas em cumprimento ao programa estadual de monitoramento de fitoterápicos, avaliando a qualidade destes e promover o saneamento do mercado.

As amostras foram coletadas para análise nas modalidades fiscal e orientação, por serem produtos submetidos ao sistema de vigilância sanitária, em caráter de rotina, para apuração de infração ou verificação de ocorrência de desvio quanto à qualidade, segurança e eficácia dos produtos.

O Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes do Instituto Adolfo Lutz recebeu 316 produtos vegetais coletados pelos órgãos de Vigilância Sanitária e da Polícia, sendo 29 produtos industrializados e 287 manipulados, tendo como objetivo a avaliação dos dizeres de rotulagem e da qualidade microbiológica. Na análise de rótulo destes foram verificados: nome botânico da planta; denominação genérica; nome, endereço e CNPJ da empresa produtora; nome do fabricante e local de fabricação do produto; número do lote; data de fabricação e validade; número de registro (MS seguido do número, constando treze números, iniciando com 1); composição do medicamento; quantidade e via de administração; nome do Farmacêutico Responsável Técnico e número da inscrição no CRF; telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor – SAC; Lacre de Segurança; Tinta Reativa ou selo de rastreabilidade⁴. Em medicamentos manipulados foi verificado se seguiam a RDC nº 67/2007, item 12⁵.

Os resultados obtidos das amostras analisadas em desacordo com os dizeres da rotulagem^{4,5,6} estão apresentados na Figura 1. Das 29 amostras de produtos vegetais industrializados, 15 (51,7%) estavam insatisfatórias e das 287 amostras de produtos vegetais manipulados, 277 (96,5%) estavam insatisfatórias. Entre os principais desvios da qualidade em rótulos de medicamentos manipulados, foram observadas rotulagens de iguais formulações, amostras que declaravam

apenas o nome do prescritor, porém sem o nome do paciente, sugerindo uma possível fabricação em escala. A prescrição médica é individualizada para o paciente. A responsabilidade pela formulação cabe ao médico prescritor e à farmácia que manipulou⁵. Outros desvios verificados foram: não constar CNPJ e endereço da empresa; constar o nome do produto em destaque com indicação(ões) e contraindicação(ões) terapêutica(s), possibilitando a interpretação de um produto industrializado seguido de indicação terapêutica (“composto vegetal diurético ou antimelitus”); frases com alegações terapêuticas “100% Natural”, entre outros. Em amostras fabricadas, os principais desvios de rotulagens verificados foram além da presença de alegações terapêuticas, da droga vegetal declarada como alimento e de não constarem endereço e CNPJ da empresa. Segundo a ANVISA, o perigo de utilizar produtos não registrados leva o consumidor a utilizá-los sem conhecimento do seu conteúdo, do que esteja declarado na rotulagem, das condições de higiene em que foi fabricado e nem se o mesmo tem comprovação de segurança/eficácia. Cabe ao Ministério da Saúde registrar a empresa e seus produtos, sendo uma prova de que a empresa existe, é legalizada e atua dentro das normas da vigilância sanitária¹.

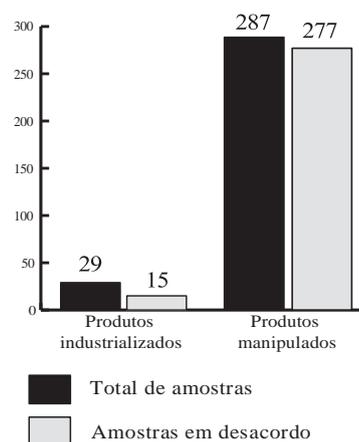


Figura 1. Distribuição das amostras em desacordo com a rotulagem de produtos vegetais de fábrica e manipulados, coletados pela Vigilância Sanitária e Polícia no período de junho de 2004 a março de 2010

Quanto à avaliação microbiológica, 151 (47,78%) amostras foram avaliadas quanto à enumeração e pesquisa de micro-organismos, sendo que em 58 amostras (38,41%) foram detectadas populações microbianas acima dos limites máximos permitidos ou a presença de micro-organismos específicos, tais como *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp e *Pseudomonas aeruginosa*, estando, portanto, em desacordo com as especificações adotadas. Altas cargas microbianas são indicativas da possibilidade de condições favoráveis à presença de micro-organismos patogênicos ou potencialmente patogênicos. Estes dados sugerem que estes produtos podem ser considerados de alto risco, podendo oferecer risco ao paciente que fizer uso destes medicamentos, sendo necessário definir medidas adequadas de controle higiênico sanitário para garantir a qualidade e segurança deste tipo de produto.

Todas as amostras analisadas implicavam dúvidas quanto a sua qualidade no momento da coleta, e, após análises, a elevada porcentagem de resultados insatisfatórios indicou que muitos produtos são de fabricação duvidosa e que seu uso pode ocasionar risco sanitário, sendo potencialmente prejudiciais à saúde dos usuários. É imprescindível considerar a importância das ações da Vigilância Sanitária e da Polícia em conjunto com Laboratório

Oficial de Saúde Pública para eliminar, prevenir e monitorar a circulação de produtos comercializados de interesse da saúde e atuar de forma a colaborar na construção de um modelo de intervenção construtiva, ou seja, antes de haver dano ou agravo à saúde da população.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Silva GHT, Fagundes MJD. O que devemos saber sobre medicamentos, 2010. Disponível em: [<http://www.sbrafh.org.br/documentos/Cartilha%20ANVISA.pdf>].
2. The United States Pharmacopeia. 28. ed. Rockville: Unites States Pharmacopeial Convention; 2005.
3. Farmacopeia Brasileira. 5. ed. São Paulo, SP: Atheneu; 2005.
4. Brasil. Resolução da Diretoria Colegiada nº 71, de 22 de dezembro de 2009. Estabelece as regras para rotulagem de medicamentos. Diário Oficial [da] União. [acesso em: 2011 abr 10.] Disponível em: [<http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/102077-71.html>].
5. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. [acesso em: 2008 ago 12.] Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/67_081007rdc.htm].
6. Brasil. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Código de Defesa do Consumidor. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, v. 128, nº 176, supl., p. 1, 12 de setembro de 1990.

Experiência de dez anos do Curso Integrado de Virologia do Instituto Adolfo Lutz

Adriana LUCHS¹, Claudia Regina GONÇALVES², Samanta Etel Treiger BORBOREMA³, Norberto Camilo CAMPOS⁴

¹ Núcleo de Doenças Entéricas - Centro de Virologia-Instituto Adolfo Lutz.

² Núcleo de Culturas celulares - Centro de Procedimentos Interdisciplinares - Instituto Adolfo Lutz.

³ Núcleo de Doenças Respiratórias - Centro de Virologia - Instituto Adolfo Lutz.

⁴ Núcleo de Doenças Sanguíneas e Sexuais - Centro de Virologia - Instituto Adolfo Lutz.

O Centro de Virologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL) promove há dez anos o Curso Integrado de Virologia (2003-2012) com o objetivo de atualizar conhecimentos básicos na área de virologia com ênfase no diagnóstico laboratorial das viroses de importância em Saúde Pública. O público alvo do curso consiste de bolsistas dos Programas de Aprimoramento Profissional (PAP) da Secretaria de Estado da Saúde (SES) – gerenciados pela Fundação de Desenvolvimento Administrativo (FUNDAP), desenvolvidos no IAL e em instituições da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD) – e profissionais com nível superior completo de áreas afins. Em 2012, o curso também foi aberto a estudantes do último ano de graduação.

Durante este período o Curso Integrado de Virologia recebeu profissionais com formações acadêmicas variadas: médicos, biólogos, biomédicos, enfermeiros, farmacêuticos, médicos veterinários e biotecnólogos. A Figura 1 representa o número total de discentes que frequentou o Curso

Integrado de Virologia entre 2003 e 2012. A média de alunos por ano foi de 28,0.

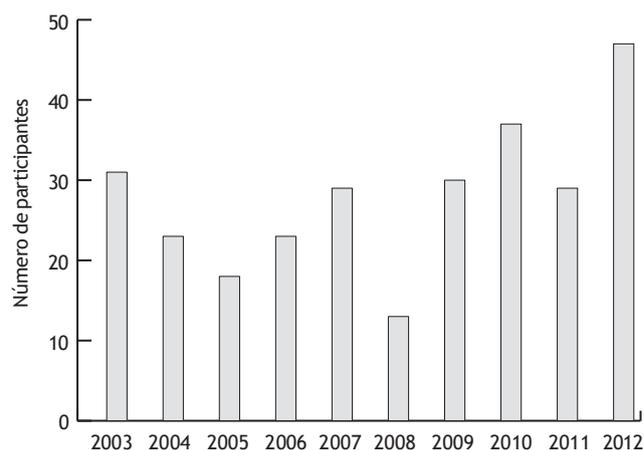


Figura 1. Número total de discentes que frequentaram o curso de virologia entre 2003 e 2012

Ao longo dos 10 anos de realização do curso acrescentaram-se: (1) material didático de apoio desenvolvido pelos profissionais do Centro de Virologia e do Centro de Procedimentos Interdisciplinares no formato CD-ROM; (2) estruturação do programa em módulos (I – Introdução

à virologia; II – Técnicas para diagnóstico das infecções virais; III – Os vírus pesquisados no Instituto Adolfo Lutz; e IV – Palestras e seminários), permitindo a organização logística do curso, propiciando uma visão cronológica e linear dos assuntos, além de contribuir para a melhor compreensão temática por parte dos alunos; (3) inserção de palestrantes externos, garantindo o enriquecimento teórico do curso e estimulando a colaboração e integração entre diferentes órgãos públicos e instituições de ensino e pesquisa (e.g. Instituto Pasteur, Instituto Butantan, Instituto de Ciências Biomédicas – USP e Faculdade de Medicina - USP); (4) inclusão de divulgação externa gerenciada pela comissão coordenadora do curso, resultando no aumento no número de inscrições de discentes externos; (5) divulgação de programas, projetos e bolsas (pós-graduação em Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública – CCD/SES, PIBIC, FUNDAP, FEDIAL), colaborando para a promoção da Instituição; (6) integração do curso com o Núcleo de Seleção e Treinamento do IAL, o qual passou a ser responsável pelas inscrições, elaboração e entrega dos certificados para docentes e discentes; (7) inclusão de métodos de avaliação de aprendizagem; (8) oferecimento de *coffee-break* no intervalo das aulas, o qual permite a confraternização entre comissão organizadora, palestrantes e alunos, além de contribuir para a troca informal de ideias, dúvidas e sugestões.

Em 2009, a comissão organizadora do VII Curso Integrado de Virologia adotou a prática de elaborar relatório final, visando a implantar uma ferramenta de avaliação crítica para subsidiar a organização dos cursos subsequentes e colaborar com a nova estrutura organizacional do Centro de Virologia.

Em 2012, o X Curso Integrado de Virologia foi integralmente sediado no Auditório do Centro de Virologia, inaugurado no final de 2011, garantindo estabilidade de local e acesso pelos discentes, além de conferir maior identidade ao curso.

O Curso Integrado de Virologia almeja continuar contribuindo para o sucesso da missão do IAL, promovendo a divulgação das atividades laboratoriais especializadas e diferenciadas realizadas pelo Instituto e cooperando para a formação de recursos humanos especializados em Saúde Pública.

Agradecimentos

À Dra. Luiza Terezinha Madia de Souza, Diretora Geral Substituta do IAL, e à Dra. Maria do Carmo Sampaio Tavares Timenetsky, Diretora do Centro de Virologia, pelo incentivo e apoio à comissão organizadora durante o desenvolvimento e realização do curso. A todos os profissionais do Centro de Virologia e do Centro de Procedimentos Interdisciplinares que participaram da organização do curso durante o período.

Contribuições laboratoriais mediante a verificação da qualidade de penicilinas prescritas no tratamento da sífilis

Blanca Elena Ortega MARKMAN, Elizabeth Wu MEIHUEY, Thays Oliveira Neves COELHO, Paulo Sergio Cardoso de SOUZA

Núcleo de Ensaios Físico-Químicos de Medicamentos – Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

A sífilis, causada pela bactéria espiroqueta *Treponema pallidum*, é uma doença de elevada magnitude nos países endêmicos. Manifesta-se em três estágios: primária, secundária e terciária. Os dois primeiros estágios apresentam as características mais marcantes da infecção, quando se observam os principais sintomas quando a doença sexualmente transmissível (DST) é mais contagiosa. Caso ocorra em grávidas, pode causar aborto/natimorto ou má formação do feto¹. A análise dos dados referentes à sífilis congênita (SC), resultado da transmissão do *T. pallidum* presente no sangue da gestante infectada (não tratada ou tratada inadequadamente) passa para o feto por via transplacentária, e representa um importante indicador da qualidade da atenção materno-infantil¹. Apesar do reconhecimento do agente etiológico há mais de um século, da história natural da doença definida, da existência de métodos diagnósticos disponíveis com baixo custo e da existência de tratamento efetivo desde os anos 1950, o contexto atual no Brasil revela ainda um grave problema de saúde pública com um cenário pior que o da transmissão vertical do HIV^{1,2,3}.

Apesar da vulnerabilidade e inegável magnitude desse problema de saúde pública, seu

controle ainda constitui um desafio para muitos países. Em 2008, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimava que 12 milhões de pessoas, entre elas cerca de 2 milhões de gestantes, estariam infectadas pelo *Treponema pallidum*. Além disso, observa-se uma tendência de aumento da incidência de sífilis e de SC em todo o mundo³.

No Brasil, as taxas de soropositividade para sífilis em mulheres na idade fértil variam entre 1,5 e 5,0%, com níveis mais elevados em grupos de maior risco, de baixo nível socioeconômico e com difícil acesso à educação e aos serviços de saúde. Segundo os dados do Ministério da Saúde, a incidência de SC em menores de 1 ano de idade é extremamente alta. Apesar da subnotificação constituir um sério problema, houve uma notificação/investigados de 41.249 casos de SC em menores de 1 ano de idade⁴.

Apesar da raridade de estudos controlados e randomizados, as cinco décadas de experiência com a penicilina confirmam a sua absoluta superioridade no tratamento tanto da sífilis adquirida, em suas várias fases, como da congênita. A droga impede que as enzimas catalisadoras da formação de precursores da parede celular atuem. Com isso, não há restauração da parede, que é submetida continuamente à ação hidrolítica da lisozima produzida pelo organismo³.

O esquema terapêutico com penicilinas preconizado pelo CDC em 2006 e modificado pelo Ministério da Saúde, 2004³, está demonstrado na Tabela 1.

A penicilina é o mais antigo dos antibióticos, tendo sido descoberta em 1928 pelo médico Alexander Fleming. Quase cem anos depois do seu desenvolvimento, a penicilina e seus derivados continuam sendo amplamente utilizados na prática médica como uma das principais armas contra infecções bacterianas, sendo que elas passaram a representar uma opção terapêutica útil no tratamento e na prevenção de diferentes processos infecciosos ou de suas complicações, mesmo ainda no século XXI. As penicilinas são antibióticos de elevada eficácia e de baixo custo, sendo uma opção definida nas infecções por *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*, que se mantêm sensíveis a estes antibióticos, nas profilaxias primária e secundária da febre reumática, da glomerulonefrite pós-estreptocócica¹⁰⁻¹², no tratamento de endocardite enterocócica, abscesso cerebral, meningite bacteriana, infecções do trato respiratório superior (amigdalites, faringites, otites etc.), infecções de tecidos moles (erisipela, impetigo), gangrena gasosa, difteria, actinomicose, antraz e contextos pós-esplenectomia.⁴

As penicilinas agem como bactericidas desde que utilizadas em doses e intervalos adequados, sendo de primeira escolha para o tratamento da sífilis na gravidez. Muitos a consideram o único tratamento adequado e, em caso de alergia, recomendam a dessensibilização em vez da substituição pela eritromicina não-estolato, que é mais comum. É um medicamento seguro, estando incluído na categoria B de risco para o uso na gestação, segundo a Food

and Drug Administration (FDA)⁴. Considerando-se a sensível diminuição da prescrição e da administração de penicilinas, especialmente das injetáveis, uma série de problemas de saúde pública vem sendo ampliada. A penicilina é um medicamento essencial, referendado pela Organização Mundial da Saúde, e que deve entrar no contexto geral do plano terapêutico racional com antimicrobianos nas condições em que seu uso for indicado. Vale lembrar a recomendação de Ingraham em 1951, que é válida até hoje: “o valor da penicilina para prevenir a passagem da sífilis da mãe para a criança aproxima-se à perfeição”³.

De acordo com a Política Nacional de Medicamentos, a Assistência Farmacêutica deve ser abordada como um dos componentes da promoção integral da saúde que pode utilizar o medicamento como um importante instrumento para o aumento da resolubilidade do atendimento ao paciente.

Na Assistência Farmacêutica está inserido o abastecimento de medicamentos em todas e em cada uma de suas etapas constitutivas, a conservação e o controle de qualidade, a segurança e a eficácia terapêutica dos medicamentos⁵. Desse modo, o laboratório oficial de saúde pública está inserido na Assistência Farmacêutica, atendendo ao Sistema Único de Saúde (SUS), por meio do sistema de vigilância sanitária, na verificação de possíveis desvios da qualidade de fármacos, como das benzilpenicilinas – que, conforme citado, são amplamente utilizadas em unidades básicas de saúde e hospitais do SUS para o tratamento em diversas infecções. O Núcleo Físico-Químico em Ensaios de Medicamentos (NFQM) do Instituto Adolfo Lutz recebeu 13 amostras constituídas de frascos-ampolas

Tabela 1. Esquema terapêutico preconizado para sífilis em adultos e gestantes (modificado do CDC 2006 e Ministério da Saúde, 2004)

Fase da Sífilis	Penicilina	Via de administração intramuscular (IM) endovenosa (EV)	Dose UI (unidades internacionais)
Primária	Benzatina	IM	1 dose de 2,4 milhões UI (1 dose)
Secundária	Benzatina	IM	2 doses de 2,4 milhões UI (1 dose/semana)
Latência precoce (< 1 ano)	Benzatina	IM	2 doses de 2,4 milhões UI (1 dose/semana)
Latência tardia (> 1 ano)	Benzatina	IM	3 doses de 2,4 milhões UI (1 dose/semana)
Fase desconhecida	Benzatina	IM	3 doses de 2,4 milhões UI (1 dose/semana)
Neurolues	Cristalina	EV	3-4 milhões UI a cada 4 horas por 10 a 14 dias

contendo líofilo de penicilinas, coletadas pelos Serviços de Vigilância Sanitária de unidades de saúde integrantes do SUS. As queixas relatadas eram com relação ao aspecto das suspensões injetáveis obtidas após a reconstituição do líofilo, alegando a formação de grumos insolúveis que provocariam o entupimento da agulha quando da aspiração da suspensão, sendo inutilizadas nestas condições. A equipe técnica do laboratório do NFQM analisou estas amostras, as quais apresentaram resultados satisfatórios nos testes de aspiração e extrusão das suspensões, assim como nos ensaios farmacopeicos de identificação do teor e do pH das penicilinas. Para avaliar a aspiração e extrusão das suspensões, foi utilizado o método empregado pela Fundação Remédio Popular (FURP). Foram observados e avaliados antes da reconstituição, o aspecto do liofilizado (cor, presença de grumos, pó compactado ou homogêneo). Algumas das amostras analisadas apresentaram o aspecto do pó liofilizado aderido nas paredes do frasco-ampola, assim como na tampa, enquanto outras amostras apresentavam o pó com grumos que eram facilmente desfeitos com a prévia agitação das mesmas. A cor das amostras variou de branco para branco levemente amarelado conforme a especificação.

Constatamos também que os rótulos dos frascos-ampolas não apresentavam informações sobre o volume do diluente a ser utilizado na sua reconstituição, orientando a consultar a bula. Por ser um fármaco para uso hospitalar, ambulatorial ou em unidades básicas de saúde, vem acondicionado em embalagens contendo 50 frascos-ampolas e somente uma bula, dificultando a sua consulta. Frente às recorrentes queixas, a equipe técnica do Laboratório de Antibióticos do Instituto Adolfo Lutz (IAL) concluiu que os problemas de formação de grumos poderiam estar relacionados com o teor de água no líofilo ou com a maneira da sua reconstituição.

Várias técnicas para o preparo das suspensões injetáveis foram testadas, com a variação do calibre da agulha utilizada na aspiração e extrusão, com

injeção prévia de ar ou não na aspiração. O tempo e modo de agitar o frasco-ampola antes e após a reconstituição foram padronizados. Além destes testes, pretende-se avaliar o teor de umidade por Karl Fisher dos liofilizados de benzilpenicilina para verificar a possível interferência de excesso de água na solubilidade e formação de grumos nas suspensões.

Perante estes resultados, viu-se a necessidade de se contribuir com as metas propostas, com os programas de DST propostos pelo Ministério da Saúde, para o controle e erradicação da SC mediante a elaboração de um protocolo informativo para reconstituir as suspensões injetáveis de penicilinas utilizadas no tratamento, assim como o teste do protocolo, antes da sua publicação, com penicilinas de todos os fabricantes para que este seja único a todos, assim como a correlação – ou não – da solubilidade com o teor de água do líofilo. As amostras analisadas, por não apresentarem grumos nas suspensões, evidenciaram que o problema estava relacionado à maneira da reconstituição da suspensão injetável.

REFERÊNCIAS

1. Saraceni V, Miranda AE. Relação entre a cobertura da Estratégia Saúde da Família e o diagnóstico de sífilis na gestação e sífilis congênita. *Cad. Saúde Pública* [online]. 2012; 28(3):490-6.
2. De Araújo CL, Shimizu HE, De Sousa AIA, Hamann EM. Incidência da sífilis congênita no Brasil e sua relação com a Estratégia Saúde da Família. *Rev. Saúde Pública*. 2012;46:31-7.
3. Guinsburg R, Dos Santos AMN. Critérios diagnósticos e tratamento da sífilis congênita. [acesso em: 2012 nov. 29.] Disponível em: [http://www.sbp.com.br/pdfs/tratamento_sifilis.pdf].
4. Grumach AS, Matida LH, Heukelbach J, Coelho HLL, Ramos ANJ. A desinformação relativa à aplicação da penicilina na rede do Sistema de Saúde do Brasil: o caso da sífilis. *J Bras Doenças Sex Transm*. 2007;19(3-4):120-7.
5. Cosendey MAE, Bermudez JAZ, Almeida dos Reis AL, Silva HF, Oliveira MA. Assistência farmacêutica na atenção básica de saúde: a experiência de três estados brasileiros. *Cad Saúde Pública* [on-line]. 2000;16(1):171-182.

Suspeita de adulteração em bicarbonato de sódio de uso alimentar: agravos à saúde

Helena Miyoco YANO, Valéria Adriana Pereira MARTINS, Jaqueline Kalleian ESERIAN, Luz Marina TRUJILLO, Márcia LOMBARDO

Núcleo de Ensaios Físicos e Químicos em Medicamentos – Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

O bicarbonato de sódio é uma substância que possui amplas aplicações. Em alimentos, é frequentemente usado como fermento químico, pois o contato com ingredientes ácidos libera dióxido de carbono (CO₂) e leva à expansão de volume em massas. Além disso, pode atuar em fórmulas alimentícias como regulador de acidez, antiemético e estabilizante¹. Como medicamento, é indicado para tratar acidose metabólica, cálculos renais, diarreia severa, intoxicações medicamentosas e principalmente como um antiácido para tratar casos agudos de hiperacidez estomacal e para auxiliar terapias a longo prazo de úlceras duodenais e refluxo gastroesofágico².

A função dos antiácidos é neutralizar o ácido clorídrico (HCl) secretado pelas células parietais gástricas, formando cloretos, água e CO₂. Constituem uma classe de medicamentos relativamente mais barata que outras formas de terapia mais eficazes². São largamente divulgados e de venda livre, o que contribui para a prática da automedicação, muitas vezes para o alívio de diversos sintomas gastrintestinais que nem sempre correspondem às suas indicações³.

A automedicação com antiácidos pode mascarar sintomas, agravar lesões pré-existentes e

impedir o diagnóstico de gastrite e úlcera péptica por *Helicobacter pylori*⁴. Além disso, é preciso considerar que o uso desses medicamentos pode provocar efeitos indesejáveis. A liberação de CO₂ após a administração de bicarbonato de sódio pode levar à eructação, distensão abdominal, flatulência e náuseas. A absorção de bicarbonato de sódio não neutralizado pode causar alcalose e o seu uso a longo prazo, alcalúria, predispondo à nefrolitíase. Como consequência de alterações do pH gástrico e urinário podem ocorrer modificações nas taxas de dissolução, absorção, biodisponibilidade e eliminação de fármacos².

No primeiro semestre de 2012, o Instituto Adolfo Lutz recebeu da Vigilância Sanitária de um Município de São Paulo duas amostras industrializadas de bicarbonato de sódio de uso alimentar para análise de identidade, devido à queixa de agravo à saúde. Uma das amostras se encontrava violada, apresentando odor amoniacal, e foi recolhida aberta pelo próprio usuário, que, após a ingestão, relatou mal-estar, náuseas e necessidade de atendimento médico ambulatorial. A Vigilância Sanitária, em diligência, colheu uma amostra lacrada do mesmo produto para análise fiscal. Ambas as amostras não continham número de lote.

Foram realizados os testes preconizados pela Farmacopeia Brasileira⁵, conforme apresentado na Tabela 1. Segundo o compêndio, para identificação de bicarbonato de sódio, deve-se adicionar solução de fenolftaleína na amostra a 5% (p/v) em água isenta de CO₂ e observar coloração rósea; ao se aquecer a solução, deve ocorrer a liberação de gás e coloração avermelhada. Para identificação do íon sódio, deve-se preparar uma solução da amostra acidulada com HCl 1M, expor à zona redutora da chama e observar coloração amarela intensa. Para a identificação do íon bicarbonato, deve-se tratar a amostra com HCl e observar efervescência. Já para a identificação do íon amônio, deve-se adicionar excesso de hidróxido de sódio (NaOH) 1M e observar despreendimento de amônia com odor característico. Para doseamento do bicarbonato de sódio, deve-se proceder à técnica de volumetria ácido-base. Também foi realizado um ensaio complementar de identificação e quantificação do íon sódio, utilizando-se fotometria de chama.

Tabela 1. Resultados obtidos na análise das amostras de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5a edição

Ensaio	Critério de aceitação	Resultados		
		Amostra violada	Amostra lacrada	
Identificação	Bicarbonato de sódio	Positiva	Negativa	Positiva
	Sódio	Positiva	Negativa	Positiva
	Bicarbonato	Positiva	Positiva	Positiva
Pesquisa de amônia	Amônia	Ausente	Presente	Ausente
Quantificação	Bicarbonato de Sódio (volumetria)	99 a 101%	**	100,06%
	Sódio (fotometria de chama)	Não consta *	**	95,17%

* Ensaio não preconizado pela monografia adotada.

** Os ensaios descritos para quantificação não foram realizados na amostra violada devido à identificação de bicarbonato de sódio ter sido negativa.

Por meio de ensaios laboratoriais foi confirmada a presença de bicarbonato de amônio na amostra violada, a qual declarava conter bicarbonato de sódio. A ingestão de bicarbonato de amônio leva à intoxicação, que causa dor intensa no estômago

e vômitos⁶. O caso pode estar relacionado a um desvio de qualidade, condições inapropriadas de armazenamento ou mesmo adulteração do produto. Contudo, não foi possível estabelecer uma relação de origem causal, fazendo-se necessárias maiores investigações.

AGRADECIMENTOS

A Viviane Jesus Marques da Cruz e a Rita Cristina A. Guardia pela colaboração na realização dos ensaios analíticos.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre aditivos utilizados segundo as Boas Práticas de Fabricação e suas funções. Resolução nº 386, 5 de agosto de 1999. [acesso em: 2012 dez. 18.] Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/386_99.htm].
2. Brunton LL, Lazo JS, Parker, KL. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11. ed. Rio de Janeiro, RJ: McGraw-Hill; 2007.
3. Furu K, Straume B. Use of antiacids in a general population: the impact of health-related variables, lifestyle and sociodemographic characteristics. J Clin Epidemiol. 1999;52(6):509-516.
4. Freitas EL, Ribeiro AQ, Magalhães SMS, Moura CS. Perfil de utilização de antiácidos por usuários da farmácia universitária da UFMG, Belo Horizonte (MG). Infarma. 2006;18(9/10):36-40.
5. Farmacopeia Brasileira. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Fiocruz; 2010. p. 688-9.
6. Medline Plus. Bethesda: U.S. National Library of Medicine; 2012. Ammonia poisoning. [acesso em: 2012 dez. 19]. Disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002759.htm].

Consumo de sal: sódio versus iodo

Marcia Regina Pennacino do AMARAL-MELLO, Regina Sorrentino MINAZZI-RODRIGUES, Jamila BARBOSA*
Núcleo de Química, Física e Sensorial – Centro de Alimentos
– Instituto Adolfo Lutz
*Programa de Aprimoramento Profissional (PAP/SES/FUNDAP)

Sódio e iodo são minerais essenciais ao adequado funcionamento do organismo humano e podem advir da ingestão de sal. A ingestão de sódio está relacionada à elevação da pressão arterial e eventos cardiovasculares, primeira causa de morte no país. A recomendação de sódio para uma dieta saudável, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), é o equivalente no máximo a 5 g de sal por dia, dos quais, 3 g de sal adicionado e 2 g correspondentes ao sódio intrínseco aos alimentos¹. Já o valor diário de referência de sódio preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é de 2.400 mg/dia, equivalente a 6 g de sal². O consumo excessivo de sódio no Brasil foi confirmado por estudo da Pesquisa de Orçamentos Familiares (2002/03), que estimou o consumo de sódio em 4,8 g/dia, equivalente a 12 g de sal³. Visando diminuir o consumo de sódio, o Ministério da Saúde, em 2011, acordou com as indústrias alimentícias a redução gradual deste mineral em 16 categorias de alimentos até 2014. A ANVISA e o *International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders* (ICCIDD) recomendam a ingestão diária de iodo para indivíduos acima de 12 anos, entre 130 µg/dia² e 150 µg/dia⁴.

A quantidade de iodo ingerida pela população pode ser avaliada por meio de sua excreção urinária, cuja concentração média diária preconizada deverá estar entre 100 e 200 µg/L, correspondente a uma ingestão de iodo entre 150 e 300 µg/dia⁴, conforme Tabela 1. A ingestão contínua e diária mais elevada que os 300 µg/dia pode causar riscos à saúde em indivíduos geneticamente predispostos, como

hipertireoidismo iodo induzido (principalmente em idosos) e tireoidite crônica autoimune (Tireoidite de Hashimoto)^{4,5}. O hipertireoidismo iodo induzido ocorre quando a elevada ingestão de iodo leva a formação de nódulos na tireoide que produzem uma quantidade excessiva de hormônios⁴.

Tabela 1. Concentração média de iodo urinário (µg/L) e ingestão de iodo correspondente (µg/dia)

Concentração média de iodo urinário (µg/L)	Ingestão de iodo correspondente (µg/dia)	Nutrição de iodo
<20	<30	Deficiência severa
20-49	30-74	Deficiência moderada
50-99	75-149	Deficiência leve
100-199	150-299	Ótima
200-299	300-449	Mais que adequada
>299	>449	Possível excesso

O Ministério da Saúde também propôs, em 2011, reduzir o teor de iodo no sal da faixa atual de 20 a 60 mg/kg para 15 a 45 mg/kg^{6,7}. A proposta de modificação da concentração de iodo no sal é uma questão controversa devido às dimensões do país, às suas diferenças regionais, às dificuldades industriais no processo de iodação e à ingestão de sal pela população acima do recomendado⁸.

Conforme demonstram as Tabelas 2 e 3, considerando a faixa de iodação de 20 a 60 mg/kg e estimativa de consumo de 12 g/dia de sal, a ingestão de iodo seria adequada a partir do limite inferior de 20 mg/kg até cerca de 25 mg/kg, concentração a partir da qual a ingestão ultrapassaria os 300 µg/dia, considerados nocivos à saúde pela OMS.

Em contrapartida, se o consumo de sal seguir o preconizado 5 g/dia, a ingestão de iodo somente estaria adequada em sais com concentração a partir

Tabela 2. Adequação do consumo de iodo e teor de iodação, considerando-se a estimativa de consumo preconizada pela OMS de 5 g/dia de sal

Consumo de sal (g/dia)	Ingestão de sódio (g/dia)	Teor de iodo no sal (mg/kg)	Ingestão de iodo (µg/dia)
5	2,0	15 ¹	75 ²
5	2,0	20	100 ²
5	2,0	26	130 ³
5	2,0	30	150 ³
5	2,0	40	200 ³
5	2,0	45	225 ³
5	2,0	60	300 ³

¹ Limite inferior da faixa de iodação proposta pelo Ministério da Saúde.

² Ingestão inadequada (< 130 µg/dia).

³ Ingestão adequada (≥ 130 µg/dia e ≤ 300 µg/dia).

Tabela 3. Adequação do consumo de iodo e teor de iodação, considerando-se a estimativa de consumo de 12 g/dia de sal pela Pesquisa de Orçamentos Familiares

Consumo de sal (g/dia)	Ingestão de sódio (g/dia)	Teor de iodo no sal (mg/kg)	Ingestão de iodo (µg/dia)
12	4,8	15 ¹	180 ²
12	4,8	20	240 ²
12	4,8	25	300 ²
12	4,8	30	360 ³
12	4,8	40	480 ³
12	4,8	45	540 ³
12	4,8	60	720 ³

¹ Limite inferior da faixa de iodação proposta pelo Ministério da Saúde.

² Ingestão adequada (≥ 130 µg/dia e ≤ 300 µg/dia).

³ Ingestão inadequada (> 300 µg/dia).

de 26 mg de iodo/kg, aproximando-se do limite máximo de ingestão diária de 300 µg/dia somente em sais com 60 mg de iodo/kg.

Assim, com a modificação da faixa de iodação para 15 mg/kg até 45 mg/kg, sais com concentração menor que 26 mg/kg não iriam suprir as necessidades da população adulta. A faixa de iodação de 20 a 60 mg/kg está de acordo com a ingestão de iodo recomendada se for seguido o consumo adequado de sal. Já se a faixa for reduzida e houver também menor consumo de sal, a ingestão de iodo seria insuficiente com o risco de retorno dos distúrbios por deficiência de iodo (DDIs).

Para que as entidades públicas não negligenciem o aumento dos distúrbios da tireóide, sugere-se a redução da faixa até que a população reduza o consumo de sal para a quantidade preconizada, quando a faixa poderá ser novamente revista, garantindo a baixa prevalência de DDIs já conquistada pelo país. A redução da adição de sal nos

alimentos, por constituir uma mudança de hábitos, ocorre de forma gradual, exigindo informação e educação nutricional para efetivamente se consolidar.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira De Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. Arq Bras Cardiol. 2010;95 (1 supl.1):1-51. [acesso em: 2012 jun. 11.] Disponível em: [http://publicacoes.cardiol.br/consenso/].
2. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 26 dez 2003. Seção 1, nº 251-E, p. 33.
3. Sarno F. Estimativas de consumo de sódio no Brasil: revisão dos benefícios relacionados à limitação do consumo deste nutriente na Síndrome Metabólica e avaliação de impacto de intervenção no local de trabalho. [Tese de doutorado]. São Paulo (SP): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2010. [acesso em: 2012 maio 1]. Disponível em: [http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6138/td-09102010-183930/pt-br.php].
4. International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders - ICCIDD. FAQs about Iodine Nutrition. [acesso em: 2012 maio 1]. Disponível em: [http://www.iccidd.org/pages/iodine-deficiency/faqs.php].
5. Laurberg P, Cerqueira C, Ovesen L, Rasmussen LB, Perrild H, Andersen NS, et al. Iodine Intake as a Determinant of Thyroid Disorders in Populations. Best Practice & Research Endocrinology & Metabolism. 2010;24(1):13-27. [acesso em: 2012 maio 1]. Disponível em: [http://www.bprcem.com/article/S1521-690X(09)00100-6].
6. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 130, de 26 de maio de 2003. Estabelece a iodação do sal considerado próprio para consumo. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 28 de maio de 2003. Seção 1, nº 101-E, p. 48.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Consulta Pública nº 35, de 4 de julho de 2011. Abertura de Consulta Pública com o prazo de 60 (sessenta) dias para que sejam apresentadas críticas e sugestões relativas à proposta de Resolução que dispõe sobre teor de iodo no sal destinado ao consumo humano. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 07 de julho de 2011. Seção 1, nº 129-E, p. 43.
8. Ministério da Saúde. Saúde na Mídia: ANVISA defende redução do teor de iodo no sal. [acesso em: 2012 maio 1]. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/clipping_08072011.pdf].

Saúde do trabalhador: histórico da atuação do Instituto Adolfo Lutz quanto à exposição ocupacional a agentes químicos no estado de São Paulo

Paulo TIGLEA¹, Márcia Liane BUZZO¹, Vera Regina Rossi LEMES², Adriana Palma de ALMEIDA³

¹Núcleo de Contaminantes Inorgânicos – Centro de Contaminantes – Instituto Adolfo Lutz

²Núcleo de Contaminantes Orgânicos – Centro de Contaminantes – Instituto Adolfo Lutz

³Centro de Contaminantes – Instituto Adolfo Lutz

A saúde do trabalhador constitui um universo bastante amplo em que há um grande conjunto de riscos classificados como ergonômicos, físicos, químicos, biológicos e de acidentes. Especificamente, os riscos podem tomar a forma de ruídos, radiações, acidentes de trânsito, contatos com vírus, bactérias e fungos, e assim por diante.

Os riscos em relação aos quais o Laboratório de Saúde Pública tem tido uma abordagem mais sistemática representam apenas uma fração de todo este universo constituído pela exposição ocupacional a agentes químicos tóxicos. Pode ocorrer como exposição repentina e intensa (contaminação aguda) ou pela exposição constante a um agente químico que, mesmo em baixas concentrações, apresenta toxicidade e que pode ser cumulativo no organismo. Como exemplos, podemos citar a exposição aos agrotóxicos no campo e aos solventes e agentes químicos inorgânicos na indústria. As diferentes possibilidades de exposição caracterizam um conjunto grande e complexo.

Em termos de histórico, a inserção do Instituto Adolfo Lutz (IAL) na área de saúde do trabalhador

ocorreu na década de 1980. Dentro da estrutura antiga do IAL, a Divisão de Bromatologia e Química tinha como objetivo a análise de produtos consumidos pela população. Nessa época, já havia se desenvolvido a capacidade para determinar contaminantes químicos em baixas concentrações em alimentos, como chumbo, cádmio, mercúrio, resíduos de agrotóxicos e PCBs – bifenilas policloradas. Na área de contaminantes orgânicos, são determinados resíduos de agrotóxicos em soro sanguíneo de trabalhadores de indústrias, aplicadores e/ou manipuladores de agrotóxicos ou pessoas expostas aos organoclorados persistentes através do meio ambiente pelo contato com água, ar, solo ou alimento contaminado. Por volta da segunda metade da década de 1980, houve um movimento dentro da Secretaria da Saúde para a organização da vigilância em saúde do trabalhador, e o IAL passou a integrar este movimento por meio do desenvolvimento de métodos analíticos e com a participação no programa conjunto Brasil-Itália, que garantiu investimentos e treinamentos.

Assim, dois laboratórios da Divisão, que antes só analisavam produtos, passaram a atuar nesta área e a executar análises de amostras biológicas. Na ocasião,

a mudança representou uma quebra de paradigma, incluindo dúvidas se isto não descaracterizaria a divisão e seus propósitos. Além disso, os analistas que, dentro de sua atividade e área de atuação, não tinham a prática da manipulação de amostras biológicas, tiveram que se readaptar e desenvolver cuidados, metodologias e práticas para esse trabalho.

Mas realizar análises e ser somente um produtor de laudos não pode ser a única participação do laboratório de saúde pública. Isto o distancia das discussões sobre o significado de seus resultados analíticos. É necessário que haja uma interação entre o laboratório e as entidades de vigilância sanitária e de vigilância epidemiológica, assim como com as áreas médicas, para que o conjunto dos trabalhos leve a conclusões seguras e efetivas, dentro de um espírito multidisciplinar, de forma interinstitucional e intersetorial.

Nesta qualidade de parceiro, o IAL, juntamente com o Centro de Vigilância Sanitária (CVS) e o Centro de Referência em Saúde do Trabalhador – atualmente vinculado ao CVS – fez parte do grupo de trabalho (que contou também com outras instituições) que planejou e operacionalizou a implantação da Rede Nacional de Atenção à Saúde do Trabalhador no Estado de São Paulo, sob a coordenação da Coordenadoria de Institutos de Pesquisa – atualmente designada Centro de Controle de Doenças.

As análises realizadas e a busca pela participação na tentativa de elaboração de uma política para a saúde do trabalhador não foram limites para a contribuição do IAL nesta área. Em 1990, poucos anos depois do início neste campo de trabalho, foi criado o Programa Interlaboratorial para Chumbo em Sangue, atualmente denominado Programa Provedor de Ensaio de Proficiência para Determinação de Chumbo em Sangue, coordenado pelo Núcleo de Contaminantes Inorgânicos¹. Neste programa, são preparados itens de ensaio constituídos por amostras de sangue bovino

contaminado por chumbo. Essas amostras são enviadas aos laboratórios participantes, públicos e privados, que as analisam e enviam os seus resultados, os quais passam por um tratamento estatístico, o que dá ao laboratório participante uma avaliação de seu desempenho. A participação em programas interlaboratoriais de comparação de resultados é um dos requisitos da norma ABNT NBR ISO/IEC 17.025 e, portanto, esta é uma contribuição importante da instituição para a área de saúde do trabalhador no País. Este Programa foi acreditado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) em 2011. A faixa de níveis de concentração adotada pelo Programa torna-o adequado não somente para atuação em saúde do trabalhador, mas também para atuação em saúde ambiental.

O ingresso do IAL na área de saúde do trabalhador consolidou também a entrada para a área de saúde ambiental, onde já havia realizado trabalhos esporádicos, no qual o conjunto de contaminantes químicos analisados inclui os relativos à saúde do trabalhador, porém em níveis de concentração mais baixos. Ainda nessa área, o IAL deu contribuições importantes com a determinação de compostos organoclorados em soro (Cubatão, São Vicente e Rio de Janeiro, na década de 1990)²⁻⁴, assim como em leite humano, considerado um bom indicador da contaminação ocupacional ou ambiental². Recentemente, o IAL foi parceiro do Projeto Piloto do I Inquérito Nacional de Exposição a Substâncias Químicas, no qual foram avaliadas as populações da Região Metropolitana de São Paulo (doadores de sangue) e do Rio de Janeiro (Conscritos das Forças Armadas) em relação aos organoclorados persistentes e metais em parceria com a Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Fundação Oswaldo Cruz e USP de Ribeirão Preto. Para contaminantes inorgânicos, tivemos o exemplo de Bauru com a contaminação por chumbo (2002)⁵

e, mais recentemente, a contaminação por mercúrio no município de Rosana (2011), todos os relatos ocorridos no Estado de São Paulo.

Além da determinação direta de contaminantes, o IAL também pode efetuar, por meio do Centro de Patologia, a avaliação da atividade da colinesterase sanguínea em trabalhadores que manipulam inseticidas à base de organofosforados ou carbamatos por meio de dois tipos de ensaios de colinesterase clinicamente importantes: a acetilcolinesterase eritrocitária (ACh-E) e a butirilcolinesterase (BTCh).

O IAL, além da missão de prestação de serviços à comunidade, é também uma instituição de referência e de pesquisa. Assim, a entrada na área de saúde do trabalhador e, por extensão, em saúde ambiental, permitiu a realização de diversas pesquisas, como o desenvolvimento de projeto sobre os valores basais de contaminantes inorgânicos em fluido biológico (sangue, soro e urina) da população do município de São Paulo – não expostas ocupacional e/ou ambientalmente aos metais. A pesquisa, em caráter multidisciplinar, conta com a colaboração de profissionais de Instituições como a Universidade de São Paulo, Universidade de Campinas e Centro de Vigilância Epidemiológica e visa subsidiar o estabelecimento, na legislação brasileira, de limites para a população com relação à exposição aos contaminantes inorgânicos.

Ainda, recentemente, o CVS desenvolveu um trabalho amplo sobre as condições de trabalho no setor canavieiro. De posse de todas as inspeções realizadas e incluindo os resultados das análises de água realizadas pelo IAL, foi elaborado e publicado um relatório que teve como efeito as resoluções do CVS que regulamentaram as condições de trabalho no setor canavieiro e em frentes de trabalho em geral.

Desta forma, a quebra de paradigmas nos anos 1980 proporcionou ao Instituto a possibilidade de uma atuação mais abrangente em Saúde Pública no

que diz respeito à área de química. O que antes se resumia a análises de amostras passou a incluir os Programas Interlaboratoriais e atualmente o Instituto já se prepara para produzir Materiais de Referência Certificados (MRC).

Para ampliar o campo de atuação na área de saúde ocupacional e ambiental por parte do laboratório e das instituições de vigilância em saúde, são necessárias políticas públicas direcionadas, recursos financeiros, capacitação, investimentos em tecnologias avançadas com alta seletividade, sensibilidade, equipes multidisciplinares para discussão, planejamento e acompanhamento das atividades de monitoramento, investimentos em pesquisas na área que possibilitem a estas instituições ações mais abrangentes dentro do Sistema Único de Saúde.

REFERÊNCIAS

1. Maio FD, Zenebon O, Tiglea P, Okura RIS, Sakuma AAM. Avaliação de critérios estatísticos utilizados em programas interlaboratoriais para pesquisa de chumbo em sangue. Rev Inst Adolfo Lutz. 2006; 65(2):89-93.
2. Santos Filho E, Silva RS, Barretto HHC, Inomata ONK, Lemes VRR, Sakuma AM, et al. Concentrações sanguíneas de metais pesados e praguicidas organoclorados em crianças de 1 a 10 anos. Rev Saúde Pública. 1993; 27(1):59-67.
3. Silva AS, Barretto HHC, Lemes VRR, Kussumi TA. Determinação da exposição humana a hexaclorobenzeno em sítio com resíduos químicos industriais organoclorados na localidade de Samaritá, Município de São Vicente, São Paulo, Brasil. R Ecotoxicol e Meio Ambiente. 1997;7:123-35.
4. Silva AMF, Lemes VRR, Barretto HHC, Oliveira ES, Aleluia IB, Paumgarten FJR. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in edible fish species and dolphins from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. Bull Environ Contam Toxicol. 2003;70:1151-7.
5. De Freitas CU, De Capitani EM, Gouveia N, Simonetti MH, De Paula e Silva MR, Kira CS, et al. Lead exposure in an urban community: investigation of risk factors and assessment of the impact of lead abatement measures. Environ Res. 2007;103(3):338-44.

Rotulagem de aditivos alimentares

Maristela Satou MARTINS

Núcleo de Química, Física e Sensorial – Centro de Alimentos – Instituto Adolfo Lutz

A rotulagem é definida na Resolução RDC nº 259, da ANVISA, de 20 de setembro de 2002, como “toda inscrição, legenda, imagem ou toda matéria descritiva ou gráfica, escrita, impressa, estampada, gravada, gravada em relevo ou litografada ou colada sobre a embalagem do alimento”. Devido à importância da rotulagem de aditivos alimentares, a falta de um compilado das legislações referentes a esta e às várias irregularidades apresentadas nos rótulos, este artigo objetiva descrever as legislações referentes a este assunto, a fim de facilitar o acesso e a interpretação dos mesmos.

No Brasil, a regulamentação, o controle e a fiscalização dos produtos e serviços que envolvam risco à saúde pública, entre estes os aditivos alimentares e sua rotulagem, competem à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, define Aditivo Alimentar como “qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento”. Esta portaria também apresenta as funções dos aditivos alimentares que são:

1. Agente de massa: substância que proporciona o aumento de volume e/ou da massa dos alimentos, sem contribuir significativamente para o valor energético do alimento.

2. Antiespumante: substância que previne ou reduz a formação de espuma.

3. Antiumectante: substância capaz de reduzir as características higroscópicas dos alimentos e diminuir a tendência de adesão, umas às outras, das partículas individuais.

4. Antioxidante: substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa no alimento.

5. Corante: substância que confere, intensifica ou restaura a cor de um alimento.

6. Conservador: substância que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microrganismos ou enzimas.

7. Edulcorante: substância diferente dos açúcares que confere sabor doce ao alimento.

8. Espessantes: substância que aumenta a viscosidade de um alimento.

9. Geleificante: substância que confere textura através da formação de um gel.

10. Estabilizante: substância que torna possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento.

11. Aromatizante: substância ou mistura de substâncias com propriedades aromáticas e/ou sápidas, capazes de conferir ou reforçar o aroma e/ou sabor dos alimentos.

12. Umectante: substância que protege os alimentos da perda de umidade em ambiente de baixa umidade relativa ou que facilita a dissolução de uma substância seca em meio aquoso.

13. Regulador de acidez: substância que altera ou controla a acidez ou alcalinidade dos alimentos.

14. Acidulante: substância que aumenta a acidez ou confere um sabor ácido aos alimentos.

15. Emulsionante/emulsificante: substância que torna possível a formação ou manutenção de uma mistura uniforme de duas ou mais fases imiscíveis no alimento.

16. Melhorador de farinha: substância que, agregada à farinha, melhora sua qualidade tecnológica para os fins a que se destina.

17. Realçador de sabor: substância que ressalta ou realça o sabor/aroma de um alimento.

18. Fermento químico: substância ou mistura de substâncias que liberam gás e, desta maneira, aumentam o volume da massa.

19. Glaceante: substância que, quando aplicada na superfície externa de um alimento, confere uma aparência brilhante ou um revestimento protetor.

20. Agente de firmeza: substância que torna ou mantém os tecidos de frutas ou hortaliças firmes ou crocantes, ou interage com agentes geleificantes para produzir ou fortalecer um gel.

21. Sequestrante: substância que forma complexos químicos com íons metálicos.

22. Estabilizante de cor: substância que estabiliza, mantém ou intensifica a cor de um alimento.

23. Espumante: substância que possibilita a formação ou a manutenção de uma dispersão uniforme de uma fase gasosa em um alimento líquido ou sólido.

Estes aditivos podem ser comercializados como substância única ou serem formulados (misturas ou soluções).

Caso o aditivo seja utilizado como coadjuvante de tecnologia, este não precisa ser declarado no rótulo do alimento, pois deverá ser eliminado ou inativado, admitindo-se apenas traços da substância ou seus derivados no produto final – não será, portanto, consumido por si só como ingrediente alimentar.

Não há uma legislação específica para rotulagem de aditivos alimentares, segundo o Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969, estes devem seguir as

normas que regem o assunto, porém existem alguns itens específicos em algumas legislações.

A Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002, estabelece os princípios gerais e as informações obrigatórias da rotulagem, como: denominação de venda; lista de ingredientes; conteúdos líquidos; identificação da origem; nome ou razão social e endereço do importador, no caso de alimentos importados; identificação do lote; prazo de validade; instruções sobre o preparo e uso do alimento; e declaração de aditivos alimentares na lista de ingredientes. Os aditivos também devem atender à Portaria nº 157, de 19 de agosto de 2002, do INMETRO, que estabelece a forma de expressar o conteúdo líquido dos produtos pré-medidos.

Embora os rótulos dos aditivos alimentares não tenham que atender à Lei 10.674, de 16 de maio de 2003, sobre a presença ou ausência de glúten, seria recomendado que o fizessem, pois estes, se tornarão parte do alimento.

De acordo com a Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003, os aditivos alimentares não necessitam de rotulagem nutricional, pois estes não são consumidos como tal.

Nos casos dos corantes, além das legislações citadas acima, as lacas de corantes deverão atender à Resolução nº 37, da Comissão de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), de 27 de dezembro de 1977, que estabelece que o rótulo deve indicar a concentração em corante puro e o Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965¹, que determina que o rótulo do corante contenha o nome comercial ou sinônimo oficialmente reconhecido e, ainda, a declaração de que se destina a gêneros alimentícios e para a mistura ou solução posta à venda, sua composição qualitativa e quantitativa e, neste caso, deve haver no máximo três corantes. Nos alimentos, o Decreto-Lei nº 986/69 determina que os rótulos que contiverem corantes artificiais deverão trazer na rotulagem a declaração Colorido Artificialmente. Esta determinação também constava do Decreto nº 55.871/65¹ e do Decreto nº

50.040, de 24 de janeiro de 1961², acrescido do art. 11: “É tolerada a adição nos alimentos de, no máximo, 3 (três) corantes”. Portanto, tanto as soluções ou misturas de corantes quanto os alimentos deverão possuir no máximo três corantes.

Devido ao potencial alergênico da tartrazina³, a Resolução RDC nº 340, de 13 de dezembro de 2002, da ANVISA, determina a obrigatoriedade de declarar o nome do corante tartrazina por extenso na rotulagem dos alimentos.

Os rótulos dos aditivos alimentares devem trazer as instruções sobre o modo apropriado de uso e, para isto, deverão atender às legislações específicas dos alimentos a que se destinam, de forma que os limites não ultrapassem o máximo permitido nos alimentos. As legislações estão disponíveis no portal da ANVISA. Estas instruções não devem ser ambíguas nem dar margem a falsas interpretações, a fim de garantir a utilização correta do alimento.

Nos alimentos, os aditivos alimentares devem ser declarados fazendo parte da lista de ingredientes e, após a declaração destes em ordem decrescente, da respectiva proporção, deve constar a função principal do aditivo no alimento e, quando houver mais de um aditivo alimentar com a mesma função, estes poderão ser agrupados por função, assim como deve constar seu nome completo ou seu número de INS (Sistema Internacional de Numeração). Para os casos dos aromas/aromatizantes, declara-se somente a função e, optativamente, sua classificação, conforme estabelecido na Resolução RDC nº 02/2007. O número de INS pode ser consultado nas legislações que estabelecem os limites máximos de aditivos nos alimentos ou na norma de procedimento CAC/GL 36-1989, da Comissão do Codex Alimentarius⁴. A rotulagem deve também atender ao Código de Defesa do Consumidor, que no capítulo 3 – Dos direitos básicos do consumidor, artigo 6º – item III – estabelece que o consumidor tenha direito a “informação adequada e clara sobre os diferentes produtos e serviços, com especificação correta de

quantidade, características, composição, qualidade e preço, bem como sobre os riscos que apresentam”.

Para aromas, as informações específicas estão no item 7 da Resolução RDC nº 02, da ANVISA, de 15 de janeiro de 2007, que aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes. Quanto à rotulagem nos alimentos adicionados de aromas, o Decreto-Lei nº 986/69, no capítulo III, art. 14, estabelece que os rótulos de alimentos adicionados de essências naturais ou artificiais, com o objetivo de reforçar ou reconstituir o sabor natural do alimento, deverão trazer a declaração “Contém Aromatizante” e, no caso de essências naturais, devem também trazer a indicação “sabor de...”, ao passo que os alimentos elaborados com essências artificiais devem trazer a indicação “Sabor Imitação ou Artificial de...”, seguido da declaração “Aromatizado Artificialmente”. Na Resolução RDC nº 2/2007, não há a classificação de aroma imitação que constava da Resolução nº 22/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA)⁵, que foi revogada e que classificava o aroma imitação como aquele em cuja elaboração foi feito uso de: “substância aromatizante natural e/ou substância aromatizante idêntica à natural, presente no produto aromatizante natural, cujo aroma e/ou sabor pretenda imitar, adicionada ou não do produto aromatizante natural correspondente” e “matéria-prima aromatizante natural originária do produto cujo aroma ou sabor pretenda imitar, adicionada de produto aromatizante natural, substância aromatizante natural ou substância aromatizante idêntica à natural”. O Decreto nº 55.871/65¹ também determinava que, nos alimentos contendo essência artificial ou flavorizante sintético, era obrigatória a declaração: “Aromatizado artificialmente”. A Resolução RDC nº 2/2007 inclui os aromatizantes idênticos ao natural na classificação dos aromas sintéticos. A Resolução RDC nº 259/2002 estabelece apenas como declarar os aromas/aromatizantes na lista de ingredientes dos alimentos, sendo que, para as demais declarações, deverão ser observados os estabelecidos no Decreto-Lei nº 986/69,

exposto acima.

A ANVISA publicou em seu portal o informe técnico nº 26, de 14 de junho de 2007⁶, sobre como proceder para rotular os alimentos que contêm aromas em sua composição, como descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Indicação do uso de aromas nos rótulos dos alimentos

Finalidade do aroma no produto	Classificação do aroma	Designação ou painel principal	Painel principal
Definir/conferir sabor a um alimento	Natural	Sabor ...	Contém aromatizante
	Artificial	Sabor artificial de ...	Aromatizado artificialmente
	Idêntico ao natural	Sabor...	Contém aromatizante sintético idêntico ao natural
Reforçar ou reconstituir sabor de um alimento	Natural	Nome do produto	Contém aromatizante
	Artificial	Nome do produto	Aromatizado artificialmente
	Idêntico ao natural	Nome do produto	Contém aromatizante sintético idêntico ao natural
Conferir sabor não específico	A indicação do uso de aroma deve constar na lista de ingredientes conforme determina o item 6.2.4 da Resolução RDC nº 259/2002.		
No caso de mistura de aromas, para a indicação do aroma na rotulagem do alimento deve ser seguida a orientação do item 2.4 da Resolução RDC nº 2/2007.			

Neste informe técnico, foi adicionada uma frase ao painel principal, não estabelecida em legislação, quando o alimento contiver o aroma sintético idêntico ao natural.

A adição de aromas não deve induzir a erro o consumidor e, para isso, a sua presença deve ser sempre indicada corretamente.

O uso de aditivos é indispensável na produção e distribuição de alimentos ao redor do mundo e, com o aumento da variedade de alimentos e a necessidade de importação, o uso destes vem aumentando, devendo, porém, ser utilizados observando-se os princípios fundamentais referentes ao seu emprego – descritos na Portaria nº 540/97, quanto à segurança de uso – quando houver uma vantagem tecnológica e esta não puder ser alcançada por operações de fabricação mais adequadas ou por maiores precauções de ordem higiênica ou operacional, quando não encobrir falhas no processamento e nas técnicas de manipulação, quando interferir sensível e desfavoravelmente no

valor nutricional do alimento, encobrir alteração ou adulteração na matéria-prima ou do produto já elaborado e quando induzir o consumidor a erro, engano ou confusão. A legislação brasileira permite que os aditivos possam ser declarados na lista de ingredientes dos alimentos apenas pelo seu número de INS, porém a maioria dos consumidores desconhece esta identificação e esta legislação deveria ser revista. A rotulagem correta, tanto dos aditivos quanto dos alimentos que os contêm, deve informar e proteger o consumidor, identificando a natureza exata do produto, e não deve ser descrita ou apresentada de maneira que seja falsa, enganosa, leve a erro ou crie uma impressão errônea a respeito de sua natureza, de forma que permita ao consumidor conhecer o que está consumindo e assim fazer a sua escolha.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Decreto nº 55.871, de 26 de mar. de 1965. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 9 abr. 1965.
2. Brasil. Decreto nº 50.040, de 24 de jan. de 1961. Dispõe sobre Normas Técnicas Especiais Reguladoras do Emprego de Aditivos Químicos e Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 28 jan.1961 e retificado no dia 8 fev. 1961.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe técnico nº 30, de 24 de jul. de 2007. Considerações sobre o corante tartrazina. [acesso em: 2012 nov. 29.] Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/070113004bd82928bc02fdb0c0f9d5b29/Informe+T%C3%A9cnico+n%C2%BA+30.pdf?MOD=AJPERES].
4. Codex Alimentarius International Food Standards. [acesso em: 2012 nov. 29.] Disponível em: [www.codexalimentarius.org/input/download/standards/7/CXG_036e.pdf].
5. Brasil. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 22/76. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 mar.1977.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe técnico nº 26, de 14 de junho de 2007. Procedimentos para a indicação do uso de aroma na rotulagem de alimentos.

Anemia: tratamento clássico com o medicamento sulfato ferroso

Helena Miyoco YANO, Cibele Nicolaski PEDRON, Luz Marina TRUJILLO, Valéria Adriana Pereira MARTINS
Núcleo de Ensaios Físico-Químicos em Medicamentos – Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

A anemia é definida como uma redução na concentração de hemoglobina no sangue. A anemia ferropriva é uma doença que pode ser causada por ingestão insuficiente de ferro na dieta, por alteração da absorção intestinal ou do transporte plasmático de ferro e por sangramentos intensos ou aumento da demanda, por exemplo, na gravidez. O ferro é componente da hemoglobina, da mioglobina do músculo, do citocromo C, e outras enzimas, desempenhando uma importante função nos processos de transferência de oxigênio¹. Aproximadamente 2 bilhões de pessoas (mais de 30% da população mundial) são anêmicas, principalmente devido à deficiência de ferro. Constituem grupo de risco para a anemia ferropriva as mulheres em idade fértil, idosos, crianças, adolescentes em fase de crescimento e indivíduos que passaram por cirurgia de redução de estômago. No entanto, caso não haja suprimento adequado de ferro, qualquer indivíduo pode desenvolver a doença². Nos países em desenvolvimento, a anemia é agravada pela malária e pelas verminoses; entre crianças menores de 5 anos, um terço das mortes está ligado à desnutrição; em mulheres grávidas a anemia contribui em 20% de todas as mortes³. A deficiência de ferro pode provocar nascimento prematuro, baixo peso ao nascer, infecções e

elevado risco de morte, além de prejudicar o desenvolvimento físico e cognitivo, resultando em baixo desempenho escolar. Palidez, cansaço, falta de apetite, apatia, palpitações e taquicardia constituem os principais sintomas. Nos estágios mais avançados da doença, ocorrem alterações na pele e nas mucosas (atrofia das papilas da língua e fissuras nos cantos da boca), nas unhas e nos cabelos, que se tornam frágeis e quebradiços⁴. Frequentemente, as doenças infecciosas, inflamatórias, traumáticas ou neoplásicas, que persistem por mais de um ou dois meses, são acompanhadas por uma anemia leve a moderada, denominada de anemia da inflamação ou infecção, ou ainda, anemia de doença crônica. Como tais doenças são numerosas, este tipo de anemia é muito comum, sendo mais prevalente entre indivíduos idosos³.

Estimativas realizadas pela Organização Panamericana de Saúde (OPAS) demonstram que o Peru é o país com maior prevalência de anemia da América Latina, seguido do Caribe e Brasil. No continente americano, aproximadamente 94 milhões de pessoas apresentam anemia ferropriva⁴. No Brasil, 35% das crianças com idade entre 1 e 4 anos encontram-se anêmicas e a proporção em crianças menores de 2 anos situa-se entre 50 a 83,5%. Estudos apontam que a faixa

etária de 6 a 23 meses é a de maior risco para o desenvolvimento desta doença⁵.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS)³, os medicamentos essenciais satisfazem às necessidades de atenção à saúde da maioria da população. São selecionados de acordo com sua relevância em saúde pública, comprovação quanto à eficácia e à segurança comparada aos custos. Esses medicamentos devem estar disponíveis nos sistemas de saúde, em quantidades suficientes, nas formas farmacêuticas apropriadas, com garantia da qualidade e informação adequada, e a preços que os pacientes e a comunidade possam pagar. No Brasil, o Ministério da Saúde é responsável pela publicação da Relação Nacional de Medicamentos (RENAME), que consiste de uma lista com os medicamentos essenciais para tratar das doenças mais comuns na população. Baseados nesta lista, os estados e municípios constroem sua própria relação de medicamentos. Para tratamento da anemia, o medicamento de sal de ferro disponível é o sulfato ferroso, que consta na RENAME nas formas farmacêuticas de comprimido e solução oral, nas dosagens de 40 mg e 25 mg/mL de ferro elementar, respectivamente.

As necessidades diárias normais de ferro são de aproximadamente 5 mg para homens e 15 mg para mulheres e crianças. Em mulheres grávidas, a quantidade de ferro recomendada é de duas a dez vezes maior do que a necessidade do adulto, devido à demanda fetal e ao aumento das necessidades maternas¹.

De acordo com o Programa Nacional de Suplementação de Ferro, que visa avaliar a suplementação medicamentosa de ferro, crianças de 6 a 18 meses devem fazer uso de sulfato ferroso na dosagem de 25 mg de ferro elementar, uma vez por semana, até completarem 18 meses de idade. No caso de gestantes, a partir da vigésima semana, devem utilizar sulfato ferroso na dosagem de 60

mg de ferro elementar e 5 mg de ácido fólico, durante todos os dias até o final da gestação. Para mulheres no pós-parto ou pós-aborto, é recomendado o uso na dosagem de 60 mg de ferro elementar durante todos os dias, até o terceiro mês do pós-parto ou pós-aborto⁶.

Para o controle e a prevenção da anemia temporária em ferro ou anemia ferropriva na população, é fundamental seguir a suplementação de ferro para a eficácia do tratamento.

A assistência médica, a aderência ao tratamento terapêutico, a dose adequada, o período correto de suplementação e o acesso ao medicamento eficaz e seguro são necessários para o retorno ao nível ideal de ferro no organismo e, conseqüentemente, para o restabelecimento da saúde do paciente.

O Instituto Adolfo Lutz tem participado em programas de verificação da qualidade de sulfato ferroso em suas diversas formulações farmacêuticas quanto à conformidade farmacopeica há cerca de oito anos ininterruptamente.

REFERÊNCIAS

1. Rang HP, et al. Rang & Dale Farmacologia. Tradução de Raimundo Rodrigues dos Santos e outros. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
2. World Health Organization – WHO. Genebra; 2002. Disponível em: [<http://www.who.int/>].
3. Carvalho MC, Baracat ECE, Sgarbieri VC. Anemia ferropriva e anemia de doença crônica: distúrbios do metabolismo de ferro. Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas. 2006;13(2):54-63.
4. Freire WB. La anemia por deficiencia de hierro: estrategias de la OPS/OMS para combatirla. Salud Publica Mexicana. 1998;40:199-205.
5. Szarfarc S, Souza SB. Prevalence and risk factors in iron deficiency and anemia. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 1997;47:35-8.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Manual operacional do Programa Nacional de Suplementação de Ferro. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

Avaliação da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e água servidos nas escolas municipais de ensino fundamental e creches do município de Mauá, SP

Silene Maria NUNES, Rute dal COL, Vilma dos Santos Menezes Gaiotto DAROS, Terumi Oyama FUZIHARA
Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas – Centro de Laboratório Regional de Santo André – Instituto Adolfo Lutz

Os alimentos são fundamentais para o desenvolvimento e manutenção do equilíbrio funcional do indivíduo. Em geral esses alimentos são também ótimos substratos para o crescimento de micro-organismos, e a saúde humana pode ser negativamente afetada pela presença de micro-organismos patogênicos ou suas toxinas, portanto é necessário considerar a qualidade sanitária além da qualidade nutricional dos alimentos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e água consumidos pelas crianças que frequentam as Escolas Municipais de Ensino Fundamental e creches do Município de Mauá em relação aos parâmetros microbiológicos e físico-químicos.

Foram encaminhadas ao CLR de Santo André, no período de maio a outubro de 2010, pela VISA-Mauá, 20 amostras de água de abastecimento público e 47 amostras de diferentes tipos de alimentos prontos para o consumo, das quais 24 eram destinadas às crianças com mais de um ano de idade e 23 às crianças com até um ano de idade. A análise físico-química da água (cor, turbidez, fluoreto, pH, cloretos, resíduo seco,

nitrato, nitrito e dureza) foi realizada segundo Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹ e normas de análise microbiológica de alimentos (quantificação de coliformes a 45 °C/*E.coli*, *Bacillus cereus*, estafilococos coagulase positiva, clostrídios sulfito redutores a 46°C, para produtos cárneos e presença /ausência de *Salmonella spp*) – parâmetros estes contemplados na legislação vigente, tendo suas metodologias descritas no Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods².

Os resultados das análises físico-químicas e bacteriológicas das 20 amostras de água estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente³.

Em relação aos alimentos, considerou-se, na apresentação dos resultados, a similaridade da natureza e do processamento do alimento como base para o enquadramento nos grupos de alimentos consumidos pelas crianças. A Tabela 1 mostra os resultados do grupo de alimentos consumidos pelas crianças com mais de 1 ano de idade: 22 (91,6%) estavam de acordo e 2 (8,4%) em desacordo devido à presença de coliformes a 45 °C acima dos limites tolerados pela legislação vigente⁴.

Tabela 1. Alimentos analisados quanto aos ensaios microbiológicos, período de maio a outubro de 2010

Grupos de alimentos	Total de alimentos analisados	Satisfatório		Insatisfatório	
		Nº	(%)	Nº	(%)
À base de carnes	11	11	45,8		
À base de legumes cozidos	3	2	8,3	1	4,2
A base de cereais	1	1	4,2		
À base de verduras cruas	3	3	12,5		
Sobremesas	4	4	16,6		
Sucos <i>in natura</i>	2	1	4,2	1	4,2
TOTAL	24	22	91,6	2	8,4

A Tabela 2 mostra os resultados dos grupos de alimentos consumidos pelas crianças até 1 ano de idade: 18 (78,3%) estavam de acordo e 5 (21,7%) em desacordo, sendo que 1 continha *Staphylococcus aureus* e coliformes a 45 °C/E. coli, 2 *Bacillus cereus* e coliformes totais acima dos limites tolerados pela legislação vigente (Tabela 3).

Tabela 2. Alimentos analisados quanto aos ensaios microbiológicos, período de maio a outubro de 2010

Grupos de alimentos	Total de alimentos analisados	Satisfatório		Insatisfatório	
		Nº	(%)	Nº	(%)
À base de carnes	9	9	39,1		
À base de legumes cozidos	2	1	4,4	1	4,3
À base de cereais	4	4	17,4		
Mamadeiras	8	4	17,4	4	17,4
TOTAL	23	18	78,3	5	21,7

Tabela 3. Micro-organismos responsáveis pelo resultado insatisfatório das amostras

Grupos de Alimentos	Micro-organismos				
	Coliformes totais	Coliformes a 45° C	E.coli	B.cereus	S.aureus
À base de legumes cozidos	-	1	-	-	-
Suco <i>in natura</i>	-	1	-	-	-
Mamadeiras	2	1	1	2	1

A presença de coliformes a 45 °C e *Staphylococcus aureus* indica que houve contaminação pós-processo, evidenciando práticas de higiene fora dos padrões mínimos de segurança. Em relação ao *Bacillus cereus*, sua presença é comum em baixos níveis (<10²) nos alimentos, portanto seu controle é pela prevenção da germinação de esporos e multiplicação em alimentos cozidos⁵.

Diante dos resultados, pode-se concluir que são importantes treinamentos periódicos dos manipuladores em Boas Práticas de Produção Alimentar para assegurar a qualidade dos alimentos.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo: IAL; 1985.
2. Vanderzant C, Splittstoesser DF. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3. ed. Washington, DC. American Public Health Association (APHA). 1992.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Diário Oficial [da] União, Brasília - DF, seção 1, p. 266-70, 26 de março de 2004.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] União, Brasília - DF, nº 7-E, seção 1, p. 45-53, 10 de janeiro de 2001.
5. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed; 2002.

Instituto Adolfo Lutz: produtor de materiais de referência de água para controle da qualidade e incentivo à cultura metrológica no país

Alice Momoyo SAKUMA, Maria Cristina DURAN,
Camila Cardoso de OLIVEIRA, Miriam Solange
Fernandes CARUSO e Daniel GRANATO
Centro de Materiais de Referência – Instituto Adolfo Lutz

O Instituto Adolfo Lutz (IAL) é uma instituição de pesquisa da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria da Saúde do Governo do Estado de São Paulo e integra a Rede Estadual de Laboratórios de Saúde Pública do Estado, para Vigilância Sanitária, Epidemiológica e Ambiental. É o laboratório de referência do Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano do Estado de São Paulo (PRO-ÁGUA) e coordena 19 laboratórios da Rede de Saúde Pública de São Paulo, responsáveis pela maioria dos ensaios realizados para o Programa. Neste contexto, o IAL estabeleceu políticas para produção e distribuição de materiais de referência (MRs) para ensaios de água para o consumo, com a qualidade requerida para este propósito e para o uso dos laboratórios prestadores de serviços às Vigilâncias e interessados da Rede SIBRATEC de Laboratórios de Saneamento e Abastecimento de Água (RESAG), em âmbito nacional.

Mundialmente, os pesquisadores têm incorporado o controle da qualidade de seus resultados na condução de pesquisas e ensaios de rotina. As principais agências internacionais de saúde pública reconhecem a extraordinária importância do uso regular de materiais de

referência como ferramentas poderosas para identificar problemas analíticos e demonstrar competência nos processos de avaliação dos organismos de acreditação.

No Brasil, as disposições legais definem a necessidade da aplicação dos requisitos das normas para competência de laboratórios de ensaios. A Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) do Ministério da Saúde, com o objetivo de implementar a política nacional de gestão da qualidade para os laboratórios analíticos que realizam análises em produtos sujeitos à Vigilância Sanitária, estabeleceu na Resolução RDC nº 11, de fevereiro de 2012¹, que os laboratórios garantam a implantação de procedimentos de controle interno da qualidade para monitorar e assegurar a validade das análises. Portanto, o fornecimento de MRs no país é essencial para o crescimento da cooperação entre laboratórios, organismos de acreditação e autoridades regulamentadoras.

O IAL alinha-se à demanda metrológica do setor de saúde e dá um passo importante nesta direção, lançando a proposta de fornecer programas de comparação interlaboratorial e produzir materiais de referência para ensaios de ânions e cátions em

água: nitrato, fluoreto, chumbo, cádmio, ferro, zinco, cromo, alumínio, cálcio, cobre, bário e manganês, com o apoio de organismos de fomento à pesquisa: FAPESP – Fundação de Auxílio à Pesquisa do Estado de São Paulo e FINEP/RESAG - Rede SIBRATEC de Laboratórios de Saneamento e Abastecimento de Água. Para isto, a Instituição se compromete com a busca do reconhecimento do organismo de acreditação do país e tem como meta a implantação de um sistema eficaz de gestão da qualidade, com base nos requisitos da norma internacional para competência dos laboratórios de ensaio, ABNT NBR ISO/IEC 17.025², combinados com os requisitos técnicos e gerenciais da ABNT ISO Guia 34³ para os produtores de materiais de referência.

Esta nova competência do IAL tem o objetivo principal de propiciar os benefícios do uso destes materiais no controle da qualidade dos resultados dos ensaios, uma vez que os MRs podem ser utilizados para calibração de instrumentos de medição, controle interno da qualidade e validação de métodos.

O uso regular de materiais de referência é limitado em alguns laboratórios brasileiros por escassez de produtores nacionais. Os profissionais enfrentam dificuldades no processo de importação, por questões cambiais e custo elevado na sua origem. O alto custo dos MRs é um problema presente mesmo no plano internacional, ainda

que alguns produtores da União Europeia tenham subsídios governamentais para esta atividade, como por exemplo, *Standards Measurements and Testing – SM&T*, ou *Valid Analytical Measurement – VAM*, do Reino Unido⁴.

A distribuição de MR nacional para ensaios de cátions (arsênio, chumbo, cádmio, cromo, berílio, alumínio, manganês, níquel, cobre, zinco, tálio, magnésio, selênio e cálcio) e ânions (fluoreto e nitrato) em água para o consumo permitirá a ampliação do uso destes materiais no país, favorecendo a análise crítica da validade dos resultados dos ensaios, a identificação de problemas nos laboratórios e a realização das ações corretivas para a melhoria do desempenho analítico dos laboratórios das Redes envolvidas.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 11/2012, de 16 de fevereiro de 2012. Dispõe sobre Funcionamento de laboratórios analíticos que realizam análises em produtos sujeitos à Vigilância Sanitária. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 22 fev. 2012.
2. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR/ISO/IEC 17.025 - Requisitos gerais para competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração. Rio de Janeiro; 2005.
3. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO Guia 34 – Requisitos Gerais para Competência de Produtores de Material de Referência. Rio de Janeiro.
4. Klich H. CRMs funding – Real costs versus real needs. *Accred. Qual. Assur.* 1998;(3):35-6.

Avaliação da exatidão de um método analítico usando material de referência certificado

Camila Cardoso de OLIVEIRA¹, Daniel GRANATO¹,
Alice Momoyo SAKUMA¹, Maria Cristina DURAN¹,
Miriam Solange Fernandes CARUSO¹, Maria de Fátima
Henriques CARVALHO², Marcia Liane BUZZO²

¹Centro de Materiais de Referência – Instituto Adolfo Lutz

²Núcleo de Contaminantes Inorgânicos – Centro de Contaminantes
– Instituto Adolfo Lutz

Na validação de métodos de ensaio e no controle da qualidade analítica dos resultados, o uso de materiais de referência certificados (MRCs) é a forma mais adequada para avaliar a exatidão. Para esta avaliação, compara-se a diferença entre o valor médio dos resultados das medições efetuadas no MRC e o valor certificado com a incerteza expandida dessa diferença. A incerteza expandida é obtida por meio da incerteza combinada dos valores certificado e medido^{1,2}.

Expressão de resultados

Todo resultado de medição está associado a uma incerteza³. Assim, o resultado de uma medição só pode ser conhecido dentro dos limites dessa incerteza.

A incerteza padrão do valor de referência (u_{MRC}) é obtida dividindo-se a incerteza expandida do valor de referência (U_{MRC}) pelo fator de abrangência, ambos indicados no certificado do MRC. Geralmente, o fator de abrangência é igual a 2, pois considera um intervalo de confiança de, aproximadamente, 95%.

Para estimar a incerteza associada a cada medição (u_m), são necessários: conhecimentos de todas as particularidades do método analítico para identificação das prováveis fontes de incerteza; manutenção e calibração de equipamentos; utilização de reagentes adequados; emprego de materiais de referência apropriados, quando disponíveis, etc.

Na falta de cálculos de incerteza completos, existem várias aproximações de u_m , como:

1. O desvio padrão em condições de precisão intermediária;
2. O desvio padrão em condições de reprodutibilidade, por exemplo, dos relatórios de certificação ou de uma comparação interlaboratorial;
3. O desvio padrão das medições em condições de repetibilidade.

Comparação dos resultados do laboratório com o valor certificado

Para avaliar a exatidão do método usando um MRC, o analista deve:

- Efetuar medições em um MRC;
- Calcular o valor médio dessas medições (C_m);

- Calcular o valor absoluto da diferença entre o valor médio medido e o valor certificado (Δ_m) por meio da Equação 1:

$$\text{Equação 1: } \Delta_m = |C_m - C_{MRC}|,$$

em que C_{MRC} = valor certificado do MRC;

- Calcular a incerteza padrão de Δ_m ($U_{\Delta m}$) conforme a Equação 2:

$$\text{Equação 2: } u_{\Delta m} = \sqrt{u_m^2 + u_{MRC}^2},$$

em que u_m = incerteza padrão dos resultados da medição e u_{MRC} = incerteza do valor certificado;

- Calcular a incerteza expandida de Δ_m ($U_{\Delta m}$) por meio da Equação 3:

$$\text{Equação 3: } U_{\Delta m} = 2 \cdot u_{\Delta m}$$

Interpretação dos resultados

Se a diferença entre o resultado da medição e o valor certificado for menor ou igual à sua incerteza expandida, ou seja, se $\Delta_m \leq U_{\Delta m}$, conclui-se que o método apresenta exatidão adequada. A Figura 1 mostra que o método apresenta bias dentro dos limites da incerteza.

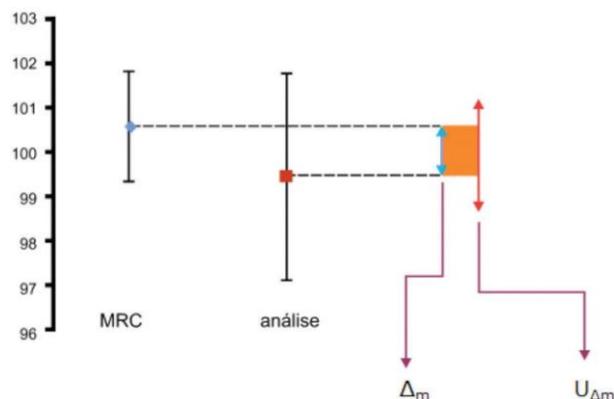


Figura 1. Interpretação de resultados

Comentários

O procedimento apresentado é recomendado pela norma ABNT ISO Guia 33: 2002 para a avaliação da exatidão. Desta forma, os analistas devem, sempre que possível, utilizar MRCs, pois fornecem valores certificados com rastreabilidade e incertezas associadas obtidas por procedimentos válidos, ou seja, de acordo com a norma ABNT ISO Guia 34: 2012 para a competência de produtores de MRC.

REFERÊNCIAS

1. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO Guia 33- Utilização de materiais de referência certificados. Rio de Janeiro; 2002.
2. Linsinger T. Application note 1: Comparison of a measurement result with the certified value. European Reference Materials; 2010.
3. International Organization for Standardization. ISO/IEC Guide 98-3 - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). Genebra; 2008.
4. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO Guia 34 – Requisitos Gerais para Competência de Produtores de Material de Referência. Rio de Janeiro; 2002.

Avaliação dos teores de gorduras totais, saturadas e *trans* em empanados de frango

**Márcia Regina Pennacino do AMARAL-MELLO¹,
Emy TAKEMOTO¹, Regina Sorrentino MINAZZI-
RODRIGUES¹, Miriam Solange Fernandes CARUSO²,
Sabria AUED-PIMENTEL¹, Simone Alves da SILVA³**

¹Núcleo de Química, Física e Sensorial – Centro de Alimentos – Instituto Adolfo Lutz

²Núcleo de Programas Interlaboratoriais – Centro de Materiais de Referência – Instituto Adolfo Lutz

³Núcleo de Contaminantes Orgânicos – Centro de Contaminantes – Instituto Adolfo Lutz

Nas últimas décadas, o perfil alimentar do consumidor vem se alterando. Devido à participação cada vez maior da mulher no mercado de trabalho, à globalização e ao crescimento populacional, a procura por alimentos industrializados cresce a cada dia¹. Entre estes alimentos, encontram-se os empanados de frango tipo *nuggets*, em razão da facilidade de preparo e boa aceitação por pessoas em diferentes faixas etárias².

Por outro lado, o consumo excessivo de alimentos industrializados, aliado ao sedentarismo, está diretamente relacionado ao sobrepeso, a distúrbios cardiovasculares e a outras doenças crônicas não transmissíveis. Boa parte destes produtos apresentam elevado valor energético, com quantidades significativas de gorduras totais (GT), saturadas (AGS) e *trans* (AGT)¹. Desta forma, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) tem desencadeado ações a fim de que os consumidores estejam mais atentos às informações presentes nos rótulos dos alimentos, possibilitando a escolha de produtos mais saudáveis.

Os principais regulamentos técnicos relacionados à rotulagem nutricional de alimentos embalados, em vigor no país, são as Resoluções RDC nº 359/03 e 360/03, da ANVISA. A primeira trata das porções dos alimentos, enquanto a segunda exige a declaração de GT, AGS e AGT, dentre outros nutrientes, permitindo uma variabilidade de $\pm 20\%$ dos teores declarados na informação nutricional em relação aos obtidos experimentalmente^{3,4}. Para alimentos embalados de origem animal, a Instrução Normativa (IN) nº 22/05 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento⁵ aprova o regulamento para a rotulagem, que deve ser aplicada de forma complementar às citadas anteriormente. Ainda em relação à rotulagem nutricional, de acordo com a recomendação da ANVISA, o apelo “0% de gordura *trans*” poderá ser usado nos rótulos desde que os alimentos contenham, por porção, valores máximos de 2,0 g de AGS e 0,2 g de AGT.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os teores de gorduras totais, saturadas e *trans* em empanados de frango tipo *nuggets*. Foram analisadas 12 amostras, de 6 diferentes marcas, colhidas no comércio do Estado

de São Paulo pelas Vigilâncias Sanitárias Municipais e enviadas para análise no Instituto Adolfo Lutz, entre outubro e novembro de 2010. As gorduras totais foram determinadas por gravimetria, após extração pelo método de Soxhlet, utilizando-se éter etílico. Os ácidos graxos foram transformados em ésteres metílicos de ácidos graxos por reação de transesterificação, analisados em cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama e quantificados por padronização interna⁶. Para a avaliação dos dizeres de rotulagem, foram utilizadas como referência a IN n° 22/05 e as RDCs n° 359/03 e n° 360/03^{3,4,5}.

A Tabela 1 apresenta as amostras numeradas, marcas codificadas, teores de GT, AGS e AGT declarados na informação nutricional e resultados experimentais obtidos em 130 g, porção destinada para este produto³. Quanto às gorduras totais e saturadas, os valores variaram de 13,8 a 22,2 e de 3,0 a 6,8 g/porção, respectivamente, e todos os resultados estavam dentro da variabilidade de $\pm 20\%$. Os valores encontrados para gorduras *trans* foram de 0,06 g a 1,17 g/porção. A amostra 4 apresentou o maior valor e estava 134% superior ao declarado. Os valores de gorduras totais foram condizentes com

os encontrados por Tanamati e colaboradores² (13,6-24,3 g/130 g) e superiores para as gorduras saturadas (2,3-4,5 g/130 g).

Os valores médios encontrados na porção para GT e AGS foram de 18,8 e 5,0 g, correspondendo respectivamente a 34 e 23% dos valores diários de referência (VDR) com base em uma dieta de 2.000 kcal⁴. Para as *trans*, não existe o VDR, mas a OMS recomenda que a ingestão diária máxima não exceda 1% do valor energético da dieta, equivalente a 2,0 g; considerando o valor médio encontrado para AGT de 0,2 g/porção, é equivalente a 10% do preconizado.

Quanto aos dizeres de rotulagem, 4 (quatro) amostras apresentaram-se insatisfatórias: uma por não constar a identificação do lote (amostra 5); uma por apresentar a informação nutricional na porção de 100 g (amostra 8); e duas por apresentarem no painel o apelo “0% de gordura *trans*” e não declararem na informação nutricional os demais teores de gorduras, incluindo monoinsaturadas, poli-insaturadas e colesterol (amostras 8 e 11), conforme exigido pela legislação⁴.

Pode-se verificar que estes produtos contêm quantidades significativas de gorduras totais, sendo

Tabela 1. Gorduras totais, saturadas e *trans*: valores declarados na informação nutricional e resultados experimentais na porção de 130 g

Amostra	Marca	(g/porção de 130 g)									
		Informação Nutricional			Resultados experimentais						
		GT	AGS	AGT	GT		AGS		AGT		
			Média	DP	Média	DP	Média	DP			
1	A	23,7	5,7	0	21,9	0,2	4,6	0,2	0,07	0,02	
2	B	21	7,2	0	20,6	0,1	5,7	0,3	0,06	0,01	
3	A	23,7	5,7	0	20,9	0,3	6,1	0,4	0,26	0,02	
4	C	15	3,7	0,5	15,0	0,1	3,0	0,2	1,17	0,11	
5	D	21	7,3	0	21,6	0,2	6,8	0,1	0,11	0,02	
6	A	23,7	5,1	0	22,2	0,1	4,9	0,1	0,20	0,02	
7	A	23,7	5,1	0	21,9	0,1	4,0	0,4	0,10	0,01	
8	E	28,7	6,3	0	21,9	0,1	5,3	0,1	0,12	0,03	
9	D	16	6,5	0	14,0	0,1	5,2	0,3	0,08	0,02	
10	D	14	6,1	0	15,1	0,1	5,4	0,1	0,12	0,01	
11	F	16	5,7	0	16,9	0,1	4,6	0,1	0,14	0,01	
12	D	17	5,6	0	13,8	0,2	5,2	0,3	0,13	0,05	

GT: gorduras totais, AGS: gorduras saturadas, AGT: gorduras *trans*, DP: desvio-padrão

que aproximadamente 30% destas correspondem à gordura saturada. Existe ainda a possibilidade de estes valores aumentarem dependendo das condições de preparo a que o empanado é submetido, como, por exemplo, a fritura por imersão. Além disso, o consumo pode ser superior à porção sugerida. Portanto, este é um tipo de alimento que deve ser consumido com moderação.

REFERÊNCIAS

1. Barros RR. Consumo de alimentos industrializados e fatores associados em adultos e idosos residentes no Município de São Paulo [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2008.
2. Tanamati AAC, Aguiar AC, Boroski M, Montanher PF, Souza NE, Godoy HT, et al. Proximate composition and quantification of fatty acids in breaded chicken steak. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2011; 31(1):178-83.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 359, de 23 dez. 2003. Regulamento técnico sobre porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. *Diário Oficial [da] União, Brasília, DF*, 26 dez. 2003.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 dez. 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. *Diário Oficial [da] União, Brasília, DF*, 26 dez. 2003.
5. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22, de 24 nov. 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico para rotulagem de produto de origem animal embalado. *Diário Oficial [da] União, Brasília, DF*, 25 nov. 2005.
6. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Estado de São Paulo. Expansão da endemia na região de São José do Rio Preto-SP

Denise Maria Bussoni BERTOLLO³, Mônica Regina BOCCHI², José Eduardo TOLEZANO¹, Roberto Mitsuyoshi HIRAMOTO¹

¹Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz

²Grupo de Vigilância Epidemiológica 29, São José do Rio Preto

³Centro de Laboratório Regional de São José do Rio Preto, Instituto Adolfo Lutz

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma zoonose que afeta animais e o ser humano, causada por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e transmitida por insetos vetores conhecidos como flebotomíneos, sendo *Lutzomyia longipalpis* o principal transmissor no Brasil¹.

A doença está descrita em vários municípios de todas as regiões do país. No Brasil, a LVA está presente em 21 dos 27 estados. As leishmanioses são consideradas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) entre as seis doenças de maior importância, perdendo apenas para a malária, em número de casos entre as protozooses². Estimativas da OMS indicam um contingente superior a 350 milhões de pessoas expostas ao risco de transmissão de leishmaniose, e mais de 12 milhões de indivíduos em todo o mundo devem estar infectados por *Leishmania*³.

Na segunda metade dos anos 1990, a epidemia chegou a Corumbá, Campo Grande e à divisa do Estado de São Paulo. Da fronteira, seguindo o curso do rio Tietê, a LVA avança cerca de 30 km por ano em direção à capital. Em sua expansão, acompanhou

a rota do gasoduto Bolívia-Brasil, na mesma rota do rio Tietê e da rodovia BR-262, que liga Corumbá ao Espírito Santo.

Desde a identificação da presença do inseto vetor em 1997, da doença em cães em 1998 e do primeiro caso humano em Araçatuba em 1999, a LVA se estabeleceu no estado e se expandiu seguindo um eixo principal coincidente com o trajeto da rodovia Marechal Rondon (SP-300), a principal via de conexão entre o Mato Grosso do Sul e a capital paulista. Em quase quatorze anos de história da LVA em São Paulo, o Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo (CVE/SP) registrou 1.808 casos em 69 municípios, com 159 óbitos⁴.

Desde as primeiras notificações da LVA autóctone no Estado, na região de Araçatuba, em 1999, foi desencadeado um inquérito amostral canino para identificação da área total de transmissão num raio de 150 km em torno de Araçatuba, o qual mostrou que, na região de São José do Rio Preto, ainda não havia transmissão de LVA. Posteriormente, foram mantidas ações para o monitoramento e vigilância para a detecção do vetor, de casos caninos

e humanos na região, que inclui um total de 101 municípios, à margem direita do rio Tietê.

Foram realizados levantamentos de dados a partir do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) – Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), dados laboratoriais do Sistema Integrado de Gestão Hospitalar (SIGH) e Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN). Os dados foram tabulados utilizando TabWin para análise descritiva e PowerPoint para distribuição geográfica, com o objetivo de demonstrar a expansão da leishmaniose visceral na região de São José do Rio Preto, no período de 2007 a 2012.

Em 2007, foi confirmado o primeiro caso de LVA no município de Jales. No período de 2007 a julho de 2012, segundo dados do SINAN – CVE/SP e da SUCEN, foram notificados ao Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE) – Jales 30 casos humanos, sendo: 20 em Jales, com 4 óbitos; 8 em Santa Fé do Sul, com 1 óbito; 1 em Urânia; e 1 caso em Aparecida D'Oeste, sendo que, nos quatro municípios, confirmou-se também a presença de vetores e casos caninos.

Em Votuporanga, foi notificado 1 caso confirmado autóctone em 2009, 2 em 2010, 7 em 2011 e 12 até julho de 2012.

Em 2009, o vetor foi detectado nos municípios de Votuporanga, Aspásia, Santa Salete, Marinópolis e Santana da Ponte Pensa. Em Palmeira D'Oeste, além do vetor, também foram detectados cães positivos. Em 2010, foram diagnosticados casos caninos em Votuporanga e em Santana da Ponte Pensa. Em 2011, houve a confirmação de caso humano, canino e a presença do vetor em Votuporanga e Aparecida D'Oeste. Foi detectado presença de vetor no município de Valentim Gentil.

Houve uma ampliação da área de transmissão da LVA: em 2008, havia detecção de alguma forma

da doença (casos humanos e/ou caninos) em dois municípios e, no final do período de estudo, a doença havia se expandido para nove cidades, apontando para uma tendência de agravamento da situação epidemiológica na região, como podemos observar na breve série histórica representada na Figura 1. A análise dos casos humanos demonstrou que esta acomete em maior número pessoas com idade acima de 60 anos do sexo masculino. O critério diagnóstico foi predominantemente laboratorial. A letalidade geral de 8,6% foi ligeiramente superior à do Estado de São Paulo para o período de 2007 a 2011.

A hipótese de expansão da LVA na rota do gasoduto Bolívia-Brasil é coerente com a evolução apresentada na região. A constatação de expansão geográfica na região entre 2008 e 2011 aponta para algumas lacunas de conhecimento que devem ser pesquisadas, particularmente sobre a existência da doença anteriormente à data inicial de detecção e sobre a situação da doença no espaço geográfico localizado entre Jales e Votuporanga. É ainda necessário esclarecer se, nessa área, não ocorre transmissão e qual seria o motivo para tal sorte, ou se há necessidade de aumento da sensibilidade do sistema de vigilância.

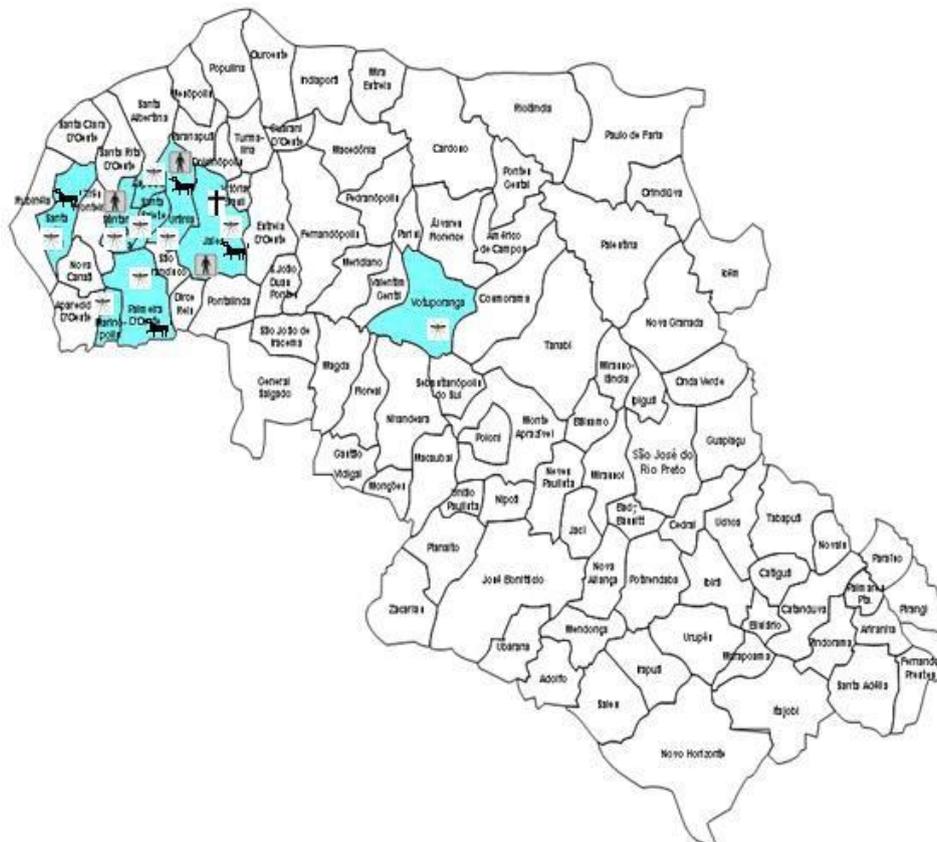
REFERÊNCIAS

1. Estado de São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Manual de vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo. São Paulo; 2006.
2. Comitê OMS d'experts sur la lutte contre la leishmanioses. Lutte contre les leishmanioses: rapporte d'un Comitê OMS d'experts. Organization mondiale de la Santé. Série de rapports techniques. Genebra; 1990. p. 793.
3. Desjeux P. The increase risk for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001;95:239-41.
4. Leishmaniose Visceral Americana. São Paulo-SP: Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/zoo/lvah_auto9904.htm. [acesso 22 set 2011].

2008



2009



Instrução para Publicação

A matéria para publicação deverá apresentar a seguinte estrutura:

- Nome do(s) autor(es) completo por extenso, último sobrenome em caixa alta.
- Filiação científica completa (Instituto Adolfo Lutz - mais complemento).
- Texto deve ser:
 - apresentado de forma única, podendo conter introdução, método, dados experimentais e outros;
 - digitado em fonte Times New Roman, tamanho 12 e espaço duplo, em formato Word, ocupando no máximo 3 (três) laudas de tamanho A4;
 - redigido em Língua Portuguesa;
 - quando necessário o uso de tabelas e figuras, elas deverão ser autoexplicativas e numeradas;
 - as tabelas serão apresentadas com o título acima e as figuras, com o título abaixo; ambas deverão ser enviadas em arquivo separado, sendo as figuras no formato jpeg ou tif, com resolução mínima de 300 dpi.
- Referências devem ser:
 - numeradas consecutivamente na ordem em que forem mencionadas a primeira vez no texto e identificadas por numerais arábicos sobrescritos e relacionados em ordem crescente;
 - citadas seguindo Vancouver Style, à semelhança da RIAL e conforme disponível em: <<http://revista.ial.sp.gov.br>> (instruções aos autores);
 - no máximo seis.

A matéria deverá ser enviada em uma cópia impressa e em CD-Rom ou pelo endereço eletrônico: bial@saude.sp.gov.br

Toda informação é de total responsabilidade do(s) autor(es).

A publicação de qualquer matéria estará condicionada à aprovação dos membros do corpo editorial do Boletim do Instituto Adolfo Lutz (BIAL).

Fica autorizada a reprodução das matérias publicadas no BIAL, desde que citada a fonte.

Finalidade

Divulgação de informações técnicas e assuntos de interesse em Saúde Pública originários de atividades desenvolvidas pelo Instituto Adolfo Lutz.

Regulamento

O BIAL publica as matérias de interesse em Saúde Pública enquadradas em um dos itens abaixo:

1. Relatos sucintos de investigação com ênfase a aspectos relativos às ações laboratoriais.
2. Informações sobre dados levantados a partir de registros existentes nos Laboratórios do Instituto.
3. Notas e informações relativas a temas de atualidades.
4. Nótulas de literatura: comentários críticos sobre livros e artigos científicos.

Assessoria Editorial:

TIKInET
www.tiki.net.br/tiki/

