

ISSN 1984-235X

Boletim do Instituto Adolfo Lutz

Bol Inst Adolfo Lutz. 2011: ano 21, n. 1, p.1-53



Diretor-Geral do Instituto Adolfo Lutz

Dr. Alberto José da Silva Duarte

Coordenadora

Domingas M. A. G. Vieira Torres

Membros do Corpo Editorial

Cristina Takami Kanamura

Divani Maria Capuano

Julia Maria Martins de Souza Felipe

Maria Anita Scorsafava

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

Editorial

O Boletim do Instituto Adolfo Lutz (BIAL), uma das publicações da Instituição, tem por objetivo publicar matérias relacionadas a temas de interesse em Saúde Pública, na forma de relatos sucintos de investigações e suas ações laboratoriais, informações de levantamento de dados de registros dos Laboratórios do Instituto, notas sobre temas da atualidades e comentários críticos sobre livros e artigos científicos relacionados às diferentes áreas de atuação do IAL.

Uma outra divulgação, de suma importância, refere-se às premiações recebidas pelos funcionários da Instituição por trabalhos relevantes em suas áreas de atuação.

Nesta edição, o Corpo Editorial do BIAL cumprimenta a equipe do Laboratório de Citologia Oncótica do Núcleo de Anatomia Patológica, do Centro de Patologia, por terem sido agraciados com o Prêmio “Menção Honrosa” na categoria Excelência em Gestão Pública da 7ª edição do Prêmio Governador Mário Covas (2011) com o trabalho intitulado: “Monitoramento externo de qualidade: experiência de 10 anos no Laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz.” Parabéns a todos.

Como estou me despedindo em virtude de minha aposentadoria em breve, deixo um artigo que achei interessante e muito bom para reflexão, de Max Gehringer.

AMIGOS DE CARREIRA...

Aos meus amigos de coração e profissionais.

Existem cinco estágios em uma carreira

- 1. "O primeiro estágio é aquele em que um funcionário precisa usar crachá, porque quase ninguém na empresa sabe o nome dele.*
- 2. No segundo estágio, o funcionário começa a ficar conhecido dentro da empresa e seu sobrenome passa a ser o nome do departamento em que trabalha. Por exemplo, 'José de contas a pagar.'*
- 3. No terceiro estágio, o funcionário passa a ser conhecido fora da empresa e o nome da empresa se transforma em sobrenome. 'José da usina tal.'*
- 4. No quarto estágio, é acrescentado um título hierárquico ao nome dele: 'José, Gerente da usina tal.'*
- 5. Finalmente, no quinto estágio, vem a distinção definitiva. Pessoas que mal conhecem o José passam a se referir a ele como 'o meu amigo José, Gerente da usina tal'. Esse é o momento em que uma pessoa se torna, mesmo contra sua vontade, 'um amigo profissional'.*

(Continua na próxima página)

Existem algumas diferenças entre um amigo que é amigo e um amigo profissional.

Amigos que são amigos trocam sentimentos. Amigos profissionais trocam cartões de visita.

Uma amizade dura para sempre. Uma amizade profissional é uma relação de curto prazo e dura apenas enquanto um estiver sendo útil ao outro.

Amigos de verdade perguntam se podem ajudar. Amigos profissionais solicitam favores.

Amigos de verdade estão no coração. Amigos profissionais estão em uma planilha.

É bom ter uma penca de amigos profissionais. É isso que, hoje, chamamos networking, um círculo de relacionamentos puramente profissional.

Mas é bom não confundir uma coisa com a outra.

Amigos profissionais são necessários.

Amigos de verdade, indispensáveis.

Imagine você um dia descobrir que tinha bem mais amigos do seu cargo do que da sua pessoa!

Algum dia, e esse dia chega rápido, os únicos amigos com quem poderemos contar serão aqueles poucos que fizemos quando amizade era coisa de amadores e não de profissionais.

Por isso, preservem as amizades verdadeiras porque os amigos da tua posição desaparecerão, os amigos da sua pessoa permanecerão do teu lado.”

Max Gehringer

Abraços a todos e agradecimentos ao Corpo Editorial pela colaboração e pela preciosa e imprescindível ajuda a todo instante, da amiga Rocely A. Bueno Moita, do Núcleo de Acervo do IAL.

Domingas M. A. G. Vieira Torres
Coordenadora do BIAL

Sumário

07	Prêmio “Menção Honrosa” na categoria excelência em gestão pública da 7ª edição do prêmio Governador Mário Covas (2011) com o trabalho intitulado: Monitoramento externo de qualidade: experiência de 10 anos no Laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz
09	Avaliação de cápsulas manipuladas de sinvastatina por análise térmica (DSC) e CLAE-UV
12	Qualidade microbiológica de águas minerais envasadas comercializadas na região Noroeste do Estado de São Paulo
14	Determinação de nutrientes minerais em extrato bruto liofilizado e amostra bruta de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> Berg por fluorescência de Raios X
16	Transmissão de micro-organismos por formigas urbanas: um problema de saúde pública
18	A importância da dosagem de Adenosina Deaminase (ADA)
21	Determinação de ferro na água de abastecimento na grande São Paulo no período de 2007 a 2009
24	Relato de caso: subdosagem de Bromazepam em cápsulas manipuladas
26	Conjuntivite bacteriana na região de Ribeirão Preto - São Paulo
28	Principais micro-organismos encontrados em corrimento endocervical e uretral Ribeirão Preto-SP
30	Identificação de <i>Ginkgo biloba</i> em cápsulas manipuladas de <i>Uncaria tomentosa</i> (unha-de-gato) – Estudo de caso
33	Acidentes de trabalho com material biológico entre trabalhadores do setor de Saúde no DRS X (Departamento Regional de Saúde X) de Piracicaba/SP, ocorridos entre os anos de 2005 e 2008
35	<i>Bacillus cereus</i> em alimento oferecido em festa típica popular no interior do Estado de São Paulo
37	Desenvolvimento e validação de método para determinação simultânea de testosterona, metil e propionato de testosterona por cromatografia líquida de alta eficiência por CLAE-UV
41	Avaliação e implantação preliminar da técnica de Saccomanno no preparo de amostras de escarro na prevenção do câncer de pulmão
44	Avaliação dos casos de dengue diagnosticados no Centro de Laboratório Regional de Taubaté (CLR XII), no período de 2009 a 2010
47	É realmente necessário utilizar animais de laboratório para garantir a segurança de produtos de higiene descartáveis?
49	Prevalência da coinfeção HIV/sífilis em pacientes oriundos de municípios atendidos pelo Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V), do Instituto Adolfo Lutz
52	Avaliação da eficiência de colunas de imunoafinidade para determinação de Ocratoxina A em amostras de café solúvel

Prêmio “Menção Honrosa” na categoria excelência em gestão pública da 7ª edição do Prêmio Governador Mário Covas (2011) com o trabalho intitulado: Monitoramento externo de qualidade: experiência de 10 anos no laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz

Daniela ETLINGER¹, Sonia Maria Miranda PEREIRA¹, Luzia Setuko Umeda YAMAMOTO¹, Neuza Kasumi SHIRATAI¹, Yuriko Ito SAKAI¹, Luciana Silva AGUIAR¹, Camilo de Leis FERES¹, Rosemeire Oliveira Lima RODRIGUES¹, Silvia D'andretta IGLESIAS¹, William Marques PIRANI¹, Lisa Cristina CURY², José Antonio MARQUES², Rosângela Santos de ARAUJO¹, Rosana Astoni AMBRUS¹, Vera Lúcia da SILVA¹, Celso di LORETO¹
¹Laboratório de Citologia Oncótica, Núcleo de Anatomia Patológica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz
²Fundação Oncocentro de São Paulo e Laboratórios Prestadores de Serviço ao SUS/SP

A pesar de o exame de Papanicolaou ser o método mais utilizado para o rastreamento do câncer de colo do útero, desde o início da década de 80 tem sofrido uma série de críticas relacionadas à alta proporção de resultados falso-negativos, que variam de 2 a 62%. As principais causas são atribuídas a erros de coleta de material, escrutínio do esfregaço e interpretação dos diagnósticos. Os controles interno e externo de qualidade na rotina dos laboratórios tem como objetivo final melhorar a qualidade diagnóstica do exame citopatológico, além de possibilitar a avaliação do desempenho do escrutinador e a identificação de causas de erros relacionados à coleta de amostra.

Na tentativa de aumentar a eficácia do rastreamento do câncer de colo uterino no Brasil, o Ministério da Saúde (MS), através da Portaria

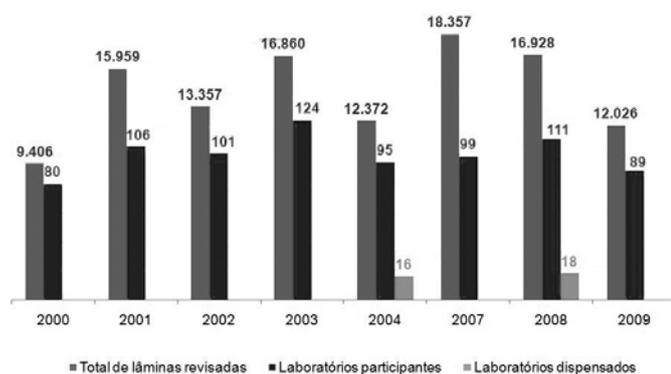
GM/MS nº 3040/98 instituiu o Programa Nacional de Combate ao Câncer de Colo de Útero, visando à padronização e rastreabilidade dos exames colpocitológicos. Esta padronização foi possível após a implantação do Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero (SISCOLO) que consiste de um sistema informatizado implantado nos laboratórios prestadores de serviços ao Sistema Único de Saúde (SUS) onde são cadastrados todos os resultados dos exames citopatológicos. Mensalmente, cada laboratório gera um banco de dados com a produção do período, a fim de fornecer informações para o faturamento e gerar dados para o Monitoramento Externo de Qualidade (MEQ) dos exames citopatológicos cervicais.

Após a utilização do SISCOLO, tornou-se possível a criação do Programa de Controle de

Qualidade em exames colpocitológicos, instituído pela Resolução SS-116, de 27/07/2000, determina a Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP) e o Instituto Adolfo Lutz (IAL) como responsáveis pelo gerenciamento e execução do programa respectivamente. Segundo a Portaria conjunta SPS/SAS nº 92, de 16/10/2001, todos os laboratórios que realizam o exame citopatológico para o SUS devem submeter-se ao MEQ.

O objetivo do Programa de Controle de Qualidade em exames colpocitológicos é garantir a melhoria contínua da qualidade dos exames

Gráfico 1. Distribuição dos totais de exames analisados, laboratórios participantes e laboratórios dispensados no Monitoramento Externo de Qualidade, no período entre 2000 e 2009



* Nos anos de 2005 e 2006 não foram realizadas as revisões pelo MEQ devido à alteração na nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos, o que impossibilitou a correlação entre os diagnósticos originais e os de revisão

citopatológicos cervicais oferecidos à população feminina por meio de: melhoria da qualidade e representatividade das amostras cérvico-vaginais, acurácia dos diagnósticos citomorfológicos, melhoria dos procedimentos da técnica de coloração de Papanicolaou; promover e incentivar a participação dos profissionais envolvidos em educação continuada e, dos gestores municipais, com a finalidade de minimizar as interferências na subjetividade do diagnóstico citopatológico.

Ao longo dos 10 anos de realização do programa acrescentaram-se medidas como: avaliação pré-analítica e analítica das amostras, visto que, grande parte das discordâncias diagnósticas foi causada pela má qualidade técnica; envio de CD-ROM com imagens gravadas das amostras com diagnóstico discordante; realização de encontros anuais (nacionais e internacionais) com os profissionais dos laboratórios participantes; cursos de reciclagem para os profissionais dos laboratórios que apresentaram desempenho abaixo do esperado; avaliação da nomenclatura utilizada nos laudos, com sugestões utilizando nomenclatura oficial e assim uniformizar o diagnóstico e possibilitar a conduta clínica preconizadas pelo MS. Com base nestas ações, podemos concluir que o programa MEQ trabalha incessantemente para oferecer subsídios à melhoria da qualidade e para a padronização do serviço oferecido à rede pública de saúde.

Avaliação de cápsulas manipuladas de sinvastatina por análise térmica (DSC) e CLAE-UV

Blanca Elena Ortega MARKMAN¹, Paulo César Pires ROSA²

¹ Núcleo Físico Químico de Medicamentos, Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes, Instituto Adolfo Lutz

² Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – Campinas – SP

A sinvastatina pertence ao grupo das estatinas conhecidas como inibidores da hidroximetil-glutaril-coenzima (HMG-CoA) reductase, enzima que regula a velocidade de síntese do colesterol no fígado, apresenta efetividade na redução de níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), triglicérides, assim como o aumento do nível de HDL, com diferentes potenciais hipolipêmicos¹. Entre os efeitos adversos mais sérios estão os riscos para o desenvolvimento de miopatia e rabdomólise ou necrose muscular¹.

A expiração da patente da sinvastatina reduziu o custo do fármaco, ocasionando aumento de sua prescrição para o tratamento da aterosclerose, sobretudo na forma de cápsulas produzidas em farmácias magistrais. A avaliação de formulações magistrais de cápsulas de sinvastatina não é

contemplada com metodologias analíticas em compêndios oficiais nacionais e internacionais. Para as formulações farmacêuticas industrializadas e fluidos biológicos são reportados vários métodos fundamentados em diferentes técnicas analíticas para avaliar a sinvastatina, entre esses, por análise térmica² e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por espectrometria de massas (CLAE/MS/MS)³ e CLAE acoplada a detector ultravioleta-visível (UV-VIS)⁴, entre outros.

O método por CLAE-UV, da Farmacopeia Americana USP-31, otimizado e validado, utilizado para a execução do estudo sobre verificação da qualidade de cápsulas manipuladas de sinvastatina provenientes de farmácias magistrais da cidade de São Paulo e Campinas⁵, não era indicativo para avaliar a estabilidade da sinvastatina. Os resultados

apresentados para o teor, a uniformidade de conteúdo e o ensaio de dissolução refletiram diferenças nas formulações, podendo ser atribuídas ao processo de manipulação, às características físico-químicas da sinvastatina e/ou dos excipientes⁵.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade da sinvastatina sob a forma de cápsulas manipuladas por análise térmica e comparar os resultados com os resultados obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção na região do ultravioleta.

A análise térmica é um termo que abrange um grupo de técnicas, nas quais uma propriedade física ou química de uma substância ou de seus produtos de reação é monitorada em função do tempo ou da temperatura. Algumas das principais técnicas termo-analíticas são: termogravimetria (TG), que avalia a alteração de massa devido à interação com a atmosfera por vaporização e decomposição; análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), em que os processos físicos e químicos envolvem variação de energia. As técnicas de análise térmica também identificam o polimorfismo ou as alterações na estrutura cristalina das moléculas⁶. A tendência de uma molécula cristalizar em estruturas cristalinas pode causar alterações nas propriedades físico-químicas e diferenças nas propriedades dos polimorfos, como forma, solubilidade, densidade, faixa de fusão, entre outras consequências⁷. A análise térmica (AT) tem sido utilizada na indústria farmacêutica como uma ferramenta importante na pesquisa de pré-formulação e avaliação da qualidade de fármacos e de interações com excipientes em formulações farmacêuticas³.

A amostragem foi representada pelas regiões Central, Leste, Oeste, Sul da cidade de São Paulo e da região Central de Campinas, onde foram elencadas ao acaso três farmácias magistrais de cada região, sendo coletada uma amostra de cada farmácia, fazendo um total de dezoito amostras conforme descrito no estudo⁵.

Para a realização do estudo, foi utilizado equipamento de AT, DSC – METTLER DSC-822e.

Utilizaram-se cadinhos de alumínio com, aproximadamente, 10 mg de amostra, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min) e taxa de aquecimento de 10 °C/min, iniciando o aquecimento em 25 °C até 250 °C. A avaliação foi baseada na curva de energia versus temperatura/tempo para verificar a faixa de fusão e quantidade de sinvastatina presente nas amostras. Os resultados encontrados para cápsulas de sinvastatina 40 mg manipuladas em farmácias magistrais de São Paulo e Campinas encontram-se demonstrados na tabela 1.

Tabela 1. Resultados do teor de sinvastatina determinados por CLAE-UV e DSC em cápsulas de 40 mg manipuladas em farmácias magistrais das cidades de São Paulo, grande São Paulo e Campinas

Farmácia*	Teor de Sinvastatina (mg/cápsula) e % do valor declarado	
	Por CLAE-UV	Por DSC**
Cidade/Zona		
A/Campinas	36,73 – 91,83%	36,03 – 90,09%
B/Campinas	34,32 – 85,84%	34,98 – 87,46%
C/Campinas	35,94 – 89,85%	39,07 – 97,68%
D/Caieras-SP/ Norte	34,90 – 87,25%	41,14 – 103,53%
E/Guarulhos	1,75 – 4,37%	1,89 – 4,74%
F/Guarulhos	38,53 – 96,32%	19,92 – 49,80%
G/Guarulhos	34,62 – 86,55%	36,14 – 90,35%
I/Zona Leste	38,06 – 95,15%	24,93 – 62,34%
J/Zona Leste	38,52 – 96,30%	28,34 – 70,87%
K/Lapa/Oeste	Sem resultado	36,26 – 90,65%
L/Vila Madalena/Oeste	36,47 – 91,78%	37,52 – 93,80%
M/Santo Amaro/Sul	36,87 – 92,18%	32,86 – 82,15%
N/Santo Amaro/Sul	31,94 – 79,85%	33,91 – 84,79%
O/Campo Belo/Sul	37,06 – 92,66%	37,28 – 93,02%
P/São Bernardo do Campo	37,73 – 94,32%	37,50 – 93,76%
Q/São Bernardo do Campo	34,71 – 86,77%	Não realizado
R/São Bernardo do Campo	37,73 – 94,32%	39,78 – 99,45%

* Farmácias identificadas por letras; ** Média de três determinações; Valor de Referência para o teor de sinvastatina: entre 90 a 110% do valor declarado, referência Farmacopeia Americana. Ed. 28, 2008

O método por análise térmica mostrou ser reprodutível e sensível na determinação de sinvastatina em triplicata para cada amostra. Os resultados obtidos por DSC e CLAE-UV mostraram a mesma variabilidade no conteúdo de sinvastatina nas amostras analisadas, indicando que o controle do processo de manipulação e do produto acabado é falho ou inexistente. Na análise dos excipientes não foi observada interferência dos constituintes das cápsulas de sinvastatina. Comparando a curva de DSC do fármaco puro e das cápsulas, não foram observadas alterações significativas na fusão da sinvastatina que caracterizasse uma alteração polimórfica ou incompatibilidade entre a sinvastatina e excipientes. Os resultados de teor de sinvastatina determinados pelo método por DSC apresentam uma relação significativa com o método CLAE-UV. Na amostra da farmácia E foi observado um pequeno sinal da fusão do fármaco estando de acordo com os resultados do teor e da dissolução. As Agências Reguladoras da área já indicam a importância da caracterização por meio de AT dos polimorfos, assim como os fatores que influenciam a aparição destes na definição de parâmetros de qualidade. Diante disso, é importante caracterizar quanto à estabilidade da sinvastatina, visto que qualquer alteração pode

influenciar diretamente a velocidade de dissolução ocasionando alterações na biodisponibilidade e, portanto, na eficácia terapêutica do fármaco, tendo um efeito antagônico e/ou tóxico.

REFERÊNCIAS

1. Ghayour-Mobarhan M, Lamb DJ, Taylor A, Vaidya N, Livingstone C, Wang T, et al. Effect of statin therapy on serum trace element status in dyslipidaemic subjects. *Trace Elem Med Biol.* 2005;19(1):61-7. DOI:10.1016/j.set.2005.06.003.
2. Graeser KA, Patterson JE, Rades T. Applying thermodynamic and kinetic parameters to predict the physical stability of two differently prepared amorphous forms of simvastatin. *Curr Drug Deliv.* 2009; 6(4):374-82.
3. Yang H, Feng Y, Luan Y. Determination of simvastatin in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed*
4. *Life Sci.* 2003;785(2):369-75. DOI:10.1016/S1570-0232(02)00800-0.
5. United States. Pharmacopeia. 31 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Conventions. 2009; p.1770-2.
6. Markman BEO, Rosa PCP, Koschtschak MRW. Avaliação da qualidade de cápsulas de sinvastatina de farmácias magistrais. *Rev Saúde Pública.* 2010;44(6):1055-62.
7. Lemos AB. Generalidades da análise térmica. *Bol de Tecnol e Desenvol Tec de Embalagens.* 2003; 15 (3):1-4.

Qualidade microbiológica de águas minerais envasadas comercializadas na região Noroeste do Estado de São Paulo

Maria Aparecida de OLIVEIRA, Silvia Helena Chinarelli RECHE, Alzira Maria Morato BERGAMINI
*Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas,
Centro de Laboratório Regional VI,
Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto*

Natural recurso de valor socioeconômico estratégico, essencial a qualquer forma de vida existente na terra e à manutenção dos ecossistemas do planeta, a água é um bem comum a toda a humanidade. Águas obtidas de camadas profundas do subsolo possuem composição química e características físico-químicas que as distinguem dos outros tipos de águas destinadas ao consumo humano e são denominadas águas minerais.

O consumo de água mineral tornou-se nas últimas décadas bastante popular em muitas regiões do Brasil. De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Águas Minerais, o setor de água mineral produziu cerca de 8,7 bilhões de litros em 2009. Em 2010, o mercado de água mineral faturou R\$ 1 bilhão, registrando alta de 13% em relação ao resultado de 2009. No Brasil, existem 420 empresas engarrafadoras e cerca de 30 mil distribuidoras de água mineral¹. Dados da Associação Internacional de Águas Engarrafadas indicam que o Brasil ocupa o 4º lugar no *ranking* mundial de produtores. Consome mais água engarrafada que países como Itália, Alemanha, França e Espanha. E fica atrás dos Estados Unidos, do México (que crescem, em média, 8,5% ao ano) e da China, cuja demanda aumenta 17,5% a cada ano².

Segundo as Resoluções – RDC Nº 274 e 275, de 22 de setembro de 2005^{3,4}, águas minerais são aquelas obtidas diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas, caracterizadas pelo conteúdo definido e constante de determinados sais minerais, oligoelementos e outros constituintes considerando as flutuações naturais. Além disso, não podem agregar e/ou produzir substâncias químicas, físicas ou biológicas que coloquem em risco a saúde do consumidor e/ou alterem as suas características sensoriais originais.

A qualidade microbiológica das águas consumidas pelos seres humanos é de suma importância, pois a maioria dos enteropatógenos causadores de infecções ao homem são transmitidos principalmente por via oral, através da água e de alimentos contaminados. Essa contaminação vem ocorrendo ao longo dos anos, sendo causada pelo crescente desenvolvimento industrial, pelo crescimento demográfico e pela ocupação do solo de forma intensa e acelerada, aumentando consideravelmente o risco de doenças de transmissão hídrica⁵.

Geralmente, o aumento do consumo de água mineral está associado ao seu conceito de pureza. A afirmação, porém, de que a qualidade microbiológica das águas minerais seja superior à das águas de abastecimento público nem sempre se confirma, mesmo considerando sua origem em

mananciais subterrâneos. A contaminação da água mineral pode ocorrer na fonte, no envase (devido à natureza do processo ou reutilização de recipiente higienizado inadequadamente), ou no transporte e no armazenamento, quando as embalagens não possuem lacre adequado.

Esse estudo teve por objetivo avaliar a qualidade de águas minerais comercializadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, durante o período de 2007 a 2010, através de análises microbiológicas. Foram avaliadas 399 amostras de água mineral, de 10 marcas e envasadas em diferentes volumes, variando entre 200 mL a 20 litros. Todas as amostras foram processadas de acordo com os métodos recomendados no *Standard Methods for the Examination of water and wastewater*⁶ para coliformes totais e termotolerantes, pesquisas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* sp. e Clostrídios sulfito redutores.

Os resultados mostraram que, do total de amostras analisadas, 4,8% foram consideradas insatisfatórias⁴, sendo 4,5% em um parâmetro e 0,3% em dois parâmetros. Especificamente, 0,5% continha coliformes totais, 0,25% coliformes totais e *Pseudomonas aeruginosa*, 3,3% *Pseudomonas aeruginosa*, 0,25% *Enterococcus* sp. e 0,5% Clostrídios sulfito redutores. Não foram identificados coliformes termotolerantes em nenhuma das amostras.

Neste estudo, observou-se a presença de outros bacilos Gram negativos não contemplados pela legislação em vigor⁴ em 43,6% das amostras. Embora não tenham sido identificados em nível de espécies, esses bacilos podem ser próprios (microbiota autóctone) da água mineral, que ao contrário da flora contaminante, sobrevivem por longos períodos no meio, pois necessitam de pouca ou nenhuma matéria orgânica. Também podem ser parte da microbiota alóctone (gerados fora do corpo da água), surgindo durante as etapas prévias ao engarrafamento ou durante o processamento até o envase⁷. Esses dados evidenciam a necessidade de um rigoroso controle higiênico desses produtos.

A negligência no controle microbiológico das fontes naturais e a não observância das Boas Práticas de Fabricação, ou seja, de princípios rígidos de higiene durante o processo de captação e envase da água mineral, bem como o de lavagem e higienização das embalagens reutilizáveis, transporte e armazenamento, podem oferecer riscos à saúde do consumidor. É inerente às autoridades de saúde pública garantir à população um produto saudável e isento de micro-organismos que possam causar risco de agravos à saúde.

REFERÊNCIAS

1. Jony LAN. Mercado – Consumo de água mineral no país em 2010 foi 13% maior que em 2009 e faturou 1 bilhão de reais. [acesso em 18 de abril de 2011]. Disponível em <http://www.mktmais.com/2001/01/mercado-consumo-de-água-mineral-no-pais.html>.
2. Associação Brasileira das Indústrias de Águas Minerais. O mercado de 7 bi de litros. [acesso em 17 de abril de 2011]. Disponível em http://www.abinam.com.br/materias.php?cd_secao=33&codant=42.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução nº 274, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para águas envasadas e gelo. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 set. 2005, Seção 1.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução nº 275, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 set. 2005, Seção 1.
5. Guilherme EFM, Silva JAM. *Pseudomonas aeruginosa*, como indicador de contaminação hídrica. Rev Hig Alimentar. 2000; 14 (76): 43-47.
6. American Public Health Association. Microbiological examination of water. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition, Washington. APHA, AWWA, WEF, 1998.
7. Coelho DL, Pimentel IC, Beux MR. Uso do método cromogênico para quantificação do NMP de bactérias do grupo coliforme em águas minerais envasadas. Bol CPPA. 1998; 16(1): 45-54.

Determinação de nutrientes minerais em extrato bruto liofilizado e amostra bruta de *Campomanesia xanthocarpa* Berg por fluorescência de Raios X

Blanca Elena Ortega MARKMAN¹, Carmen Silvia KIRA²,
Ivone Mulako SATO³, Manuel Octavio M. FERREIRA³

¹Núcleo de Ensaios Físico e Químicos em Cosméticos e Saneantes, Centro de Medicamentos, Instituto Adolfo Lutz

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

³Laboratório de Fluorescência de Raios X – CQMA-IPEN/CNEN-SP

A pesquisa de substâncias ativas começou, aproximadamente, em 1870 com o trabalho de Scheele e, em meados do século XIX, os compostos bioativos foram surgindo, com a pesquisa de plantas medicinais conhecidas que levaram à descoberta de alcaloides como morfina, atropina, papaverina e codeína¹. No Brasil, a biodiversidade existente é estimada em 20% do globo terrestre e a disponibilidade de informações sobre estudos químicos e farmacológicos da flora brasileira é pequena quando comparada a dados botânicos². O uso de vegetais tem se difundido largamente nos últimos anos no tratamento fitoterápico de muitas doenças. Entretanto, desde a década passada, vários grupos de pesquisa têm demonstrado interesse também na investigação das propriedades das plantas para fins alimentícios e cosméticos. A literatura reporta um aumento significativo de trabalhos relacionados à determinação de minerais em espécies vegetais, objetivando verificar a presença de minerais com ação tóxica e/ou benéfica³. Um grande número de elementos minerais desempenha funções específicas no organismo sendo essenciais para a nutrição humana e animal⁴. *Campomanesia xanthocarpa* Berg, espécie pertencente à família Myrtaceae, é conhecida

popularmente como gabioba, que significa árvore de casca amarga. Seu valor medicinal é reconhecido no combate a várias enfermidades tais como disenteria, febre, escorbuto, cistite e uretrite⁵.

Os estudos fitoquímico e farmacológico do extrato hidroalcoólico liofilizado e da droga vegetal constituída de folhas e do extrato liofilizado de *Campomanesia xanthocarpa* indicaram a presença dos compostos químicos flavonoides, taninos, saponinas e óleo essencial, assim como apresentaram atividade para os ensaios de atividade antioxidante, antiúlcera e atividade antimicrobiana. Dessa forma, dando continuidade aos estudos da espécie *Campomanesia xanthocarpa*⁶, o presente trabalho objetiva pesquisar e determinar os elementos minerais Ca, Mn, Na, Fe, Mg, Ni, P, S, Cl, K, Cu, Zn, Rb e Sr; reconhecidamente importantes na nutrição humana.

As amostras analisadas foram constituídas do pó das folhas e do extrato liofilizado da espécie *Campomanesia xanthocarpa*, que foram preparadas em pastilhas prensadas em dupla camada. O equipamento utilizado foi o espectrômetro da Rigaku Co, modelo RIX 3000A, aplicando-se a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda WD-XRFS.

Tabela 1. Resultado da determinação de elementos minerais nas amostras de pó das folhas e extrato liofilizado de *Campomanesia xanthocarpa* e do material de referência certificado NIST 1567, por fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda

Elemento	Pó das folhas (em $\mu\text{g.g}^{-1}$)	Extrato liofilizado (em $\mu\text{g.g}^{-1}$)	NIST 1547 Valor obtido (em $\mu\text{g.g}^{-1}$)	NIST 1547 Valor certificado (em $\mu\text{g.g}^{-1}$)	Erro relativo (%)	LQ (em $\mu\text{g.g}^{-1}$)
Ca	7164±19	2873±12	14460±511	15600±200	8	10
Mn	158±2	98±1	100±4	98±3	2	1
Na	ND	ND	ND	24±14	-	50
Fe	261±3	3,9±0,5	214±14	218±80	1	1
Mg	3373±99	7293±43	4500±157	4320±0,09	4	10
Ni	2,26±0,61	2,05±0,64	ND	0,69±70	-	1
P	667±16	3005±10	1387±101	1370	1,5	20
S	5019±10	4032±24	2043±32	(2000)	2	20
Cl	2359±16	7805±18	384±53	360±9	7	20
K	7281±22	15497±70	19994±767	2430±300	18	20
Cu	8,5±0,5	20,5±0,3	4,5±0,3	3,7±0,4	21	1
Zn	ND	ND	13,7±8,3	17,9±0,4	24	1
Rb	11,4±0,4	22,2±0,2	19,5±0,6	19,7±1,2	1	1
Sr	44,71±1,3	1,9±0,8	51±1	53±4	4	1

ND = não determinado; LQ = limite de quantificação do método; número de determinações do NIST 1567: 4

Foi utilizado para a validação do método o material de referência certificado NIST 1547- Peach Leaves. Os valores obtidos para cada mineral e o limite de quantificação do método estão expressos em $\mu\text{g.g}^{-1}$ e encontram-se na tabela 1.

Os minerais Na e Zn não foram quantificados pelo método aplicado, por apresentarem concentrações abaixo dos limites de quantificação estabelecidos em $50 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $1 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. As diferenças encontradas para as amostras analisadas constituídas de amostra bruta e extrato liofilizado podem ser atribuídas às diferentes solubilidades dos elementos minerais no preparo do extrato bruto. Dentre os minerais determinados, K, Ca, S, Mg e Cl foram os que se apresentaram mais concentrados na amostra bruta (folhas da gabiroba) e no extrato liofilizado e tem significado no metabolismo humano por apresentarem funções específicas. Esse estudo contribui para avaliação do ponto de vista nutricional de plantas medicinais, como a espécie *Campomanesia*

xanthocarpa, uma vez que existe uma lacuna com relação aos dados na literatura.

REFERÊNCIAS

1. Cordell GA. Pharmacognosy: new roots for an old science. In: Study in Natural Products Chemistry, Elsevier Science Publishers B.V.: 1993;13:623-675.
2. Mattos FJA. Farmácias Vivas. Edições UFC. Fortaleza. 1994;179.
3. Sathiyamoorthy P, Van Damme P, Oven M, Golangoldhirsh A. Heavy metals in medicinal and fodder plants of Negev desert. J Environ Science and Health (part A). 1997; 32(8): 2111-2123.
4. Almeida ECB, Lopes MFG, Nogueira CMD, Magalhães CEC, Moraes NMT. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. Cien Tecnol Aliment. 2002; 22:94-7.
5. Cravo AB. Frutas e ervas que curam: panacéia vegetal. 4. ed. São Paulo: Hemus; 1994. 438.
6. Markman BEO. Caracterização Farmacognóstica de *Campomanesia xanthocarpa* (Martius) Berg. Myrtaceae [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 2001.

Transmissão de micro-organismos por formigas urbanas: um problema de saúde pública

**Lígia Maria de AQUINO, Cíntia Aparecida DAMA,
Sonia de Paula Toledo PRADO**

*Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de
Laboratório Regional de Ribeirão Preto – VI
Instituto Adolfo Lutz,*

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), além de propor, acompanhar e executar políticas públicas, diretrizes e ações da Vigilância Sanitária, estabelece e atualiza normas a fim de promover a proteção da saúde da população. Neste contexto, atualmente encontra-se em revisão a Resolução RDC nº 175/2003, que resultará, em breve, o novo Regulamento Técnico, que estabelecerá os requisitos mínimos para avaliação de matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, definindo também as formigas como uma das matérias estranhas indicativas de riscos à saúde humana, além das baratas e das moscas, por veicularem para os alimentos agentes patogênicos ou por causarem danos ao consumidor.

As formigas podem causar sérios problemas quando ocorrem em fábricas de alimentos, padarias, restaurantes, escritórios, instituições de pesquisa, biotérios, zoológicos, museus, cabines de eletricidade e centrais telefônicas. Constituem também um perigo potencial à saúde pública quando a infestação ocorre em hospitais¹. Nesses locais, esses insetos podem estar associados a vários tipos de problemas como rejeição

psicológica, irritações e lesões na pele, podendo falsear resultados laboratoriais por passarem de uma placa de Petri a outra, resultando em diagnósticos equivocados. No entanto, um dos principais riscos à saúde é a possibilidade de as formigas veicularem micro-organismos patogênicos².

Segundo estudo realizado em dois hospitais em um município do Estado de Minas Gerais, observou-se que diversas espécies de formigas coletadas em quartos, ambulatórios, berçários, maternidades e centros cirúrgicos estavam associadas a micro-organismos. As bactérias identificadas foram *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* sp. patogênico e não patogênico, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus* sp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp.³.

No Sudeste da Bahia, outro estudo apresentou que mais da metade (57,3%) das formigas coletadas em um hospital público estavam associadas com algum tipo de bactéria, sendo 26,7% bactérias oportunistas patogênicas, enquanto 84,2% das formigas de outro hospital apresentaram crescimento bacteriano, com 61,4% de bactérias oportunistas patogênicas. No total, foram isoladas vinte e quatro espécies de bactérias. Os bacilos Gram positivos do gênero *Bacillus* foram os

mais frequentes, seguidos pelos cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos (Família Enterobacteriaceae) e bacilos Gram negativos não fermentadores⁴.

Outro estudo avaliou a presença de formigas em ambiente hospitalar no município de Natal (RN) com o objetivo de verificar o potencial desse inseto como veiculador mecânico de bactérias do gênero *Staphylococcus*. Além disso, analisou-se tanto a resistência desse gênero frente a diferentes antimicrobianos, quanto à capacidade de produção de biofilme. Os resultados apresentaram que as formigas podem agir como veiculadoras de estafilococos coagulase-negativos multirresistentes a antimicrobianos e produtores de biofilme, com exceção do *S. aureus*. Enfatiza-se o risco da disseminação de micro-organismos patogênicos em ambiente hospitalar⁵.

Embora o ambiente hospitalar seja mais enfatizado, as Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) também são consideradas ambientes de risco. Uma pesquisa realizada em doze UANs na região da Grande São Paulo, com o intuito de verificar os patógenos veiculados por formigas, constatou a presença de *S. aureus* e Enterobactérias, concluindo que as formigas podem ser importantes vetores de micro-organismos, além de interferirem na segurança alimentar⁶.

Visto que as formigas são veiculadoras de micro-organismos, sendo alguns patogênicos e

devido à escassez de estudos, principalmente em unidades de manipulação de alimentos, é relevante a realização de pesquisas futuras nessa área visando melhorar o conhecimento da flora microbiana das formigas e o seu potencial risco à saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. Bueno OC, Campos-Farinha, AEC. As formigas domésticas. In: MARICONI FAM. (Ed.). Insetos e outros invasores de residências. Piracicaba: FEALQ; 1999. p.135-180.
2. Eichel W. Health aspects and control of *Monomorium pharaonis*. In: Vander Meer RK, Jaffe K, Cedeño A (eds). Applied myrmecology: a world perspective. Boulder (Co), Westview Press; 1990.p741.
3. Santos PF, Fonseca AR, Sanches NM. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) como vetores de bactérias em dois hospitais do município de Divinópolis, Estado de Minas Gerais. Rev Soc Bras Med trop; 2009. 42(5):565-569.
4. Fontana R, Wetler RMC, Aquino RSS, et al. Disseminação de bactérias patogênicas por formigas (Hymenoptera: Formicidae) em dois hospitais do Nordeste do Brasil. Neotrop Entomol. 2010; 39(4): 655-663.
5. Silva EENF. Avaliação do potencial de formigas (Hymenoptera: Formicidae) como vetores mecânicos de bactérias do gênero *Staphylococcus* no ambiente hospitalar [dissertação de mestrado]. Natal (RN): Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2009.
6. Schuller L. Micro-organismos patogênicos veiculados por formigas “Andarilhas” em Unidades de Alimentação [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2004.

A importância da dosagem de Adenosina Deaminase (ADA)

**Fabiana Mahylowski RINALDI, Marilena OSHIRO,
Karen MIGUITA**

*Núcleo de Hematologia e Bioquímica, Centro de Patologia,
Instituto Adolfo Lutz*

A adenosina deaminase (ADA, Adenosina aminohidrolase, EC 3.5.4.4) é um nucleosídeo pertencente a um grupo de enzimas que atuam no metabolismo das purinas e que catalisa a conversão da adenosina à inosina e do 2-desoxiadenosina em 2-desoxinosina. A ADA está presente em todos os tecidos humanos, principalmente no citoplasma e na membrana celular. Altos níveis da enzima são encontrados nos órgãos linfoides, daí sua principal função na proliferação e na diferenciação de linfócitos e na maturação dos monócitos. No homem, a ADA pode estar presente como duas isoenzimas, a ADA1 (tissular) e a ADA2 (sérica). Essa última está em maior quantidade no organismo e é a única presente nos monócitos e nos macrófagos, o que leva à hipótese de que altos níveis de ADA2 podem ser reflexos de sua liberação pelo sistema monocítico-macrofágico nas doenças causadas por organismos intracelulares¹.

Considerando-se que a enzima é liberada pelos linfócitos e pelos macrófagos, é esperado um aumento de sua atividade nas doenças infecciosas ou que envolvam resposta imunológica mediadas por células. Assim, poderemos destacar a dosagem

de ADA na tuberculose, na leishmaniose, no lúpus, na artrite reumatoide, no HIV e no HTLV, na febre tifoide e em doenças de outras etiologias¹.

A deficiência de ADA pode ter caráter autossômico recessivo, causando a Síndrome da Imunodeficiência Severa Combinada (SIDSC), em que a deficiência congênita de ADA é responsável por um terço deste tipo de doença. Os pacientes têm disfunção na diferenciação de linfócitos, levando a um desenvolvimento anormal de linhagens linfocíticas, como os B e NK, causando muitas vezes complicações por micro-organismos oportunistas².

Na tuberculose, cujo agente causador é o bacilo álcool-ácido-resistente *Mycobacterium tuberculosis*, a baciloscopia, um dos principais exames utilizados para o diagnóstico da doença, possui baixa sensibilidade e o crescimento em cultura é demorado, comprometendo o início do tratamento¹. As formas extrapulmonares da doença também requerem métodos invasivos para coleta de material, como a biópsia de pleura e nem sempre o granuloma pode ser encontrado, necessitando de diagnósticos mais precoces, baixo custo e de boa sensibilidade para o tratamento da doença. As limitações desses

métodos diagnósticos têm levado à pesquisa de técnicas com maior rentabilidade, maior rapidez e precisão e menos invasivos. A dosagem de ADA mostrou-se, em diferentes estudos, útil para auxiliar no diagnóstico da doença, sendo que a técnica apresentou de 90 a 100% de sensibilidade e de 89 a 100 % de especificidade, utilizando-se valor de corte de 40 U/l, como recomendado pelo Consenso Brasileiro de Tuberculose^{1,3}. Apesar de ainda não existir um *kit* confiável para a dosagem da enzima, a técnica é de fácil execução, podendo ser utilizada junto aos exames de rotina para a investigação de tuberculose, principalmente em áreas de alta prevalência da doença¹.

A existência de uma relação entre a atividade da ADA e a resposta imune mediada por células, levou alguns pesquisadores a estudarem a atividade da enzima na leishmaniose. Em um estudo comparando a atividade dessa enzima entre os pacientes com a forma cutânea e indivíduos saudáveis, encontrou-se um aumento significativo da ADA no soro e em linfócitos desses pacientes, sugerindo que o aumento poderia ser devido à atividade fagocítica aumentada dos macrófagos. O resultado também foi observado na forma visceral e em outras doenças como a lepra e malária⁴.

Na febre tifoide, um estudo realizado com 30 pacientes com idades entre 15 e 40 anos e 10 indivíduos sadios, em que os pacientes foram divididos em dois grupos: com complicações (n = 20) e sem complicações (n = 10), dosou-se a ADA, semanalmente, desde a admissão no hospital até a recuperação deles. Os resultados mostraram uma atividade da enzima significativamente maior no grupo de pacientes sem complicações, enquanto que, no outro grupo, a atividade da enzima estava diminuída. Os autores concluíram que a baixa atividade da enzima indica a probabilidade de um curso mais prolongado e de maior gravidade da febre tifoide. Conclui-se que o aumento da atividade da ADA no soro dos pacientes com febre tifoide indica uma atividade contra a

Salmonella typhi e que a diminuição da atividade da enzima no soro dos pacientes que apresentaram complicações durante o curso da doença, reflete uma resposta imune deprimida⁵. Esses dados sugerem que a determinação da ADA pode ser útil tanto no diagnóstico da febre tifoide quanto na avaliação da gravidade da doença.

Existem na literatura relatos de que os níveis de ADA no soro de pacientes com HTLV-1 e HIV-1 estão aumentados. Alguns autores tentaram correlacionar os níveis elevados de ADA1 e/ou ADA2 no soro com as características clínicas das doenças causadas pelos retrovírus (ATL, mielopatia associada ao HTLV-1 e pacientes com AIDS). A atividade das ADA1 e ADA2 nos indivíduos saudáveis portadores de HTLV-1 e pacientes com mielopatia (HAM) e ATL foi significativamente maior quando comparado com a atividade nos controles. Além disso, observou-se que a atividade da ADA1 é aumentada especialmente nos pacientes com linfoma de células T⁶.

A atividade da ADA também tem sido estudada nas leucemias. Foi encontrada aumento dessa atividade nas leucemias linfoblástica aguda e mielóide crônica na fase blástica, o que tem levado à conclusão que a dosagem da ADA pode ser útil no diagnóstico das leucemias agudas e também para auxiliar na detecção precoce de crises blásticas na leucemia mielóide crônica⁷.

Sabendo-se que os monócitos e os macrófagos desempenham um papel importante na resposta imune, dosou-se a ADA nos monócitos durante sua maturação à macrófagos. A atividade da ADA aumentou de duas a nove vezes durante os estágios de transição celular. Foi demonstrado que os macrófagos são uma grande fonte de ADA2, o que leva a hipótese de que eles podem ser responsáveis pelo aumento dessa enzima no soro ou no líquido pleural. Posteriormente, concluiu-se que a anormalidade nas imunidades celular e humoral de pacientes com deficiência de ADA poderia ser, em parte, devido a uma disfunção dos macrófagos⁸.

Conclui-se que a dosagem de adenosina deaminase pode ser importante para auxiliar no diagnóstico de algumas doenças em que essa pode estar aumentada ou diminuída, desde que haja relação da enzima com a etiologia da doença. De qualquer modo, os diagnósticos atuais, colocados na rotina, deverão ser realizados, pois muitos são bem específicos, usando-se a ADA como coadjuvante nessa procura.

REFERÊNCIAS

1. Neves DD, Silva CT, Preza PCA, Morisson P. Dosagem da atividade da adenosina desaminase (ADA). *Pulmão*. 2004;13(3):182-89.
2. Hirschhorn R, Roegner V, Jenkins T, Seaman C, Piomelli S, Borkowsky W. Erythrocyte adenosine deaminase deficiency without immunodeficiency. Evidence for an unstable mutant enzyme. *J Clin Invest*. 1979; Oct;64(4):1130-9.
3. Morisson P, Neves DD. Evaluation of adenosine deaminase in the diagnosis of pleural tuberculosis: a Brazilian meta-analysis. *J Bras Pneumol*. 2008; Apr;34(4):217-24.
4. Tripathi K, Kumar R, Bharti K, Kumar P, Shrivastav R, Sundar S, Pai K. Adenosine deaminase activity in sera of patients with visceral leishmaniasis in India. *Clin Chim Acta*. 2008; Feb;388(1-2):135-8. Epub 2007 Oct 30.
5. Khosla SN, Kumar D, Singh V. Lymphocytic adenosine deaminase activity in typhoid fevers. *Postgrad Med J*. 1992; Apr;68(798):268-71.
6. Tsuboi I, Sagawa K, Shichijo S, Yokoyama MM, Ou DW, Wiederhold MD. Adenosine deaminase isoenzyme levels in patients with human T-cell lymphotropic virus type 1 and human immunodeficiency virus type 1 infections. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1995; Sep;2(5):626-30.
7. Smyth JF, Harrap KR. Adenosine deaminase activity in leukaemia. *Br J Cancer*. 1975; May;31(5):544-9.
8. Fischer D, Van der Weyden MB, Snyderman R, Kelley WN. A role for adenosine deaminase in human monocyte maturation. *J Clin Invest*. 1976; Aug;58(2):399-407.

Determinação de ferro na água de abastecimento na grande São Paulo no período de 2007 a 2009

**Maria Anita SCORSAFAVA, Arlete de SOUZA,
Monica STOFER, Claudete Azevedo NUNES,
Thais Valéria MILANEZ**

*Núcleo de Águas e Embalagens, Centro de Contaminantes,
Instituto Adolfo Lutz*

A água de abastecimento público é objeto de preocupação, pois sua qualidade depende de diversos fatores. Os mananciais estão sujeitos ao lançamento de efluentes e resíduos, os reservatórios podem precisar de manutenção, as instalações hidráulico-sanitárias da rede de distribuição até os domicílios podem estar precárias. Dessa forma, a água deve ser monitorada para que não se torne veículo de doenças e que não seja prejudicial aos consumidores. Doenças de origem hídrica são causadas por determinadas substâncias químicas, orgânicas ou inorgânicas, presentes na água em concentrações inadequadas, em geral, superiores às especificadas nos padrões para águas de consumo humano, que podem existir naturalmente no manancial ou resultarem da poluição. Em 1992, foi iniciado o Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano do Estado de São Paulo (Pró-Água), com o objetivo de desenvolver ações para a melhoria das condições sanitárias dos sistemas de abastecimento de água do Estado de São Paulo¹. O Núcleo de Águas e Embalagens do Instituto Adolfo Lutz contribui nesse programa com a avaliação das

características físico-químicas, entre elas os teores de ferro. Essas ações visam ao conhecimento da qualidade da água produzida por esses sistemas e, com isso, a promoção de melhorias das condições sanitárias dos sistemas de abastecimento².

Os padrões de controle da qualidade da água, atualmente, são regidos pela Portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde (MS)⁵, que dispõe sobre as normas de qualidade para o consumo humano em sistemas de abastecimento público e soluções alternativas, sendo que o valor máximo permitido para ferro é 0,3 mg/L. A avaliação sistemática do padrão de qualidade da água demonstra como está o processo de tratamento, a distribuição, se existem reservatórios mal conservados e a situação ao longo da rede de distribuição e pontos de consumo.

O objetivo desse estudo foi reunir dados para avaliar o conteúdo de ferro nas águas de consumo provenientes de municípios da grande São Paulo, localizados nas regiões abrangidas pelas Diretorias Regionais de Saúde (DIR) III de Mogi das Cruzes, DIR IV de Franco da Rocha e DIR V de Osasco no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2009. Nesse período, foram coletadas 6805 amostras de

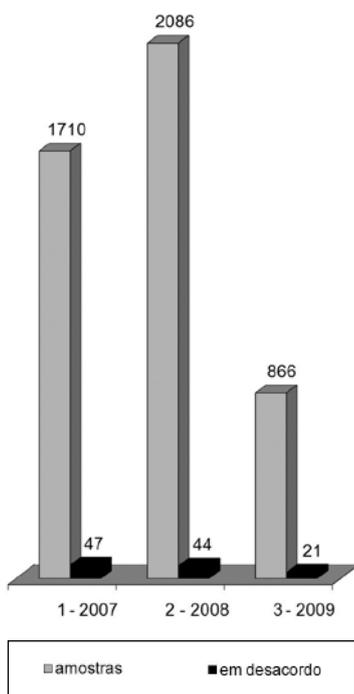


Figura 1. Distribuição anual das amostras de água analisadas e em desacordo quanto à concentração de ferro, DIR III, 2007 a 2009

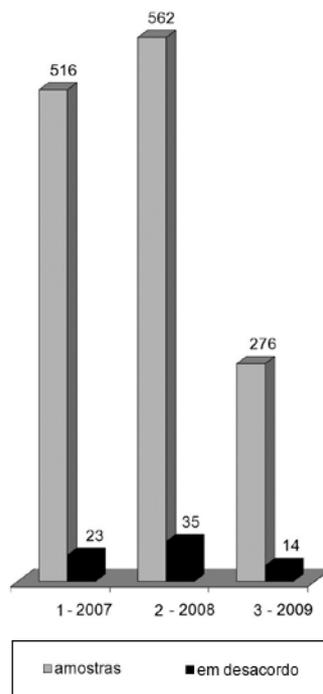


Figura 2. Distribuição anual das amostras de água analisadas e em desacordo quanto à concentração de ferro, DIR IV, 2007 a 2009

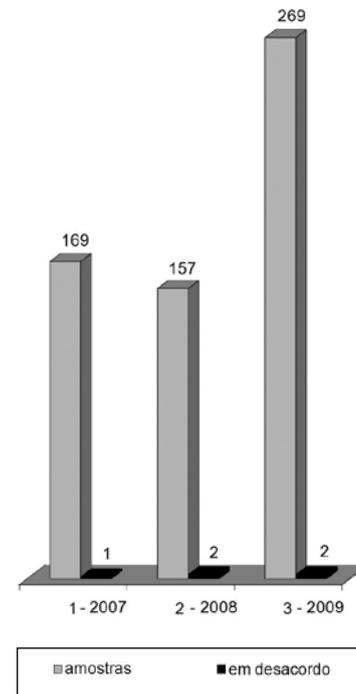


Figura 3. Distribuição anual das amostras de água analisadas e em desacordo quanto à concentração de ferro, DIR V, 2007 a 2009

águas, sendo 1378 da DIR III, de Mogi das Cruzes, que abrange os municípios de Biritiba Mirim, Ferraz de Vasconcelos, Guararema, Itaquaquecetuba, Mogi das Cruzes, Poá, Salesópolis, Santa Isabel e Suzano. 598 amostras da DIR IV, de Franco da Rocha, que compreende os municípios de Caieiras, Cajamar, Francisco Morato, Franco da Rocha e Mairiporã e 4829 provenientes dos municípios da DIR V, de Osasco: Barueri, Carapicuíba, Cotia, Embu, Embu-Guaçu, Itapeverica da Serra, Itapevi, Jandira, Jujutiba, Osasco, Pirapora do Bom Jesus, Santana do Parnaíba, São Lourenço da Serra, Taboão da Serra e Vargem Grande Paulista. O plano de amostragem levou em consideração a densidade populacional, locais com grande afluência de público e estratégicos como hospitais, creches e escolas (população vulnerável), locais de baixa pressão no sistema de distribuição e distribuição espacial de doenças de transmissão hídrica, entre outros. As amostras foram coletadas pelas Vigilâncias Sanitárias Municipais de

acordo com os requisitos básicos de coleta, transporte e acondicionamento que constam no Manual de Coleta, Conservação e Transporte de Amostras de Água do Centro de Vigilância Sanitária (CVS)⁴.

A metodologia aplicada para a determinação de ferro foi espectrofotometria de absorção atômica, utilizando o método descrito no livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁵.

Os resultados obtidos no período 2007 a 2009 das amostras em desacordo com a Portaria 518/2004 estão apresentados nas figuras 1, 2 e 3. Nos municípios abrangidos pela DIR III, a frequência de contaminação química por ferro atingiu 5,3%; 0,8% na DIR IV e 2,4% na DIR V. O município de Santa Isabel (DIR III) foi o que apresentou o maior número de amostras com ferro acima do permitido (0,3 mg/L). Em 2007, foram 20,3%; 11,2% em 2008 e 22,9% em 2009. Isso indica uma necessidade de troca e revisão das redes de distribuição. No período em estudo, 189 amostras (2,8%) apresentaram ferro

acima do permitido. Quando comparamos esse resultado com o levantamento realizado no triênio anterior, quando 288 (3,7%) amostras das 7775 analisadas apresentaram ferro acima do permitido⁶, observamos um pequeno declínio no número das amostras em desacordo. Isso não significa, porém, que houve melhoria na rede de distribuição, pois as amostras podem ser coletadas em qualquer ponto da mesma.

O consumo excessivo de ferro pode causar uma doença chamada hemocromatose, que se caracteriza pelo depósito desse metal nos tecidos de órgãos como fígado, pâncreas, coração e na glândula hipófise e a sua presença pode favorecer o desenvolvimento das ferro-bactérias, que não são prejudiciais à saúde, mas dão cor e odor à água.

Como a qualidade da água é variável em função do tempo e do espaço e o tratamento não é garantia final de sua qualidade, o *status* da água pode se alterar da distribuição até o consumo. Considerando os resultados obtidos, torna-se evidente a importância do monitoramento da qualidade dessa água para a melhoria das condições sanitárias e propiciar um consumo seguro.

REFERÊNCIAS

1. São Paulo (Estado). Secretaria da Saúde. Resolução Estadual SS nº 45, de 31 de janeiro de 1992. Institui o Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano – Pro-Água e aprova diretrizes para a sua implantação no âmbito da Secretaria da Saúde. Diário Oficial [do] Estado, São Paulo. Seção 1, p.27, 1 fev.1992.
2. Pocol AP, Valentim LSO. Vigilância da qualidade da água para consumo humano no Estado de São Paulo. BEPA, São Paulo, 2004. nº 9, p.6-10.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Diário Oficial [da] União. Seção 1, p.266, 26 mar. 2004.
4. São Paulo (Estado). Secretaria da Saúde. Centro de Vigilância Sanitária. Manual de Coleta, Conservação e Transporte de Amostras de Água. [acesso em: 22 out. 2010]. Disponível em: http://www.cvs.saude.sp.gov.br/download.asp?tipo=zip&arquivo=man_coleta.zip.
5. Scorsafava MA et al. Águas. In: Zenebon O, Pascuet NS (coord.). Métodos físico-químicos para análises de alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. p.347-404.
6. Scorsafava MA et al. Controle físico-químico da qualidade da água para consumo humano na região da grande São Paulo. Bol Inst Adolfo Lutz, São Paulo, v.18 n.1/2, p.91-94, 2008.

Relato de caso: subdosagem de Bromazepam em cápsulas manipuladas

Rita Cristina Agostinho GUARDIA, Marcelo Beiriz DEL BIANCO, Fernanda Fernandes FARIAS, Helena Miyoco YANO

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

O Bromazepam pertence à classe dos benzodiazepínicos e possui propriedades similares ao Diazepam como efeitos ansiolíticos, hipnóticos, relaxante muscular e sedativos. Normalmente utilizado para o tratamento a curto prazo da ansiedade associada ou não com insônia. Apresenta-se na forma de comprimidos e é amplamente distribuído pelo setor farmacêutico, produzido por indústrias de medicamentos¹.

O Núcleo de Ensaios Físicos e Químicos em Medicamentos do Instituto Adolfo Lutz recebeu da VISA-SP, em março de 2011, uma solicitação de análise de medicamento manipulado de cápsulas de Bromazepam com dosagem declarada no rótulo de 6 mg/cápsula, com suspeita de não conter o fármaco na dosagem indicada. A literatura estabelece para o tratamento com Bromazepam uma dose de 6 a 18 mg ao dia, sendo que para pacientes idosos ou debilitados a dose não pode ultrapassar 3 mg ao dia¹.

O método utilizado para a determinação do Bromazepam foi por espectrofotometria na região do ultravioleta conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira, 4ª ed. (2002)². A substância química de referência de Bromazepam utilizada foi

da Farmacopeia Brasileira. Os reagentes utilizados foram metanol e hidróxido de sódio Vetec® e o espectrofotômetro UV-Vis (Hewlett Packard® modelo 8453³). Padrão e amostra foram preparados, dissolvendo-se, inicialmente, com metanol e, posteriormente, com hidróxido de sódio 0,1 M até concentração de 0,0006% (p/V). Em seguida, foram realizadas diluições em série do padrão na faixa de 0,0004% a 0,0008% para determinar a curva analítica. Após leitura das soluções, verificou-se que a solução padrão apresentou perfil espectrofotométrico em comprimento de onda máximo de 236 nm³ e a solução amostra não apresentou leitura na região de comprimento de onda de 200 a 350 nm. Resolveu-se preparar uma nova solução amostra dez vezes mais concentrada que a solução anterior e, após leitura em espectrofotômetro, verificou-se perfil espectrofotométrico desta solução amostra muito semelhante ao da solução padrão de Bromazepam. Essa análise foi realizada em duplicata e os resultados obtidos foram 0,5106 mg e 0,5250 mg de Bromazepam por peso médio de cápsulas, correspondendo a 8,51% e 8,75% da dose declarada na rotulagem do produto. A curva analítica do

Bromazepam apresentou coeficiente de correlação linear de 0,9997, demonstrando uma boa linearidade. O ensaio de identificação de Bromazepam foi realizado por cromatografia em camada delgada conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira, 4ª ed. (2002)², apresentando resultado satisfatório quanto à mancha principal obtida da solução amostra que correspondeu em posição e cor àquela obtida com a solução padrão.

O uso despercebido de medicamentos com subdosagem pode levar a falhas terapêuticas do tratamento no paciente, provocando um agravamento natural da doença, porém não sendo associado à sua falta de ação terapêutica. Uma prática muito comum em farmácias magistrais é a preparação de matérias-primas diluídas para poder diminuir o erro durante a pesagem dessa⁴, porém a embalagem dessas substâncias deve conter informações claras no caso da matéria-prima concentrada, identificada com o alerta: “ATENÇÃO, ESTA SUBSTÂNCIA SÓ PODE SER UTILIZADA QUANDO DILUÍDA”. No caso da substância diluída, “SUBSTÂNCIA DILUÍDA”, com o nome da substância mais o seu fator de diluição⁵. Um erro no cálculo da diluição ou no preparo da formulação das cápsulas pode ter sido a causa do teor estar tão abaixo do declarado.

Apesar de existirem legislações para as Boas Práticas de Manipulação⁵ e as técnicas de controle de qualidade em processo e produto acabado, verifica-se que ainda ocorrem dificuldades em cumprir essas normas que resultam em desvios da qualidade na produção de medicamentos que podem ter consequências graves⁶. Esses riscos são reais e mostram que é importante a fiscalização

acompanhar a implantação e o cumprimento do sistema de controle de qualidade em farmácias de manipulação. Para evitar casos de subdosagem ou superdosagem de fármacos em preparações magistrais, um procedimento sugestivo para as farmácias de manipulação seria realizar um controle de qualidade de seus produtos acabados para qualificar e/ou quantificar o(s) fármaco(s) do medicamento por métodos acessíveis como titulação, cromatografia em camada delgada, bem como por espectrofotometria no UV/Vis utilizando o E1% para o cálculo das substâncias³ e ter uma estimativa em controle de produtos.

REFERÊNCIAS

1. Sweetman SC. Martindale: The Complete Drug Reference. 37a ed. Londres: The Pharmaceutical Press; 2011.
2. Brasil. Farmacopeia Brasileira, Volume 2. 4a ed. Brasília: Anvisa; 2002.
3. Analytical and Toxicological Data. In: Clarke EGC, organizador. Clarke's Isolation and Identification of Drugs in pharmaceuticals, body fluids and post-mortem material. 2a ed. Londres: The Pharmaceutical Press; 1986. p. 400.
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Paumgarten FJR. Medicamentos manipulados [consulta pública na Internet], 2005. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>.
5. Brasil. Resolução da Diretoria Colegiada nº 67, de 8 de outubro de 2007, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Dispõe sobre Boas Práticas de Preparação Magistrais e Oficiais para uso Humano em Farmácias. Diário Oficial [da] União, Poder Executivo, Brasília, DF; 2007.
6. Yano HM, Bugno A, Auricchio MT. Intoxicação por colchicina em formulação manipulada. Rev Inst Adolfo Lutz (Impr.) [periódico na Internet]. 2008; Dez [citado 2011, Abr 19];67(3):234-236.

Conjuntivite bacteriana na região de Ribeirão Preto-São Paulo

Jaqueline Otero SILVA, Paulo da SILVA, Ana Maria Machado CARNEIRO, Marta Inês Cazentini MEDEIROS
Núcleo de Ciências Biomédicas – Laboratório de Bacteriologia,
Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto (CLR VI),
Instituto Adolfo Lutz

A conjuntivite bacteriana é uma das mais comuns infecções oculares que ocorre, principalmente, na infância, podendo ser classificada em forma aguda, hiperaguda e crônica. A forma aguda é de distribuição mundial e representa a vasta maioria dos casos¹. Apresenta uma duração menor que quatro semanas, sendo mais comumente causada por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus* spp. A forma hiperaguda é caracterizada por começo abrupto, com secreção purulenta amarela esverdeada, profusa e espessa, às vezes, com a formação de membrana inflamatória, tendo como causa mais frequente a *Neisseria gonorrhoeae*. Na forma crônica, os sintomas ultrapassam quatro semanas, frequentemente, ocorrendo recidivas e tem como agente mais comum *S. aureus*. O propósito deste estudo retrospectivo foi verificar a predominância dos agentes etiológicos de casos de conjuntivites na região de Ribeirão Preto, no período de 1997 a 2009, quando foram encaminhados 221 casos sendo 168 amostras de secreção conjuntival e 53 cepas para identificação dos agentes etiológicos, isolados em outros laboratórios. As amostras foram coletadas do saco conjuntival e imediatamente inoculadas no meio de ágar chocolate preparado com Brain Heart Infusion (BHI) com 10% de sangue desfibrinado de carneiro. As culturas foram incubadas a 35/37 °C

por 24 a 48 horas em um ambiente de CO₂ (5-10%) e umidade. As bactérias apresentando morfologia de bacilos Gram negativos, os quais eram suspeitos de ser *Haemophilus* spp., foram fenotipicamente identificados de acordo com Kilian e Biberstein². Para os demais isolados bacterianos, foram utilizadas técnicas padronizadas para realização da cultura e da identificação de bactérias de importância clínica³.

Do total de 221 casos, 50,23% (n = 111) pacientes pertenciam ao sexo masculino e 42,08% (n = 93) ao feminino, sendo 7,69% (n = 17) sem informação. A idade dos pacientes variou de 7 dias a 86 anos, sendo a faixa etária mais prevalente entre 1 a 9 anos (28,05% = 62 casos). Dentre as 137 (61,99%) culturas positivas, em 3 (2,19%) ocorreram infecção mista. Os agentes bacterianos isolados foram 32,11% (n = 44) *Haemophilus influenzae*, 8,76% (n = 12) *Haemophilus* sp, 18,98% (n = 26) *Streptococcus pneumoniae*, 12,41% (n = 17) *Staphylococcus aureus*, 17,52% (n = 24) *Staphylococcus* sp coagulase negativa, 0,73% (n = 1) *Neisseria gonorrhoeae* e 11,68% (n = 16) outros agentes bacterianos conforme mostra a Figura 1.

Verificou-se que no período de 12 anos, o maior número de casos de conjuntivite ocorreu no triênio 1997-1999 (59,73%), tendo um decréscimo nos anos seguintes (40,27%). A figura 2 apresenta a distribuição anual dos casos de conjuntivite bacteriana encaminhados ao IAL (Ribeirão Preto) entre 1997

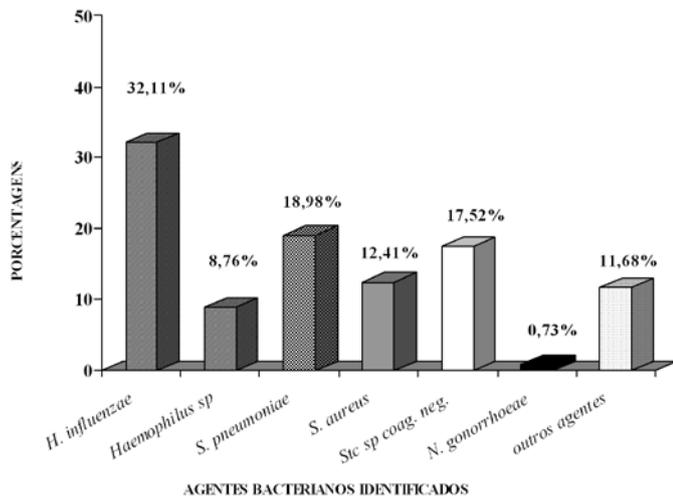


Figura 1. Porcentagens dos agentes bacterianos isolados nas 137 culturas positivas

a 2009. O diagnóstico da conjuntivite aguda se dá pela presença dos sinais clínicos de secreção ocular purulenta ou hiperemia da conjuntiva. A etiologia dessa infecção tem sido documentada como bacteriana em 54 a 73% dos casos pediátricos⁴. Os patógenos, isolados incluem *Haemophilus influenzae* não tipáveis (44 a 68% dos casos) e *Streptococcus pneumoniae* (7 a 21% dos casos). Outros agentes bacterianos menos comuns envolvidos com conjuntivite incluem *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus pyogenes*⁵. Os resultados apresentados neste estudo corroboram com aqueles citados na literatura, já que em cerca de 40% dos casos foram isolados do gênero *Haemophilus* e 19% de *S. pneumoniae*. Na maioria dos casos de conjuntivite bacteriana aguda existe a evolução positiva de seu prognóstico, devido sua autolimitação e ausência de sequelas ou redução da acuidade visual. Entretanto, essa relativa benignidade não pode iludir o especialista, devendo os pacientes serem acompanhados. Total atenção deve ser direcionada àqueles casos cujo agente etiológico tenha sido *Haemophilus influenzae* biotipo *aegyptius*. Além de ser causadora de conjuntivite, essa bactéria está também relacionada com a Febre Purpúrica Brasileira (FPB), doença infecciosa que apresenta sintomas semelhantes aos de meningococemia. A FPB foi descrita pela primeira vez em 1984, em crianças de 3 meses a 8 anos, apresentando um quadro

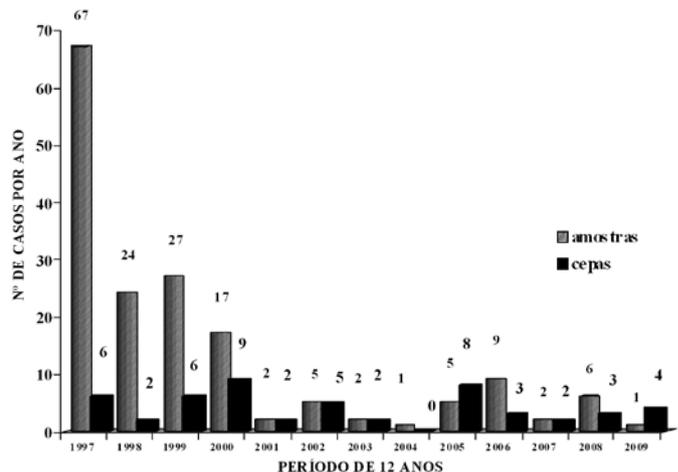


Figura 2. Distribuição anual dos casos de conjuntivite bacteriana encaminhados no IAL - Ribeirão Preto

inicial agudo de febre alta associada a vômitos e dores abdominais. Todos os casos estudados precediam um quadro de conjuntivite bacteriana purulenta, ocorridos entre 3 a 15 dias antes dos sintomas descritos⁶. Sendo a conjuntivite bacteriana uma doença altamente contagiosa, justifica-se a contínua vigilância dos casos de surtos como medida profilática, que possa prevenir a disseminação e monitorar a FPB.

REFERÊNCIAS

1. Mannis M.J; Plotnik RD. Bacterial conjunctivitis. In: Tasman M. & Jaeger E.A. Duane's clinical ophthalmology; Philadelphia; 2005, p.1-11.
2. Kilian M; Biberstein EL. Haemophilus. In: Kriec NR. & Holt JG – Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore;1984, p.558-69.
3. Murray PR. et al. Manual of Clinical Microbiology. Washington, D.C. ASM Press; 1995, p. 1426-53.
4. Bodor FF. Diagnosis and management of acute conjunctivitis. Scmin Infect Dis . 1998; 9:27-30.
5. Harrison C J, Hedrick JA, Block SL, Gilchrist MJR. Relation of the outcome of conjunctivitis-otitis syndrome to identifiable risk factors and oral antimicrobial therapy. Pediatr Infect Dis J. 1987; 6: 536-40.
6. Kerr-Pontes LRS; Ruffino-Netto A. Estudo epidemiológico da febre purpúrica brasileira - Epidemia em localidade do Estado de São Paulo (Brasil), 1986. Rev Saúde Públ, S. Paulo. 1991; 25: 375-80.

Principais micro-organismos encontrados em corrimento endocervical e uretral Ribeirão Preto-SP

Jaqueline Otero SILVA, Paulo da SILVA, Ana Maria Machado CARNEIRO, Natália FERREIRA, Gisele Maria FERREIRA, Marta Inês Cazentini MEDEIRO
Núcleo de Ciências Biomédicas, Laboratório de Bacteriologia, Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto (CLR VI), do Instituto Adolfo Lutz

As doenças sexualmente transmissíveis (DST) são muito frequentes e muitas apresentam grande potencialidade para complicações graves, chegando a ocasionar importantes problemas de saúde. Nos últimos anos, principalmente após o início da epidemia da AIDS, as DSTs readquiriram importância como problema de saúde pública em quase todos os países do mundo¹.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de micro-organismos identificados em amostras de corrimento endocervical e uretral em casos de infecções genitais. No período de maio de 2007 a maio de 2009, foram analisadas 236 amostras de secreção endocervical e uretral para o diagnóstico laboratorial das doenças sexualmente transmissíveis. Os materiais foram provenientes de pacientes atendidos em ambulatórios de DST e clínicas de ginecologia do município de Ribeirão Preto. Foram realizados esfregaços da secreção em lâmina para bacterioscopia e coletado um *swab*, o qual foi transportado em meio de AMIES, para realização da cultura. Em 21% dos casos foi enviada secreção em salina, para pesquisa direta de *Trichomonas* sp. Os esfregaços foram corados pelo

método de Gram e submetidos à bacterioscopia, enquanto a cultura foi realizada em meios de Thayer Martin, o qual foi suplementado com biovitalex e VCNT (vancomicina, colistina, nistatina e trimetropim), Müller Hinton sangue e ágar Sabouraud dextrose. Os isolados foram identificados por métodos tradicionais de acordo com a suspeita clínica^{2,3}. Para pesquisa de *Trichomonas* sp, foram preparados exames a fresco do material após centrifugação a 2000 rpm por 10 minutos.

Foram analisadas 236 amostras, das quais 75,4% pertenciam ao sexo feminino e 25,6%, ao sexo masculino. A faixa etária mais frequente foi de 21 a 30 anos, representando 41,10% dos pacientes. De acordo com o protocolo de coleta, 43,7% e 25,4% dos pacientes foram portadores HPV e HIV, respectivamente. Quanto à bacterioscopia, 7,2% das amostras exibiram estruturas sugestivas de *Trichomonas* sp; 14,4% apresentaram “clue cells”, 8,1% apresentaram diplococos Gram negativos, 7,7% leveduras e/ou pseudohifas. Quanto às culturas, em 13,6% das amostras ocorreu crescimento de *Neisseria gonorrhoeae*; em 9,4%, de *Candida* sp; em 8,5%, de *Streptococcus agalactiae*; em 11,0%,

de bacilos Gram positivos corineformes e em 8,1% houve crescimento de outros gêneros bacterianos.

Os micro-organismos encontrados nos corrimentos endocervicais e uretrais demonstram a variedade de agentes patogênicos associados às infecções sexualmente transmissíveis, muitas vezes negligenciados em detrimento do destaque dado ao HIV e HPV. As infecções sexuais de origem bacteriana e fúngica merecem destaque pela frequência em que ocorrem e pela facilidade de transmissão. A caracterização etiológica das DST é fundamental para o controle da disseminação da doença e, principalmente, porque a DST constitui

uma importante porta de entrada para a infecção pelo HIV.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST. 3a ed. Brasília: MS; 1999. p.142.
2. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Cultura, Isolamento e Identificação da *Neisseria gonorrhoeae*. Brasília: MS; 2007. 67p. (Série TELELAB)
3. Murray, PR (ed). Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 1995. p. 1426-1453.

Identificação de *Ginkgo biloba* em cápsulas manipuladas de *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato) – Estudo de caso

**Helena Miyoco YANO, Daniele Mancini de OLIVEIRA,
Mariangela Tirico AURICCHIO**
*Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes,
Instituto Adolfo Lutz*

O gênero *Uncaria* (Rubiaceae), típico de regiões tropicais, é representado na América do Sul e Central por duas espécies, *U. tomentosa* (Willd.) DC e *U. guianensis* (Aubl.) Gmel, conhecidas popularmente como unha-de-gato¹. Dentre elas, a espécie *U. tomentosa* tem sido a mais estudada, à qual são atribuídas atividades imunoestimulante, citotóxica, anti-inflamatória e antioxidante, o que a torna uma planta medicinal de interesse no tratamento de artrites, reumatismo, neoplasias, úlcera gástrica, infecções bacterianas e fúngicas, entre outras indicações².

A espécie *Ginkgo biloba* (Kämpfer) E, originária da Coreia, da China e do Japão, é utilizada na prática clínica em diversas doenças como distúrbios de memória, demência, síndrome de Alzheimer, glaucoma, distúrbios cardiovasculares, isquemia cerebral, em doenças psiquiátricas e na depressão³.

Em fevereiro de 2010, o Núcleo de Ensaios Físicos e Químicos em Medicamentos do Instituto Adolfo Lutz recebeu uma amostra de um fitoterápico manipulado, cujo rótulo foi declarado como “unha-de-gato” com suspeita de que esta conteria o *Ginkgo biloba*. Inicialmente, o laboratório realizou

uma análise visual de aspecto, comparando o pó da amostra com os extratos padrão de *U. tomentosa* e *G. biloba* obtidos por empresa de fitoterápicos com certificado de análise, sendo que o aspecto da amostra diferia quanto à coloração com o extrato padrão de *U. tomentosa* (unha de gato) e apresentando tom esverdeado coincidindo com a coloração do extrato padrão de *G. biloba*. Em seguida, realizou-se um perfil cromatográfico da amostra com os extratos padrão de *U. tomentosa* (unha-de-gato) e *G. biloba*, segundo metodologia estabelecida por Valente et al.¹ Foram realizadas extrações para obtenção de fração orgânica rica em alcaloides com acetato de etila em meio alcalino e posterior identificação desses por cromatografia em camada delgada. A fase móvel utilizada (Sistema I) foi uma mistura de acetato de etila: hexano (95:5, v/v), com percurso ascendente de 10 cm. A visualização foi feita em luz UV 254/366¹, seguida de revelação com reagente Dragendorff¹. Para a identificação de *Ginkgo biloba*, foi reproduzida metodologia preconizada na Farmacopeia Americana⁴ (Sistema II), empregando-se os marcadores rutina e ácido clorogênico (reagentes Sigma), na concentração de 0,3 mg/mL e 0,1 mg/mL, respectivamente. A

amostra foi comparada com extratos de *G. biloba* e *U. tomentosa* (unha-de-gato). A amostra e o extratos de *G. biloba* e *U. tomentosa* (unha-de-gato) foram dissolvidos em uma mistura de metanol e água (8:2, v/v) e aquecidos por 10 minutos em banho-maria a 60 °C. A fase móvel utilizada foi uma mistura de acetato de etila: água: ácido acético glacial: ácido fórmico anidro (67,5: 17,5: 7,5: 7,5 v/v/v/v). Após percurso ascendente de 10 cm, a revelação foi feita com revelador NP (solução de 2-amino etildifenilborinato), seguida de visualização em luz UV 254/366⁴.

Os resultados das análises demonstraram que as manchas obtidas no percurso do extrato padrão alcaloídico de unha-de-gato não aconteceram nos percursos da amostra e do extrato de *G. biloba* (Sistema I), por cromatografia em camada delgada. No Sistema II, o perfil cromatográfico da amostra coincidiu com os perfis do extrato de *Ginkgo biloba* e com as típicas manchas das soluções de rutina (cor amarela) e ácido clorogênico (cor azulada), confirmando-se a presença de *Ginkgo biloba* na amostra, enquanto que o extrato padrão de *U. tomentosa* (unha-de-gato) não desenvolveu manchas neste sistema cromatográfico.

As farmácias de manipulação são estabelecimentos que manipulam formulações officinais e magistrais segundo procedimentos farmacotécnicos. É indispensável que esses preparados atendam às Boas Práticas de Manipulação (BPM), de acordo com a RDC n° 67, de 8 de outubro de 2007.

Assim como ocorre com o uso de medicamentos sintéticos, o uso de medicamentos fitoterápicos também pode levar à ocorrência de efeitos adversos. No entanto, quando esses efeitos são detectados, dificilmente associados ao uso do fitoterápico, talvez porque não há tradição dos médicos em relacionar os efeitos adversos a medicamentos com prováveis interações com plantas e/ou medicamentos fitoterápicos, dando a ideia, muitas vezes equivocada, de que esses produtos são totalmente seguros⁵. Outro fator contribuinte para isso é a crença muito frequente do paciente de que “por ser natural, não fará mal”.

Existem vários relatos de casos sobre prováveis interações do *G. biloba* com fármacos anticoagulantes orais, antiplaquetários, anti-inflamatórios não esteroidais, anticonvulsivantes, antidepressivos, anti-hipertensivos e antiulcerosos. O uso concomitante do Ginkgo com anticoagulantes orais e antiplaquetários pode aumentar o risco de complicações hemorrágicas. O mesmo pode ocorrer com o uso concomitante de anti-inflamatórios não esteroidais levando ao aumento da incidência de sangramentos pelo fato dos ginkgolídeos A e B, presentes no Ginkgo, serem inibidores do fator de agregação plaquetária. A associação com medicamentos anticonvulsivantes pode diminuir a eficácia do tratamento, assim como o uso concomitante com antidepressivos, pode aumentar os efeitos sedativos podendo provocar coma⁵. O presente relato alerta os possíveis riscos para a saúde do paciente frente à utilização despercebida de um fitoterápico: *Ginkgo biloba*, que usado concomitantemente com medicamentos acarreta interações medicamentosas indesejáveis. Do ponto de vista da Vigilância Sanitária, o episódio ilustra os problemas que a deficiência na implementação das Boas Práticas de Manipulação⁶ podem originar nas farmácias de manipulação e os impactos para a saúde do consumidor/paciente. É imprescindível que haja sensibilização dos profissionais responsáveis pelas farmácias de manipulação em seguir os requisitos das Boas Práticas de Manipulação⁶ e garantir ao consumidor produtos de boa qualidade e segurança, evitando riscos à saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

1. Valente LMM, Alves FF, Bezerra GM, Almeida MBS, Rosario SL, Mazzei JL et al. Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcaloides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero *Uncaria*. Rev bras farmacogn [Internet]. 2006;16(2):216-223. Disponível em [http://www.scielo.br/scielo.php]

-
2. Heitzman ME., Neto C., Winiarza E, Vaisberg A J. and Hammond G B. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of Uncaria (Rubiaceae) Phytochemistry [Internet]. 2005;66(1):5-29 Disponível em [<http://www.sciencedirect.com/science>]
 3. Destro MWB, Speranzini MB, Destro C, Guerra C., Recco GC, Romagnolo LGC. Estudo da utilização no pré-operatório de medicamentos ou drogas fitoterápicas que alteram a coagulação sanguínea. Rev Col Bras Cir [Internet]. 2006;33(2):107-111. Disponível em [<http://www.scielo.br/scielo.php>]
 4. United States Pharmacopeia: 28 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2005.
 5. Alexandre RF., Bagatini F., Simões CMO.. Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos à base de ginkgo ou ginseng. Rev bras farmacogn [Internet]. 2008;18(1): 117-126. Disponível em [<http://www.scielo.br/scielo.php>]
 6. Brasil. Ministério da Saúde. Anvisa. Resolução RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Altera o regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação em Farmácias. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 9 out. 2007. n 195, p. 29-58.

Acidentes de trabalho com material biológico entre trabalhadores do setor de Saúde no DRS X (Departamento Regional de Saúde X) de Piracicaba-SP, ocorridos entre os anos de 2005 e 2008

Kaizer José Ferreira ALVES, José Antônio Pistarín BERRA
*Núcleo de Ciências Biomédicas, Centro Regional de Rio Claro-SP,
Instituto Adolfo Lutz*

No setor da Saúde, os acidentes de trabalho podem ser relacionados a fatores físicos, químicos, biológicos, psicossociais, ergonômicos e, até mesmo, com a violência ocupacional^{1,2}. É um assunto pouco abordado², mas de relevância, pois acarreta perdas aos empregadores e, principalmente, aos trabalhadores.

Objetivando categorizar os trabalhadores da área de Saúde que se envolveram com acidente biológico, assim como suas causas, foi feito um levantamento descritivo dos acidentes com material biológico, ocorridos com o conjunto de profissionais da área da Saúde no município de Leme (SP), no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2008. Essa pesquisa teve por objetivo levantar subsídios para colaborar na elaboração de um Sistema de Vigilância, visando prevenir e, conseqüentemente, minimizar os acidentes com esses profissionais.

Os dados foram obtidos a partir das fichas de investigação de acidentes de trabalhos com exposição a materiais biológicos (Sinan), as quais foram enviadas para a Seção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz – Regional de Rio Claro, juntamente com o pedido de análise clínica e o material biológico das pessoas envolvidas no

acidente. Esses dados foram analisados através do *software* livre “R”³.

No período estudado, foram analisadas 147 fichas de notificação (Sinan), destas, 50 (34%) envolviam auxiliares de enfermagem, 28 (19,05%) técnicos de enfermagem, 20 (13,6%) médicos, 11 (7,5%) auxiliar de serviços gerais, 5 (3,4%) dentistas, 5 (3,4%) enfermeiras e 28 (19,05%) envolviam outros trabalhadores.

As causas mais frequentes (figura 1) foram acidentes percutâneos em 93 casos (63,28%), seguida do contato direto com sangue em mucosa (oral e/ou ocular) com 16 casos (10,88%). Dos 50 auxiliares de enfermagem, 35 (70%) foram afetados apenas por acidentes percutâneos e 4 (8%) por contato de sangue em mucosa. Os dados mostram um aumento das notificações no decorrer dos anos (figura 2), confirmando a necessidade de uma maior adesão às medidas de precauções padrão pelos trabalhadores da saúde, em especial os auxiliares de enfermagem, para minimizar o risco de transmissão ocupacional por patógenos. Além disso, práticas de risco, como encape ativo de agulhas, descarte e transporte inadequados de materiais perfurocortantes, entre outras, devem ser evitadas. Embora tais medidas sejam fundamentais, a oferta de material de trabalho adequado, educação

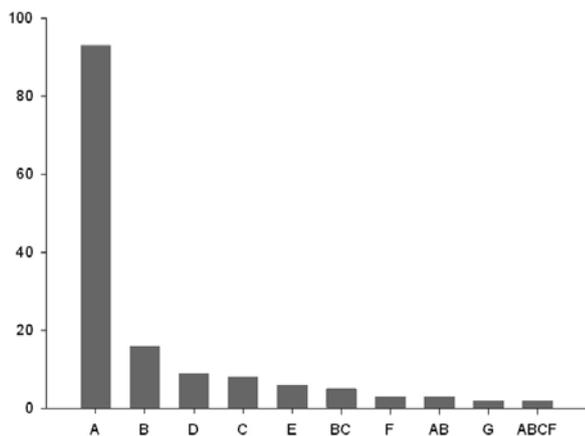


Figura 1. Causas de acidentes biológicos em trabalhadores da Saúde no município de Leme (SP), em que A – percutânea (agulha); B – contato com sangue (mucosa oral e/ou ocular); C – contato com sangue (pele íntegra); D – lesão percutânea com material perfurocortante contendo sangue; E – lesão percutânea com material perfurocortante de origem desconhecida; F – contato com sangue em pele não íntegra e G – outros

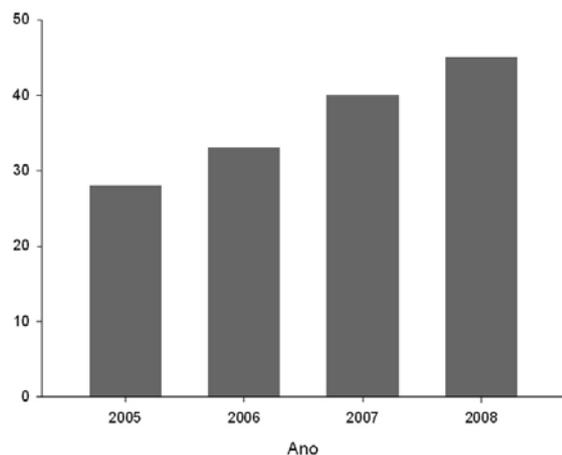


Figura 2. Número de acidentes com material biológico por ano no município de Leme (SP)

continuada, com atualizações dos procedimentos utilizados pelos profissionais, organização no trabalho, mudança de comportamento são indispensáveis.

A repercussão do acidente vai além do ato de se acidentar, passando pelos sentimentos de medo, desespero, preocupação, ansiedade e insegurança⁴.

Mesmo sendo evidenciado um número crescente no decorrer dos anos, pode ter ocorrido subnotificação de acidentes. A maioria das notificações evidencia a agulha como o maior problema a ser enfrentado, pois os trabalhadores não aderem às medidas de precauções padrão se expondo às práticas de risco, como encape ativo de agulhas, descarte e transporte inadequados de materiais perfurocortantes.

A repercussão do acidente vai além do ato de se acidentar, passando pelos sentimentos de medo, desespero, preocupação, ansiedade e insegurança⁴.

REFERÊNCIAS

1. Brasília. Riscos Biológicos – Guia Técnico. Os riscos biológicos no âmbito da Norma Regulamentadora nº 32. Brasília, DF, 2008. p66.
2. Chiodi MB, Marziale MHP. Riscos ocupacionais para trabalhadores de Unidades Básicas de Saúde: Revisão Bibliográfica. *Acta Paul Enferm.* 2006; 19(2):212-7.
3. Rev. Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 2009; 3-900051-07-0. URL <http://www.R-project.org>.
4. De Castro MR, Farias SNP. Repercussões do Acidente com Perfurocortantes para a Enfermagem: uma construção a partir do Grupo Focal. *Esc Anna Nery Rev Enferm.* jul-set. 2009;13(3):523-29.

Bacillus cereus em alimento oferecido em festa típica popular no interior do Estado de São Paulo

Alzira Maria Morato BERGAMINI¹, Silvia Helena Chinarelli RECHE¹, Cinthia Iara de AQUINO², Maria Aparecida de OLIVEIRA¹

¹Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional VI, Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto

²Programa de Aprimoramento Profissional (PAP) - Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional VI, Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto

Eventos de curta duração, como feiras, quermesses, rodeios e festas típicas municipais são comuns no território brasileiro, devido ao caráter dinâmico de nossa cultura e tradição popular, cujo cardápio é muito variado. Por serem eventos de caráter transitório, há grande dificuldade no controle da qualidade dos produtos alimentícios disponíveis aos visitantes.

Entre os principais micro-organismos potencialmente patogênicos envolvidos em surtos de toxinfecção alimentar podemos destacar o *Bacillus cereus*. A maioria das linhagens de *B. cereus* é capaz de produzir metabólitos extracelulares relacionados a mecanismos de virulência, dentre os quais se destacam as toxinas diarreica e a emética, responsáveis por duas formas distintas de gastroenterite conhecidas como síndrome diarreica e síndrome emética, respectivamente. Os surtos de intoxicação alimentar, geralmente, estão relacionados às falhas na conservação dos produtos devido à exposição inadequada de tempo e temperatura propiciando, assim, a multiplicação dos micro-organismos. Desse modo, o *B. cereus* quando presente nos alimentos, com populações igual ou maior que 10^5 células viáveis por grama ou mL, pode ser responsável pela ocorrência de intoxicações causadas pela ingestão de altas

concentrações de toxinas no alimento¹. Os alimentos que requerem muita manipulação durante o preparo, que são mantidos sem refrigeração por tempo elevado e/ou são apenas levemente reaquecidos são fontes potenciais de veiculação desse micro-organismo. Um tratamento térmico adequado dos alimentos é fundamental no controle dessa bactéria e também da toxina diarreica, que é destruída pelo aquecimento a 55 °C por 20 minutos².

Esse estudo teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de alimentos oferecidos para o consumo da população durante uma festividade típica popular em um município de abrangência do Instituto Adolfo Lutz – Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto – VI, cujos resultados servirão como um dos parâmetros para dimensionamento dos riscos à que a população consumidora se expõe durante os eventos de curta duração.

Durante a festividade, os fiscais do Serviço Municipal de Vigilância Sanitária coletaram oito amostras de alimentos em embalagens aluminizadas tipo “marmitex”. Cada amostra foi colocada dentro da embalagem pelos próprios manipuladores com seus utensílios. As amostras analisadas foram: quibe cru temperado, acompanhado de pão sírio; bacalhoada;

Tabela 1. Resultados dos ensaios microbiológicos realizados em oito amostras de alimentos coletadas durante festividade típica popular

Alimentos	Micro-organismos				
	Coliformes a 45 °C	Estafilococos	<i>Bacillus cereus</i>	Clostrídios sulfito	<i>Salmonella</i> spp.
	(NMP/g)	coagulase positivo (UFC/g)	(UFC/g)	redutores a 46 °C (UFC/g)	(25 g)
Quibe cru temperado/pão sírio	1,1x10 ⁴	< 1,0x10 ²	< 1,0x10 ²	< 1,0x10	ausente
Bacalhoadada	< 0,3	< 1,0x10 ²	< 1,0x10 ²	< 1,0x10	ausente
Escondidinho de calabresa	< 0,3	< 1,0x10 ²	< 1,0x10 ²	< 1,0x10	ausente
Cassoulet	< 0,3	< 1,0x10 ²	< 1,0x10 ²	< 1,0x10	ausente
Comida mineira	< 0,3	< 1,0x10 ²	< 1,0x10 ²	< 1,0x10	ausente
Tepanhaque	2,3	< 1,0x10 ²	< 1,0x10 ²	< 1,0x10	ausente
Tempurá de legumes e camarão	< 0,3	< 1,0x10 ²	< 1,0x10 ²	< 1,0x10	ausente
Tapioca doce	2,3	< 1,0x10 ²	2,5 x 10 ⁵	< 1,0x10	ausente

escondidinho de calabresa; cassoulet (prato à base de feijão branco, carnes suína e bovina, bacon, linguiça e carne seca), comida mineira (arroz, tutu de feijão, torresmo, couve e carne suína), tepanhaque (prato de origem japonesa à base de carne e legumes temperados com molho de soja), tempurá de legumes e camarão (prato de origem japonesa, em que os ingredientes são envoltos em uma massa e fritos) e tapioca doce (recheio de brigadeiro).

Todas as amostras foram processadas de acordo com os métodos recomendados pela APHA (2001)³ para obtenção do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes de origem fecal (termotolerantes), pesquisas de *Salmonella* sp., Estafilococos coagulase positivo, *Bacillus cereus*. Com exceção da tapioca doce, a pesquisa de Clostrídio sulfito redutor a 46 °C também foi realizada nos demais alimentos.

Os resultados obtidos foram avaliados de acordo com os padrões microbiológicos para alimentos estabelecidos pela RDC nº 12/2010 da ANVISA/MS⁴. Do total de amostras, 75% estavam satisfatórios com a legislação. O quibe cru foi considerado insatisfatório por conter coliformes fecais (1,1 x 10⁴/g) acima do limite tolerado, enquanto a tapioca doce por conter *Bacillus cereus* (2,5 x 10⁵UFC/g) em número potencialmente capaz de causar surto de toxinfecção (Tabela 1).

As principais fontes de contaminação microbiana podem ocorrer, principalmente, devido

a falhas no processamento ao longo da cadeia de produção, ou seja, matéria-prima contaminada, higienização inadequada dos equipamentos e utensílios utilizados no preparo dos alimentos, armazenamento incorreto e manipuladores com costumes de higiene pessoal deficientes. Ademais podemos destacar o fato de que em eventos de curta duração e de caráter beneficente, os colaboradores, na maioria das vezes, são voluntários e não possuem ligação profissional com a área de alimentação, negligenciando, portanto, as regras e as orientações dos agentes de Vigilância Sanitária.

REFERÊNCIAS

1. Peresi JTM, Almeida IAZC, Teixeira ISC, Lima SI, Carnicel FA, Hoffmann FL. Surtos de doenças transmitidas por *Staphylococcus aureus*, no período de dezembro de 2001 a abril de 2003, na região de São José do Rio Preto-SP. Rev Inst Adolfo Lutz. 2004;63(2):232-237.
2. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 2008.
3. Dowes FP, Ito K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington, D.C.: American Public Health Association (APHA); 2001.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº 12, de 2/1/2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. [acesso em 12 abr 2011]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/1201rdc>.

Desenvolvimento e validação de método para determinação simultânea de testosterona, metil e propionato de testosterona por cromatografia líquida de alta eficiência por CLAE-UV

Blanca Elena Ortega MARKMAN, Olívia UESSUGUI, Elizabeth Meihuey WU, Roberta Fiusa MAGNELLI
Núcleo Físico Químico de medicamentos, Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes, Instituto Adolfo Lutz

A testosterona e seus ésteres metil e propionato são esteroides androgênicos e referem-se aos hormônios sexuais masculinos. A testosterona é um derivado do ciclopentano perhidrofenantreno, com 19 átomos de carbono, é convertida em 5-alfa-dihidrotestosterona pela enzima 5-alfa-redutase, potencializando a sua ação. A testosterona também pode ser transformada em vários tecidos periféricos para formar o estradiol. O papel do estradiol no homem ainda não está claro, mas um excesso absoluto ou relativo pode provocar feminização. Na mulher, a testosterona é produzida em quantidade muito menor e cumpre importantes funções em aspectos como humor, apetite sexual e sensação de bem-estar.¹ A testosterona e derivados também produzem efeitos anabólicos sistêmicos quando agem em diversos órgãos.

A metil testosterona e o propionato de testosterona são derivados sintéticos da testosterona e apresentam propriedades anabolizantes e antineoplásicas. São utilizados pela Medicina para suprir a deficiência de testosterona e no tratamento dos sintomas da andropausa nos homens. Nas

mulheres, como paliativo no tratamento de câncer de mama, nas dores pós-parto, nos tratamentos de alguns sintomas da menopausa¹, entre outros. São indicados também para quadros de hipogonadismo, na deficiência do metabolismo proteico e amplamente utilizados no meio desportivo com o objetivo de melhorar o desempenho atlético².

Atualmente, os frequentadores de academias e de clubes do país se defrontam com um dos maiores problemas que aflige a sociedade, que é o uso de anabolizantes, com a finalidade de aumento da massa muscular, principalmente^{2,3}. O uso abusivo de anabolizantes esteroidais é feito em grande parte por jovens que praticam atividades física e fazem uso de suplementos alimentares contendo anabolizantes ou como medicamento de uso oral ou injetável³.

No Brasil, a maioria desses produtos comercializados é de procedência estrangeira, sendo alguns importados legalmente e outros por via clandestina, pois não possuem registro sanitário. Os rótulos desses produtos são traduzidos como sendo suplementos nutricionais. A Portaria nº 222, de 24 de março de 1998⁴, define os alimentos destinados para praticantes de atividade física com identidade

e características mínimas de qualidade e exclui substâncias estimulantes, hormônios e outras consideradas como *doping* pelo Comitê Olímpico Internacional (COI).

O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência para determinação simultânea de testosterona e dos sais metil e propionato de testosterona, para atender a demanda dos Serviços de Vigilância Sanitária e Órgãos de Defesa do Consumidor. A metodologia implantada irá analisar anabolizantes em formulações de uso veterinário, suplementos alimentares e/ ou vitamínicos.

Na validação do método, foram utilizadas as substâncias químicas de referência de testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, procedentes do laboratório Fluka Analytical. Os reagentes utilizados foram: metanol, acetonitrila (grau HPLC) e ácido acético p.a., da Merck. Filtros de celulose regenerada de 0,45 µm foram utilizados para filtrar as amostras e a fase móvel. Também foi utilizado uma matriz de suplemento alimentar isenta das substâncias anabolizantes.

Equipamentos utilizados: balança analítica Mettler Toledo modelo AL 204, cromatógrafo líquido de alta eficiência marca Shimadzu série LC-10A/VP, equipado com bomba LC-10AD-VP, detector ultravioleta UV-VIS SPD-10 AV-VP, forno CTO-10 AC-VP, injetor manual Rheodyne modelo 7725 I e alça de 20 µL. Os cromatogramas

foram processados pelo sistema de controle SCL-10 A-VP.

Para o desenvolvimento da metodologia, as condições utilizadas foram: coluna Lichrospher 60 RP-18 select B com partículas de 5 µm, de 250X4 mm da Agilent; detector UV; comprimento de onda em 254 nm, temperatura de 25 °C, fluxo de 1,0 mL/min, fase móvel acetonitrila, metanol e água ultrapurificada (1,5:1:1), como diluente da fase móvel, volume de injeção 20 µL.

As soluções padrão estoques foram preparadas e diluídas adequadamente. Para a preparação da solução da matriz, foi pesada quantidade suficiente de suplemento alimentar para que a concentração final fosse 1 mg.mL⁻¹. Todas as soluções foram filtradas em filtro de 0,45 µm e 20 µL dessas soluções e injetadas no cromatógrafo. Antes de proceder os estudos de validação do método, fez-se a verificação da conformidade do sistema utilizando-se a matriz de suplemento alimentar adicionada dos padrões.

Os critérios de desempenho do método levaram em consideração o tempo de retenção dos padrões, a resolução, o alargamento dos picos, o número de pratos teóricos e a repetibilidade.

As características do método desenvolvido e a adequação do sistema estão apresentados na tabela 1 e na figura 1, respectivamente.

Conforme mostra a figura 1 o método desenvolvido e otimizado mostrou um bom

Tabela 1. Parâmetros de conformidade do sistema para testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, obtidos do sistema cromatográfico desenvolvido

Parâmetros	Valores Encontrados			Valores Recomendados
	Testosterona	Metil Testosterona	Propionato testosterona	
Fator de alargamento (TF)	0,98	1,01	0,82	TF ≤ 2
Pratos teóricos (N)	8571	34463	39041	em geral > 2000
Repetibilidade (RDS %)	0,23	0,27	0,28	<1% para n>5
Resolução (Rs)	8	2	13	Rs >2
Fator de retenção (K)	4	5	9	K>2
Fator de capacidade	3	3	4	-

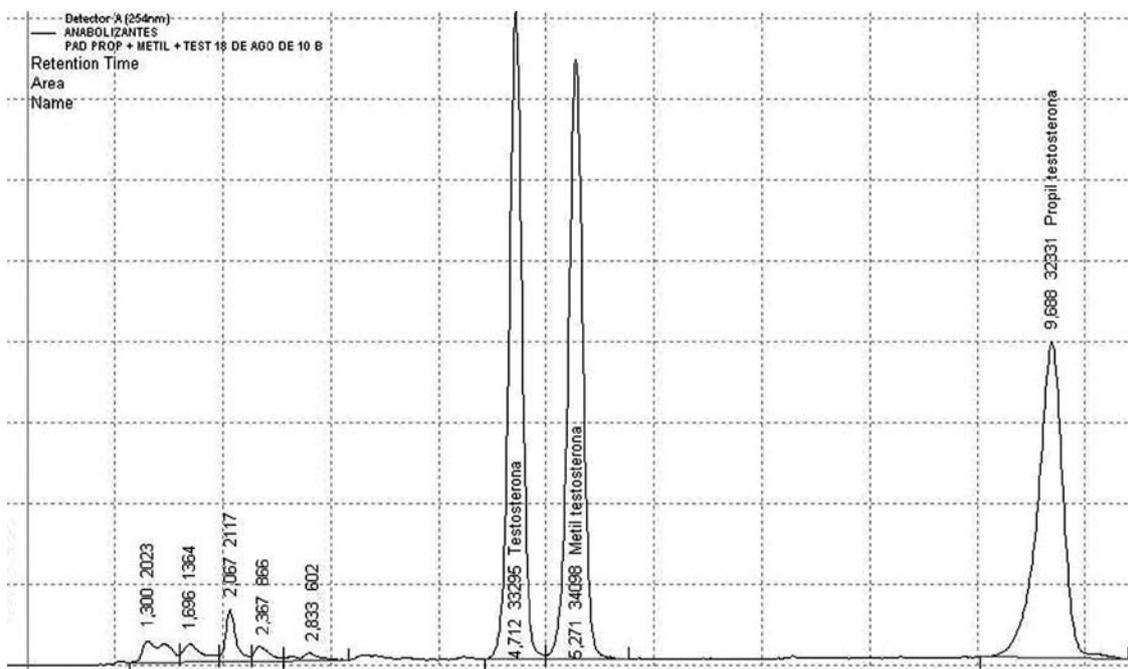


Figura 1. Cromatograma da determinação simultânea dos padrões de testosterona, metil testosterona e propil testosterona, obtidas pelo cromatógrafo líquido SPD 10 AVP Shimadzu, coluna C-18 (Lichrospher 60 RP-18 select B, Agilent) de 250X4 mm (5 μ m), em 254 nm, fase móvel de acetonitrila:metanol:água ultrapurificada (1,5:1:1), a 25 °C; fluxo de 1,0 mL/min, volume de injeção de 20 μ L

desempenho quanto à separação simultânea de testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, apresentando picos simétricos e reprodutíveis. Os tempos de retenção foram de 4,71, 5,27 e 9,68 minutos para testosterona, metil testosterona e propil testosterona, respectivamente. O método proposto apresenta o sistema de adequação com fator de resolução, fator capacidade, assimetria e a repetitividade adequados quando comparados com os valores recomendados, conforme mostra a tabela 1.

Após verificar a conformidade do sistema, o método foi validado de forma independente para testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, de acordo com a RDC n° 899⁵ e incluiu a determinação dos seguintes parâmetros:

Limite de detecção e quantificação

Os ruídos das linhas de base foram determinados com o diluente e os limites de detecção (LD) e foram estabelecidos na razão de 3:1 de sinal/ruído. Os valores individuais determinados foram: 0,01; 0,01; 0,01 μ g/L⁻¹

para testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, respectivamente.

Os limites de quantificação (LQ) foram determinados com valores superiores ao critério de 3 x LD com aceitação de um desvio padrão relativo de $\leq 2\%$. Os valores determinados foram: 0,04; 0,06; 0,15 μ g mL⁻¹ para testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, respectivamente.

Exatidão

A exatidão foi determinada pela medida de três níveis de concentrações em triplicatas independentes, adicionando-se cada padrão à matriz em concentrações entre: 0,022 – 0,028 μ g mL⁻¹, (nível I, 50 %); 0,044 – 0,055 μ g mL⁻¹ (nível II, 100%) e 0,066 – 0,083 μ g mL⁻¹ (nível III, 150). Os valores encontrados para a recuperação foram: 100%, 98% e 95% (testosterona); 101%, 100% e 102% (metil testosterona); 101%, 99% e 99% (propionato de testosterona) para os níveis I, II e III, respectivamente. Critérios para aceitação: 85 – 120%⁵.

Precisão

A precisão foi determinada por análises de replicatas ($n = 9$) dos padrões adicionados à matriz nas concentrações: 0,44; 0,46; 0,55 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, respectivamente. Os desvios padrões relativos (RSD%) obtidos foram de: 0,592%; 2,827%; 1,144%, respectivamente. Limite estabelecido: 3%⁵.

Linearidade

As linearidades do método proposto foram estabelecidas numa faixa contemplando cinco concentrações diferentes em quadruplicata para cada anabolizante. Os intervalos de concentrações estabelecidos foram: 0,040 a 0,84 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para testosterona; 0,06 a 0,86 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para metil testosterona e 0,15 a 0,95 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para propionato de testosterona. O coeficiente de regressão linear (r^2) obtido foi de 0,9996; 0,9999; 0,9996 para testosterona, metil testosterona e propionato de testosterona, respectivamente. Segundo a RDC nº 899⁵, o r^2 deve ser igual ou superior a 0,99 e os valores obtidos pelo método desenvolvido obedecem a esse critério.

O desenvolvimento de um método analítico envolve a otimização de vários estágios como a preparação da amostra, a separação cromatográfica e a quantificação. Parâmetros como a fase móvel, a coluna cromatográfica e o comprimento de onda de detecção devem ser pré-estabelecidos. A validação do método analítico é importante, porque garante o sucesso da utilização da metodologia desenvolvida, além de

detectar erros de procedimento analítico e oferecer evidências comprovadas da eficiência do método.

O método CLAE-UV desenvolvido e validado no presente trabalho é simples, seletivo, exato e preciso para a quantificação dos anabolizantes esteroidais estudados.

REFERÊNCIAS

1. Martindale. The complete drug reference. 34.ed. London: The Royal Pharmaceutical Society of Great Britain; 2005.p.1527.
2. Silva PRP, Danielsk R, Czepielewski MA. Esteróides anabolizantes no esporte. Rev Bras Med Esporte, São Paulo. 2002; 8 (6): 235-43.
3. Tatiana Sousa Cunha; Nádia Sousa Cunha; Maria José Costa Sampaio Moura; Fernanda Klein Marcondes. Esteroides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. Rev Bras Cienc Farm. 2004;40 (2):165-79.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 222, de 24 de março de 1998. Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade para Alimentos para Praticantes de Atividade Física. Diário Oficial [da] União, Brasília- Seção 1, DF, p. 13-5.
5. 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, 02 de junho de 2003.
6. United State Pharmacopeia 31. Ed. Rockville: United State Pharmacopeial Conventions. 2008;p.752-7.

Avaliação e implantação preliminar da técnica de Saccomanno no preparo de amostras de escarro na prevenção do câncer de pulmão

**Yuriko Ito SAKAI, Daniela ETLINGER,
Fabiola Lorenzi DERGOVICS, Julia de Carvalho
TAMBASCIA, Caroline Ferreira dos SANTOS,
Melina Pacini de MOURA, Celso di LORETO**
*Laboratório de Citologia Oncótica, Núcleo de Anatomia
Patológica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz*

O câncer de pulmão é o tipo mais comum de câncer no mundo, sendo um grande problema de saúde pública. O número de novos casos de câncer de pulmão estimado para o Brasil no ano de 2010 foi de 17.800 entre homens e de 9.830 nas mulheres. Estudos epidemiológicos apontam que cerca de 90% dos casos de câncer de pulmão em homens estão relacionados com o tabagismo e outros fatores de risco: exposição ao asbesto, ao gás radioativo e à poluição do ar, assim como infecções pulmonares repetitivos, deficiência ou excesso de vitamina A. O risco de morte por câncer de pulmão é 22 vezes maior entre os fumantes do que entre os não fumantes. No Brasil, segundo dados do INCA 2008, o câncer de pulmão foi responsável por 20.485 óbitos, sendo o tipo de câncer que mais fez vítimas nesse período¹.

O exame citológico do escarro é um teste não invasivo para avaliação do câncer de pulmão, visto que é um exame simples que poderá detectar a presença de células pré-cancerosas/cancerosas do pulmão. Contudo, a ausência de células malignas no escarro, certamente, não exclui a doença. Para análise, o espécime, normalmente, é coletado pela manhã, quando o paciente deve expectorar num frasco de

boca larga, e enviar imediatamente o material ao laboratório para procedimento do esfregaço citológico a fresco². Na impossibilidade do preparo a fresco, os espécimes poderão ser encaminhados adicionando uma solução alcoólica de etanol 50% ou 70% v/v³.

Para preservar e fixar as células presentes na amostra de escarro por vários dias e permitir o transporte para laboratório distante, a literatura recomenda utilizar a técnica de Saccomanno (TS), em que o espécime é coletado em frasco com solução fixadora de Saccomanno (SFS) que contém 2% de polietilenoglicol em álcool 50% (carbowax) até o volume de 50 ml⁴.

O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros da fase pré-analítica e a composição das amostras processadas pela TS *versus* esfregaço direto (ED) convencional.

Foram selecionadas sete amostras de escarro provenientes do SUS, sendo que duas vieram coletadas a fresco e cinco fixadas em álcool 50% v/v. Todas as amostras foram submetidas à técnica de ED convencional e TS. No procedimento a fresco foi realizado inspeção visual aleatória com seleção da área suspeita da secreção de escarro e confeccionadas duas lâminas ED convencional. Na TS o volume

total do espécime foi submetido à ação mecânica do liquidificador de 6 a 25 segundos até a liquefação do muco. O material liquefeito foi centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos, decantado e com o sedimento do concentrado celular foram confeccionados dois esfregaços em lâminas silanizadas de cada amostra, que após secar foram coradas pelo método de Papanicolaou modificado do Instituto Adolfo Lutz. As 28 lâminas analisadas pelos seis profissionais da citologia foram pontuadas e avaliadas no momento do preparo nos cinco parâmetros da fase pré-analítica e nos quatro aspectos citológicos no momento do escrutínio (1 a 4: ruim = 1, regular = 2, bom = 3 e ótimo = 4) (Tabela 1).

Foi analisada a média ponderada da pontuação obtida durante o procedimento para ED/TS, respectivamente. A somatória dos pontos obtidas nos parâmetros pelo ED foi de 18,7 com média 2 e na TS foi 26,8, com média ponderada 3 (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação dos cinco parâmetros da fase pré-analítica e quatro aspectos citológicos das duas técnicas citológicas (ED, e TS) amostra de escarro realizada no Laboratório de Citologia

Parâmetros	ED	TS
Facilidade no procedimento do esfregaço	2.0	3.0
Tempo de preparo	4.0	1.0
Fixação	1.0	4.0
Área do esfregaço	2.0	2.0
Fundo do esfregaço	1.0	4.0
Citomorfológicos	1.8	3.7
Celularidade	2.1	3.8
Tempo de Leitura	1.7	4.0
Gasto laboratorial	3.0	1.3
Total	18.7	26.8

ED: Esfregaço Direto; TS: Técnica de Sacomanno

Amostra do trato respiratório coletado em álcool 50% ou 70% produz rigidez da amostra devido à coagulação das mucoproteínas. As células encolhidas e endurecidas podem dificultar na confecção de esfregaço fino devido à falta de aderência na superfície da lâmina pela ED e

resultar no desprendimento das células durante procedimento da coloração³. Por outro lado, a TS é destituída dessas limitações e fornece vantagens por utilizar o espécime total coletado, resultado do “pool” de amostras, assim como a experiência prévia para seleção da área suspeita não é necessária e, ainda como o meio fixador é efetivo por um mês ou mais, permite também receber o espécime via postal⁵. Para alguns, a manipulação de escarro dessa maneira é mais aceitável que o método de esfregaço direto da área aleatória da secreção do escarro⁶.

Sacomanno et al. encontrou taxas de falso negativos de 12% pelo método de concentração e 46% em esfregaço direto. A TS é mais sensível que o ED convencional com considerável ganho de tempo de escrutínio citológico pelos profissionais devido à confecção mais fina do esfregaço sem a interferência do muco³. Em nosso estudo, a somatória dos pontos obtidas nos parâmetros de ED foi 18,7 com média ponderada 2 foi menor que na TS com média 3 (26,8) (Tabela 1).

A palavra cautela é necessária para utilizar o preparo da TS em amostras de escarro devido à liquefação que produz aerossóis potencialmente infecciosos, por isso, recomenda-se abrir o liquidificador após uma hora da liquefação completada. É recomendável preparar as amostras dentro da cabine de segurança biológica para evitar contaminação ao operador³.

Concluimos que as amostras realizadas pela TS continham melhor representação quanto à celularidade, melhor evidência dos aspectos citomorfológicos devido à redução de muco onde foi possível observar camada homogênea de fundo mais limpo, principalmente células com alterações compatíveis para neoplasia, além de produzir a concentração de células do total da amostra que viabiliza a escolha da técnica em citologia de meio líquido e realização da reação de imuno-citoquímica como auxílio no diagnóstico e prognóstico das neoplasias pulmonares.

REFERÊNCIAS

1. INCA, Instituto Nacional do Câncer, do Ministério da Saúde, estimativa 2010; Disponível em: www.inca.gov.br/estimativa/2010/. Acesso em: 27 de março de 2011
2. Bales CE. Laboratory Techniques. In Koss LG. Koss' Diagnostic Cytology and its Histopathologic bases. 5ª ed – Vol I & II: Philadelphia, Pennsylvania USA: Lippincott Williams & Wilkins Wolters Kluwer Co; 2006.
3. Bibbo M. Cytopreparatory Tecniques. In Bibbo M. Comprehensive Cytopathology. 2ª Ed. New York, USA: W.B. Saunders Co; 1997.
4. Saccomanno G, Saunders RP, Ellis H, Archer VE, Wood BG, Beckler PA. Concentration of carcinoma or atypical cells in sputum. *Acta Cytol.* 1963;7:305.
5. Rizzo T, Schumann GB, Riding JM. Comparison of the pick-and-smear and Saccomanno methods for sputum cytologic analysis. *Acta Cytol.* 1990; 34(6): 875-80
6. Takahashi M. Preparação do esfregaço e fixação em aparelho respiratório. In Takahashi M. Color Atlas of cancer cytology, 2ª ed, Tokyo, Japan: Igaku-Shoin;1981.

Avaliação dos casos de dengue diagnosticados no Centro de Laboratório Regional de Taubaté (CLR XII), no período de 2009 a 2010

**Aline da Silva COSTA², Joyce Suellen Coelho PIRES²,
Maristela Rodrigues de OLIVEIRA¹,
Sandra Irene Sprogis dos Santos**

¹Instituto Adolfo Lutz, Núcleo de Ciências Biomédicas, Centro de Laboratório Regional de Taubaté (CLR XII)

²Bolsista do Programa de Aprimoramento Profissional (PAP/FUNDAP), Centro de Laboratório Regional de Taubaté (CLR XII), do Instituto Adolfo Lutz

A sociedade moderna tem convivido com processos crescentes e concomitantes de urbanização acelerada, poluição, degradação ambiental, deficiências de infraestrutura, saneamento e educação. Todos esses fatores podem contribuir para o surgimento de doenças transmitidas por vetores que geram consequências indesejáveis para a qualidade de vida da população¹. Dentre essas doenças, a dengue se tornou um problema de saúde pública não somente no Brasil, como também em diversos países do mundo, onde cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem nas áreas em que os vírus das doenças podem ser transmitidos².

A dengue é uma arbovirose causada por um Flavivirus, com quatro sorotipos conhecidos: DEN1, DEN2, DEN3 e DEN4³. A transmissão é, predominantemente, urbana, ambiente no qual se encontram todos os fatores fundamentais para sua ocorrência: homem, vírus, vetor e, principalmente, as condições políticas, econômicas e culturais que formam a estrutura que permite o estabelecimento da cadeia de transmissão⁴.

Na questão da saúde pública, pouco ou quase nada se consegue sem a participação de todos, e

essa participação no caso da dengue refere-se à incorporação do conhecimento sobre a doença não somente pela população em geral, mas também pelos diversos setores da sociedade responsáveis pela produção de descartáveis que podem tornar-se criadouros do mosquito¹.

Diante das dificuldades encontradas na luta anti-Aedes, tem-se proposto a utilização de um sistema de vigilância ativa da dengue com o objetivo de detectar precocemente a ocorrência de epidemias. Isso possibilitaria pôr em prática medidas de controle imediatas com o objetivo de reduzir a incidência e, dessa forma, o risco de ocorrência da dengue hemorrágica. Ao mesmo tempo, preconiza a inversão da estratégia de controle, substituindo as ações corretivas por outras organizadas por campanhas preventivas desenvolvidas a partir da participação e da educação comunitária, voltadas para a eliminação de criadouros do vetor⁵.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os casos suspeitos de dengue encaminhados ao Centro de Laboratório Regional (CLR XII) de Taubaté, no período de junho de 2009 a maio de 2010,

para a realização de sorologia para Dengue IgM (ELISA). Foi realizado um estudo retrospectivo descritivo, tendo como instrumento de análise os resultados diagnósticos obtidos no banco de dados do “Sistema de Informação e Gestão Hospitalar”, o SIGH, utilizado pelo laboratório de referência.

Foram inseridos no SIGH os dados de 5718 exames com suspeita de dengue no período estudado, cujos resultados foram inconclusivos, reagentes e não reagentes (tabela 1).

Tabela 1. Frequência dos resultados de sorologia para dengue (Elisa) IgM

Resultados	N	%
Inconclusivo	139	2,4
Não Reagente	1681	29,4
Reagente	3898	68,2
Total	5718	100,0

Dos casos com sorologia reagente para dengue, 54,2% pertenciam ao sexo feminino e 45,8 % ao masculino. Na figura 1, observa-se que em ambos os sexos a prevalência de dengue foi maior nas faixas etárias de 21 a 30 anos de idade (19,2%) e de 31 a 40 anos (19,5%).

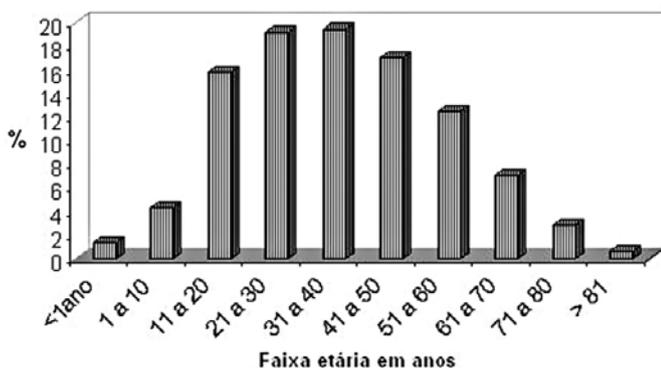


Figura 1. Prevalência dos casos reagentes para dengue IgM quanto à faixa etária

No período estudado, deram entrada no CLR XII de Taubaté amostras suspeitas de dengue de diversos municípios do Vale do Paraíba e Litoral Norte (Caraguatatuba, Ilhabela, São Sebastião e Ubatuba).

As cidades do Vale do Paraíba englobaram: Aparecida, Bananal, Caçapava, Cachoeira Paulista, Campos do Jordão, Cruzeiro, Cunha, Guaratinguetá, Lagoinha, Lorena, Paraibuna, Pindamonhangaba, Piquete, Potim, Queluz, São José dos Campos, Taubaté e Tremembé. Todas as cidades citadas apresentaram casos reagentes para dengue (IgM) no período em questão.

Em relação à localização dos casos de dengue confirmados pela sorologia, os municípios do Litoral Norte apresentaram um índice um pouco mais elevado com relação aos do Vale do Paraíba, conforme demonstra a figura 2.

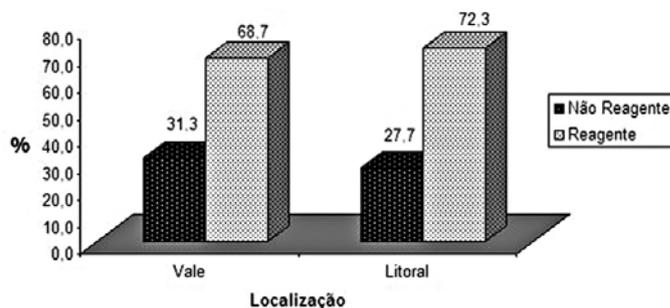


Figura 2. Distribuição dos casos de dengue quanto à sua localização

Devido ao número de casos confirmados laboratorialmente, podemos concluir que a dengue é relevante para a saúde pública da região. Os órgãos de vigilância epidemiológica devem aprimorar ações de controle e estar alerta para a possibilidade da ocorrência de casos de dengue hemorrágica. Como trata-se de uma doença incapacitante, que acarreta considerável comprometimento físico em geral e consequente faltas ao trabalho, supõe-se que a doença trouxe perdas econômicas para a região, pois atingiu, principalmente, a faixa etária mais produtiva, de 21 a 40 anos de idade.

A importância das cidades litorâneas deve-se à vulnerabilidade turística, que propicia condições para a ocorrência da doença, além da urbanização sem a devida estrutura de saneamento, fatores que, possivelmente, influenciaram na incidência de dengue⁶.

Há, portanto, a necessidade de se investir em estudos que esclareçam questões relativas a diversos fatores envolvidos na transmissão da dengue na região. Deve-se ressaltar a importância das instituições de ensino, pois essas têm grande contribuição a oferecer na formação de jovens, com vistas à promoção da saúde, tornando-os cidadãos conscientes sobre sua responsabilidade com o meio e sociedade a que estão inseridos⁴.

REFERÊNCIAS

1. Lefèvre AMC, Ribeiro AF, Marques GRAM, Serpa LLN, Lefèvre F. Representações sobre dengue, seu vetor e ações de controle por moradores do Município de São Sebastião, Litoral Norte do Estado de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2007;23 (7):1696-1706.
2. Mendonça FA, Souza AV, Dutra DA. Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. *Soc e Nat*, Uberlândia. 2009;21(3):257-269.
3. Duarte HHP, França EB. Qualidade dos dados da vigilância epidemiológica da dengue em Belo Horizonte, MG. *Rev Saúde Pública*. 2006;40(1):134-142.
4. Hino P, Santos SS, Santos MO, Cunha TN, Santos CB. Evolução temporal da dengue no município de Ribeirão Preto, São Paulo, 1994 a 2003. *Ciênc. saúde coletiva*. 2010; 15(1):233-38.
5. Pontes RJS, Ruffino-Neto A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. *Rev Saúde Pública*. 1994;28(3):218-227.
6. Ribeiro AF, Marques GRAM, Voltolini JC, Condino MLE. Associação entre incidência de dengue e variáveis climáticas. *Rev Saúde Pública*. 2006;40(4):671-76.

É realmente necessário utilizar animais de laboratório para garantir a segurança de produtos de higiene descartáveis?

Maria Cristina SANTA BÁRBARA, Lígia Luriko MIYAMARU
*Instituto Adolfo Lutz – Centro de Medicamentos,
Cosméticos e Saneantes, Núcleo de Ensaios Físicos e Químicos
em Cosméticos e Saneantes*

A experimentação animal tem servido ao longo de muitos anos como um meio de determinar a eficácia e a segurança de produtos em diversas áreas. Apesar dos esforços para reduzir ou substituir o uso de animais de laboratório na experimentação biológica, ainda em algumas áreas não é possível abandonar a sua utilização¹, como, por exemplo: vacinas, pesquisa de células-tronco, cardiologia, neurologia, moléstias pulmonares e renais². A mobilização dos direitos dos animais levou os pesquisadores a aperfeiçoar procedimentos éticos e prevenir exageros. Os testes relacionados à toxicologia que utilizam com frequência animais de laboratório com a finalidade de examinar o processo pelo qual uma substância entra no organismo e sua toxicidade em muitas situações continuam válidos e necessários para conhecermos o grau de absorção da substância em questão, sua distribuição e excreção³. Criado por John Draize, o teste de irritação dérmica e ocular é mais um exemplo da utilização de animais para mensurar o índice de toxicidade de substâncias próprias de formulações, principalmente, na produção de cosméticos. O potencial toxicogênico

dessas substâncias é testado diretamente na pele ou no olho dos animais. Atualmente com a preocupação do bem-estar animal, foi desenvolvido por Burch e Russel o princípio dos 3 Rs, que trata-se do refinamento, modificação de procedimentos ou protocolos para minimizar a dor e o estresse provocados por uma experiência. Reduzir o número de animais por experimento foi mais um avanço para a ética com o uso de animais. A utilização de métodos estatísticos pode levar ao aumento da precisão dos resultados e a substituição que seria o desenvolvimento de um método alternativo.

A Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008⁴, regulamenta os procedimentos para o uso científico de animais, embora no Brasil possua legislações que obrigam o uso de animais para garantir a segurança de produtos. O objetivo deste estudo é propor aos órgãos regulatórios a alteração da Portaria 1480, de 31 de dezembro de 1990⁵, que isenta os produtos absorventes higiênicos, destinados ao asseio corporal de registro da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, e regulamenta o controle desses produtos exigindo os ensaios pré-clínicos de irritação cutânea primária e sensibilização das

matérias-primas presentes em sua composição e nos produtos acabados, sendo realizados novamente esses ensaios toda vez que for alterado o seu processo de fabricação. Com base nos dados das amostras analisadas no período de 2005 a julho de 2010 e outras publicações científicas⁶ referentes a esses produtos, podemos demonstrar que não houve resultados positivos para estes ensaios de irritação dérmica primária, cumulativa e sensibilização cutânea. O termo dermatite de fralda por si só, muito raramente ou nunca está implicado no desenvolvimento de dermatites de contato irritativas ou alérgicas em crianças, depende de vários fatores como: hiper-hidratação, fricção, temperatura, irritantes químicos, urina e fezes. Após comprometimento da barreira cutânea, vários fatores adicionais do mesmo tipo potencializam essas alterações, originando um ciclo vicioso vulnerável às infecções por agentes microbianos oportunistas.

Com a intenção de colaborar na revisão da Portaria 1480, de 31 de dezembro de 1990, realizamos um levantamento no período de 2005 a 2010, das diversas amostras avaliadas quanto a sua toxicidade dermal para os ensaios de irritação dérmica primária, cumulativa e sensibilização cutânea em produtos constantes nessa portaria. Para esses ensaios, foram avaliadas 133 amostras de diversos produtos e diferentes marcas, oriundos de indústrias e fiscalização por conta de reclamações de dermatites ou reações alérgicas.

As avaliações *in vivo* foram realizadas pelos ensaios de irritação dérmica primária, cumulativa e sensibilização cutânea utilizando coelhos albinos da raça Nova Zelândia e cobaias albinas de raça Swiss. Para todos os ensaios, os resultados foram negativos. Conforme já relatado no artigo “Estudo comparativo entre os métodos *in vivo* e *in vitro* na análise

toxicológica de produtos de higiene descartáveis e sua avaliação microbiológica”⁶, em que se avaliou 60 amostras desses produtos e obteve resultados satisfatórios para os ensaios de irritação dérmica primária, cumulativa e sensibilização cutânea e para o ensaio de citotoxicidade *in vitro*, por ser um método mais sensível, apresentou índices de toxicidade para alguns produtos e também foi demonstrado nesse artigo a necessidade do controle microbiológico⁶.

Conforme observamos os resultados dos ensaios, é possível garantir a qualidade dos produtos de higiene descartáveis, sem a necessidade de utilizar os ensaios toxicológicos *in vivo* e substituir definitivamente pelo método *in vitro*. Salientamos também a necessidade do controle microbiológico.

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos, 2003.
2. Marques F. Animais de laboratório sem eles não há avanço. Ciência e Tecnologia no Brasil. FAPESP. 2008; (144): 25-31.
3. Mezadri TJ, Tomáz VA, Amaral VLL. Animais de laboratório. Florianópolis: Editora UFSC; 2004. p.19-29.
4. Brasil. Lei nº 11.794 de 2008 da República Federativa do Brasil. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 9 Out.2008, Seção 1, p.1-2.
5. Brasil. Portaria nº 1480 de 1990 do Ministério da Saúde. Regulamento Técnico para o controle de produtos absorventes higiênicos descartáveis, de uso externo e intravaginal. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 7 jan.1991, Seção 1, p. 295-301.
6. Miyamaru LL, Santa Bárbara MC, Cruz AS, Ikeda TI, Sakuma H, Zenebon O. Estudo comparativo entre os métodos *in vivo* e *in vitro* na análise toxicológica de produtos de higiene descartáveis e sua avaliação microbiológica. Rev Inst Adolfo Lutz. 2006; 65 (2): 118-22.

Prevalência da coinfeção HIV/sífilis em pacientes oriundos de municípios atendidos pelo Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V) do Instituto Adolfo Lutz

Lourdes Aparecida Zampieri D'ANDREA, Andressa Alves de Almeida CRUZ, Beatriz Rossetini Molina MARQUES, Vera Lucia Maria Alves GONÇALVES, Marli Liberato CAFÉ
Núcleo de Ciências Biomédicas, Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V) do Instituto Adolfo Lutz

É de extrema importância o conhecimento da prevalência e do perfil epidemiológico de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) para adoção de medidas de prevenção, controle e eliminação dessas doenças que constituem um grande problema de saúde pública. A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é a manifestação clínica da infecção pelo vírus HIV e desde que foi descrita pela primeira vez em 1983, tornou-se uma epidemia global. O HIV é classificado como membro do grupo dos retrovírus, família lentivírus, que correspondem aos vírus associados às infecções persistentes, que atacam os linfócitos T, com longos períodos de latência clínica.

A sífilis é uma doença causada pela bactéria *Treponema pallidum*, transmitida por via sexual (sífilis adquirida) e verticalmente (sífilis congênita) pela placenta da mãe para o feto. O contato genital com as lesões contagiantes (cancro duro e lesões secundárias) pelos órgãos genitais é responsável por 95% dos casos de sífilis¹. De acordo com o relatório anual do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS, ao final de 2007 existiam

no mundo, aproximadamente 33 milhões de pessoas vivendo com HIV/AIDS. Cerca de 2,7 milhões de pessoas adquiriram o HIV durante o ano de 2007 e mais de 2 milhões de óbitos foram atribuídos a doenças relacionadas à AIDS². No Brasil, cerca de 22.000 novos casos de HIV são relatados anualmente totalizando 592.914 casos de 1980 a 2010 e para a sífilis, estima-se 937.000 novos casos ao ano, sendo 54.141 casos notificados em recém nascidos entre 2005 a 2010³. Estudos sobre coinfeção HIV/Sífilis têm demonstrado que a sífilis é a principal DST associada ao HIV, especialmente em homossexuais⁴. No paciente HIV positivo, a sífilis pode apresentar alterações nas manifestações clínicas, laboratoriais, risco de complicações como a instalação da neurosífilis, diminuição da resposta à terapia, principalmente em pacientes com contagem de linfócitos T CD4 abaixo de 100 mm³ ou aqueles que não fazem uso de terapia antirretroviral⁵.

Este estudo retrospectivo foi realizado a partir de dados obtidos dos livros de registros do Núcleo de Ciências Biomédicas do Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V) do Instituto Adolfo Lutz. Verificou-se

a prevalência da coinfeção de HIV/Sífilis da população dos municípios atendidos por este laboratório regional, no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2007. Os pacientes considerados coinfectados foram aqueles que apresentaram reatividade para sífilis nos testes não treponêmicos e treponêmicos concomitantemente com reatividade nos testes para triagem e confirmatório do HIV. O diagnóstico sorológico para o HIV seguiu o fluxograma preconizado pela Portaria nº 59 de 28 de janeiro de 2003 do Ministério da Saúde (Portaria MS nº 59/2003), vigente no período estudado. Para a triagem sorológica da sífilis foram utilizados testes não treponêmicos (VDRL) e testes treponêmicos (TPHA e/ou FTA-abs), no caso de confirmação

da reatividade. Para a triagem sorológica do HIV foram utilizados testes de ELISA e como testes confirmatórios o IFI e/ou Western Blot.

Foram registradas 26.879 solicitações de exames para HIV/Sífilis, observando-se uma prevalência de 0,21% (n = 56) de coinfeção HIV/Sífilis (Tabela 1). Entre os 26.823 resultados negativos, 3,87% (n = 1.040) encontravam-se positivos para uma das infecções, sendo 2,12% (n = 571) para sífilis e 1,75% (n = 469) para HIV.

Na Tabela 1 observa-se que no período analisado ocorreu uma diminuição gradativa da prevalência de sífilis entre 2003 (2,88%) a 2007 (1,01%), demonstrando a importância de programas para o controle da doença, a exemplo do programa

Tabela 1. Demonstração de resultados sorológicos HIV/sífilis da população atendida pelo Núcleo de Ciências Biomédicas do Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V) do Instituto Adolfo Lutz. Período de janeiro de 2003 a dezembro de 2007

Período	Total de amostras Nº	HIV/Sífilis não reagente		HIV reagente		Sífilis reagente		Coinfeção HIV/Sífilis	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2003	5.725	5.454	95,27	92	1,61	165	2,88	14	0,25
2004	6.292	6.057	96,27	72	1,14	155	2,46	8	0,13
2005	5.291	5.055	95,60	94	1,78	131	2,48	11	0,21
2006	4.641	4.464	96,19	97	2,09	70	1,51	10	0,21
2007	4.930	4.753	96,40	114	2,31	50	1,01	13	0,26
Total	26.879	25.783	95,92	469	1,75	571	2,12	56	0,21
% média									

Fonte: Livro de registro do Núcleo de Ciências Biomédicas do Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V) do Instituto Adolfo Lutz

Tabela 2. Distribuição por sexo e faixa etária da população coinfectada HIV/sífilis atendida pelo no Núcleo de Ciências Biomédicas do Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V) do Instituto Adolfo Lutz. Período de janeiro de 2003 a dezembro de 2007

Idade	2003		2004		2005		2006		2007		Total % Média
	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem	
10-20	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (1,8)
21-30	3	3	-	3	5	1	2	-	3	-	20 (35,7)
31-40	4	-	4	1	3	1	6	1	4	3	27 (48,2)
41-50	3	-	-	-	1	-	1	-	1	-	6 (10,7)
51-60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2 (3,6)
Total	11	3	4	4	9	2	9	1	8	5	56
%	(19,6)	(5,4)	(7,1)	(7,1)	(16,1)	(3,6)	(16,1)	(1,8)	(14,3)	(8,8)	(100)

Fonte: Livro de registro do Núcleo de Ciências Biomédicas do Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente (CLR V) do Instituto Adolfo Lutz

da erradicação da sífilis congênita no Estado de São Paulo. Entretanto, o mesmo não ocorreu para o HIV, pois houve um aumento da prevalência no período estudado, 1,61% a 2,31%, demonstrando a necessidade de intensificação de campanhas preventivas e acesso rápido ao diagnóstico. O perfil da população coinfetada com HIV/Sífilis foi de 66,07% de homens e 33,93% de mulheres com maior incidência na faixa etária entre 31 a 40 anos para o sexo masculino, (n = 21) e 21 a 30 anos para o feminino (n= 07) (Tabela 2), tendo-se assim uma proporção de 3 homens coinfetados para cada mulher (3:1). A faixa etária mais acometida para o sexo feminino coincide com o período reprodutivo, aumentando assim o risco de transmissão vertical de HIV e sífilis.

Das amostras de pacientes coinfetados encaminhadas ao CLR IAL - Pres. Prudente V – SP, 51,78% foram oriundas de um Programa Municipal DST/Aids de Presidente Prudente – SP. Em decorrência deste número, mais da metade dos casos corresponde a de coinfeção, quando comparado com a abrangência da região atendida, composta por 45 municípios e 12 penitenciárias, demonstra-se a grande importância deste órgão, onde são oferecidos serviços de aconselhamento, diagnóstico, tratamento e/ou encaminhamento desta população aos centros de referência.

Os resultados demonstram a importância da intensificação de campanhas e dos órgãos que realizam os testes sorológicos, favorecendo o diagnóstico precoce, focando a diminuição do risco de transmissão vertical.

REFERÊNCIAS

1. Garnett GP, Aral SO, Hoyle DV, Cates W Jr, Anderson RM. The natural history of syphilis. Implications for the transmission dynamics and control of infection. *Sex Transm Dis.* 1997; 24:185-200.
2. UNAIDS/WHO, Global HIV prevalence has levelled off. Geneva, 20 November 2007 Disponível em: [<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr61/en/index.html>]. Acesso em: 17 jul 2011
3. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico - Aids e DST. 2010; 1:6-11.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis. Ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2005.
5. Lynn WA, Lightman S. Syphilis and HIV: a dangerous combination. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4:456-66.
6. Gutierrez-Galhardo MC; do Valle GF; Sá FC, Schubach Ade O; do Valle AC. Clinical characteristics and evolution of syphilis in 24 HIV+ individuals in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med trop São Paulo.* 2005;47:153-7

Avaliação da eficiência de colunas de imunoafinidade para determinação de Ocratoxina A em amostras de café solúvel

**Luzia SHUNDO, Janete ALABURDA, Leda Conceição
Antonia LAMARDO, Sandra Aparecida NAVAS,
Valter RUVIERI, Myrna SABINO**

*Núcleo de Contaminantes Orgânicos, Centro de Contaminantes,
Instituto Adolfo Lutz*

A Ocratoxina A (OTA) é uma micotoxina nefrotóxica, possivelmente, carcinogênica encontrada em vários tipos de alimentos, incluindo o café¹. A União Europeia estabeleceu limite máximo de OTA em 5 µg/kg para o café torrado e 10 µg/kg para o café solúvel². No Brasil, a Resolução RDC nº 7 estabeleceu o limite máximo para Ocratoxina A em café solúvel em 10 µg/kg³.

As Colunas de Imunoafinidade (CIs) têm sido frequentemente utilizadas para o isolamento, a limpeza e a concentração de micotoxinas, pelo fato de apresentarem boa sensibilidade e especificidade. O desempenho de uma CI depende da habilidade de ligação do anticorpo ao antígeno, juntamente com sua capacidade, ou seja, a quantidade de anticorpos contidas nas colunas. Atualmente, existem diversas marcas de CIs para OTA disponíveis no mercado produzidas por diferentes fabricantes⁴.

Considerando a variação dos resultados obtidos nas determinações de OTA em café solúvel entre as CIs existentes, um estudo comparando a eficiência de CIs de três fabricantes distintos foi realizado em nosso laboratório utilizando como parâmetro a recuperação.

Amostras de café solúvel foram artificialmente contaminadas com OTA em níveis de 5 e 10 µg/kg. As CIs utilizadas foram de três diferentes fabricantes (A, B e C). A determinação de OTA nas amostras foi realizada seguindo a metodologia proposta (protocolo) de cada fabricante.

Para a separação e quantificação, foi utilizado CLAE-FL (Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência-Fluorescência) com coluna de fase reversa RP-18 (5 µm), Lichrosorb-Merck (250 mm), fase móvel Metanol:Acetonitrila:Ácido Acético 3,33% (35:35:30 V/V) com fluxo de 0,8 ml/min e comprimento de onda de excitação/emissão: 332/476 nm. Os limites de detecção e quantificação determinados foram de 0,24 µg/kg e 0,80 µg/kg, respectivamente.

Os resultados da recuperação estão apresentados na Tabela 1. As determinações utilizando as colunas do fabricante A não apresentaram recuperações nos níveis de 5 e 10 µg/kg. Testes utilizando uma quantidade maior de extrato da amostra (2,5 g) e diferentes solventes extratores (metanol, solução metanol-bicarbonato de sódio e bicarbonato de sódio com diferentes concentrações), foram realizados sendo que, em todas as situações, as recuperações foram insatisfatórias.

Tabela 1. Avaliação da recuperação (n = 3) de três colunas de imunoafinidade de diferentes fabricantes

Concentração da amostra (µg/kg)	A (%)	B (%)	C (%)
5	-	86,5	101,0
10	-	99,3	96,7

Adicionalmente, testes de recuperação utilizando padrão de OTA diretamente na coluna foram realizados em triplicata nos níveis de 5 e 100 ng. Nesse caso, as recuperações médias foram de 96,7%, 103,9% e 97,2% para as colunas dos fabricantes A, B e C, respectivamente.

De acordo com Senyuva⁵, a utilização de extratos da amostra na coluna é, provavelmente, a forma mais real para o estabelecimento de recuperações, embora frequentemente alguns métodos oficiais utilizem padrões diretamente na coluna. Entretanto, ainda não existe um protocolo harmonizado para se determinar recuperações. Sabe-se que a recuperação do analito em uma coluna de imunoafinidade depende da especificidade, da concentração do anticorpo na coluna e também da acessibilidade do analito ao anticorpo.

Recentemente, Trebstein et al⁶ publicaram um trabalho comparando a performance entre duas CIs comerciais para as toxinas T-2 e HT-2. A primeira (Easy-Extract[®]) apresentou uma recuperação superior a 80% nos níveis de 10-200 µg/kg tanto para as toxinas T-2 e HT-2 e a segunda (T-2test HPLC) apresentou recuperação de, aproximadamente, 60% independentemente dos níveis de fortificação. Os autores concluíram que a segunda coluna apresentou baixo desempenho como também foi afetada pelos componentes da matriz.

Da mesma forma que os autores anteriormente citados, concluímos que o baixo valor de recuperação apresentado pela coluna A poderá estar relacionado com os componentes da matriz, que impede a acessibilidade do analito ao anticorpo e também pela capacidade da coluna (concentração e/ou característica do anticorpo). O desempenho das CIs deve ser avaliado a cada novo lote a ser utilizado por meio de testes de recuperação e uso de materiais de referência quando possível, atendendo as normas de qualidade com vistas a garantir a exatidão, a precisão e a confiabilidade dos resultados analíticos.

REFERÊNCIAS

1. Jorgensen K. Occurrence of ochratoxin A in commodities and processed food – a review of EU occurrence data. *Food Addit Contam.* 2005;22:26-30.
2. Commission Regulation (EC) n° 123/2005 of 26 January 2005. Amending Regulation (EC) n° 466/2001 as regards ochratoxin A. *Official Journal of the European Union*, 28 of January 2005; L25/5.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução RDC n° 7, de 18 de fevereiro de 2011, dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. *Diário Oficial [da] União, Brasília*, 9 de março de 2011, Seção I.
4. Scott PM, Trucksess MW. Application of Immunoaffinity Columns to Mycotoxin Analysis. *Journal of AOAC Int.* 1997;80(5):941-948.
5. Senyuva HZ, Gilbert J. Immunoaffinity column clean-up techniques in food analysis: A review. *J Chromatogr B.* 2009;878(2):115-132.
6. Trebstein A, Seefelder W, Lauber U, Humpf HU. Determination of T-2 and HT-2 Toxins in Cereals Including Oats after Immunoaffinity Cleanup by Liquid Chromatography and Fluorescence Detection. *J Agric Food Chem.* 2008;56(13):4968-4975.

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.

