

ISSN 1984-235X

Boletim do Instituto Adolfo Lutz

Bol Inst Adolfo Lutz. 2011: ano 21, n. 2, p.1-61



Boletim do INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Bol Inst Adolfo Lutz. 2011: ano 21, n. 2, p.1-61

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

Assessoria Editorial:



www.rspress.com.br

Editorial

O Boletim do Instituto Adolfo Lutz (BIAL) fechou o ano de 2011 com um aumento significativo no número de matérias publicadas e isso se deveu à colaboração dos colegas pesquisadores tanto do IAL Central como dos Regionais, que enviam seus artigos sempre em escala crescente.

Os Coordenadores do programa PIBIC (Programa Institucional Brasileiro de Iniciação Científica), já no seu terceiro ano no Instituto, e do PAP (Programa de Aprimoramento Profissional), estão sempre colaborando nas edições do BIAL, enviando os resumos de seus orientados; divulgando, dessa forma, a gama de pesquisas desenvolvidas na Instituição. Continuem prestigiando o BIAL, pois ele é uma fonte importante de divulgação tanto da produção de pesquisas como de prêmios, ganhos por nossos colegas.

Estou deixando a Coordenação do BIAL e também a Instituição em virtude de minha aposentadoria.

Há 35 anos, a Instituição me recebeu com todo o carinho e aqui, nesta Casa da qual me orgulho muito de ter feito parte de seu quadro de funcionários, fiz inúmeros amigos, que levarei comigo em meu coração.

Tive excelentes mestres que muito contribuíram para meu ingresso na carreira de Pesquisadora Científica e também colegas antigos de bancada com larga experiência na minha área de atuação, a Parasitologia, que muito me ensinaram. A todos vocês que passaram um dia pela minha vida e colaboraram para o meu crescimento pessoal e profissional, meu MUITO OBRIGADA.

Posso dizer que sou uma pessoa realizada, trabalhei sempre na área que um dia eu escolhi e nela cresci e saio da Instituição com uma certeza: missão cumprida.

Agradeço a todos os membros do BIAL pela colaboração e, em especial, a minha sempre presente colaboradora, Rocely A. Bueno Moita, do Núcleo de Acervo do IAL.

Termino este Editorial com um pensamento:

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível e, de repente, você estará fazendo o impossível.”

São Francisco de Assis

Domingas M. A. G. Vieira Torres

Coordenadora do BIAL

Sumário

07	Trabalho premiado pela Sociedade Americana de Virologia, na categoria: <i>Latin American Scholar Award 2010</i> Surto de meningite viral associado ao Echovírus 11, no estado de São Paulo
09	Seleção da matriz de leite comercial utilizado para a determinação do iodo no leite materno
12	Otimização da reação em cadeia da polimerase para detecção de segmento <i>tax</i> do genoma proviral de HTLV-1 e HTLV-2
14	Avaliação da PCR em tempo real como teste confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo
16	Detecção de genes de resistência microbiana produzidos por <i>Klebsiella pneumoniae</i> isoladas de infecção ou colonização hospitalar de vários hospitais do estado de São Paulo
18	Análise de contaminantes em leite bovino: determinação de chumbo
20	Análise de contaminantes em leite
21	Papel da resistência genotípica à nova classe de medicamentos que atuam na integrase no resgate terapêutico de pacientes infectados pelo HIV-1
23	Caracterização das espécies de micobactérias isoladas de surtos pós-procedimentos invasivos quanto à diversidade e ao perfil genético
25	Perfil de células do infiltrado inflamatório de <i>Calomys callosus</i> infectados pelo <i>Trypanosoma cruzi</i> na fase aguda da infecção
27	Evolução molecular do HIV-1 em crianças vivendo com HIV/AIDS com doença avançada
30	Atividades de Museologia e educação não formal no MusIAL – Museu do Instituto Adolfo Lutz
33	5ª Primavera dos Museus – Mulheres – Museus – Memória
35	Vital Brazil Mineiro da Campanha – Uma carreira de lutas, conquistas e méritos em defesa contra o ophidismo
39	Superdosagem de solução oftálmica de nitrato de prata 1% em produto manipulado
41	Levantamento de rótulos e algumas análises de identificação de produtos manipulados coletados pela Vigilância Sanitária e Polícia no período de junho de 2004 a março de 2010, analisados pelo Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes do Instituto Adolfo Lutz Central
43	Solução de hipoclorito de sódio na higienização de vegetais comestíveis
45	<i>Nocardia spp.</i> : provável agente etiológico para pacientes com sintomas de doença infecciosa
47	Estudo comparativo entre o exame parasitológico positivo, as técnicas sorológicas e o teste imunocromatográfico rápido no diagnóstico da leishmaniose canina no município de Adamantina-SP

49	Aplicação da técnica de hibridização “in situ” para auxílio diagnóstico e prognóstico em amostras histológicas
51	Controle da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no estado de São Paulo. Estudo de corte de cães em áreas endêmicas do município de Bauru (2008-2011)
53	Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da água para consumo humano na região metropolitana da Baixada Santista, estado de São Paulo, no biênio 2009-2010
55	Problemas no diagnóstico laboratorial de <i>C. neoformans</i> e <i>C. gattii</i>
57	Descarte de resíduos formados em uma titulação de precipitação para a determinação de cloreto
59	Avaliação da qualidade da água destinada aos trabalhadores do setor canavieiro das regiões de Assis, Bauru e Marília, do estado de São Paulo, Brasil

Trabalho premiado pela Sociedade Americana de Virologia, na categoria: *Latin American Scholar Award 2010*

Surto de meningite viral associado ao Echovírus 11, no estado de São Paulo

Bráulio Caetano MACHADO¹, Denise Hage RUSSO¹,
Adriana LUCHS¹, Telma Regina Marques Pinto
CARVALHANAS², Rita de Cássia Compagnoli
CARMONA¹, Maria do Carmo Sampaio Tavares
TIMENETSKY¹

¹Núcleo de Doenças Entéricas, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP
²Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado, São Paulo, SP

O sorotipo echovírus 11 (E-11) é relatado entre os mais comumente isolados no gênero dos *Enterovírus* (EV) no mundo. O E-11 pode causar uma grande variedade de síndromes clínicas, mas é particularmente associado a casos graves de doença neonatal. De acordo com dados da literatura, o sorotipo E-11 é um dos EV mais frequentemente isolados nos EUA e na Espanha. No Brasil, não existem relatos rotineiros da circulação dos E-11 nos casos de meningites virais. Este trabalho teve o objetivo de relatar surtos de E-11 em duas regiões diferentes do estado de São Paulo, que deram origem a casos de meningite em 2008. O Núcleo de Doenças Entéricas do Instituto Adolfo Lutz (IAL) tem um papel importante para a rotina diagnóstica em surtos de meningites virais no estado, colaborando com o Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) para elaboração de medidas em saúde pública, visando a estabelecer condutas para a contenção viral. O laboratório recebeu amostras clínicas (líquor, fezes e soro) de oito casos suspeitos oriundos de duas cidades

do interior, localizadas nas regiões norte e oeste do estado de São Paulo. As metodologias aplicadas para o diagnóstico laboratorial foram o isolamento viral, utilizando duas linhagens celulares diferentes: RD (Rabdomiosarcoma humano) e HEp-2 (Carcinoma epidermoide de laringe humana). Para confirmação do isolamento e identificação do sorotipo viral, foram realizados os testes de RT-PCR (Reação em cadeia pela polimerase – transcrição reversa) com *primers* direcionados para a região conservada do genoma dos EV (5'NTR) e IFI (Imunofluorescência Indireta). A titulação de anticorpos em amostras pareadas de soro também foi realizada para o diagnóstico sorológico. Os resultados obtidos mostraram que cinco casos eram positivos e confirmaram o sorotipo E-11 circulando em dois diferentes momentos (nos meses de fevereiro e março, agosto e setembro) em regiões distintas do estado. Analisando os surtos, a cidade de Icém localizada na região norte do estado apresentou uma maior incidência de casos de meningite viral. Em Avaré, município localizado na região oeste do estado, foi constatado um número

total baixo de casos (quatro confirmados), surgidos nos meses de agosto e setembro de 2008. Em Içém, o número de casos concentrados (doze confirmados) entre fevereiro e março foi muito alto para uma cidade pequena de apenas 6800 habitantes; sendo, aproximadamente, 5800 na área urbana (local onde ocorreram os casos) e que possuía um coeficiente de incidência muito baixo. Segundo os dados da vigilância, o coeficiente de incidência saltou de 0,0%, em 2007, para 183,1%, em 2008 (Coef./100.000 hab.). Essa cidade é localizada em uma região de alta circulação de pessoas que buscam atividades de turismo de fim de semana (pescaria e recreação em praias do rio Grande) e fica entre duas regiões importantes: São José do Rio Preto e a região do Pontal de Minas Gerais. Em uma das suas divisas, fica localizada a cidade de Fronteira, que pertence ao estado de Minas Gerais. Essa cidade sedia a usina hidrelétrica de Marimondo, uma das mais importantes do Brasil, que emprega um grande número de pessoas. No mesmo período, casos de meningite foram relatados em trabalhadores rurais que prestam serviço para a usina. Esses trabalhadores têm o hábito de compartilhar garrafas, copos e porções de comida e são sempre conduzidos pelo mesmo ônibus de acordo com a vigilância municipal da cidade mineira. Concomitantemente, a cidade de

São José do Rio Preto notificou 80 casos suspeitos de meningite viral (dados do CVE). Não é possível confirmar a origem desse surto, mas a relação com os fatos previamente descritos é suposta, pois na cidade vivem muitos trabalhadores da usina e pessoas que frequentam a principal cidade da região, que é São José do Rio Preto. Os echovírus circulam facilmente em ambientes carentes de condições de higiene adequadas e apresentam um padrão epidêmico com um surgimento abrupto dos casos seguido de um decréscimo e, novamente, o surgimento de casos em diferentes momentos e lugares. Conclusão, nosso estudo documenta a circulação do E-11 e contribui para as próximas investigações epidemiológicas da prevalência dos EV no estado de São Paulo, fornecendo dados para um melhor entendimento sobre a transmissão e a evolução viral.

AGRADECIMENTOS

Ao Núcleo de Cultura de Células do IAL pelo apoio no fornecimento das culturas celulares utilizadas no trabalho. À equipe técnica do Centro de Vigilância Epidemiológica e do GVE-XXIX, de São José do Rio Preto, pelo fornecimento dos dados epidemiológicos. Agradecemos também aos demais membros da equipe do Núcleo de Doenças Entéricas pela assistência técnica prestada.

Seleção da matriz de leite comercial utilizado para a determinação do iodo no leite materno

Fernanda MARTINI*, Regina Maria CATARINO

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

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

Na gravidez, as necessidades de iodo são aumentadas devido à estimulação tireoidiana e às perdas de iodo para o feto, podendo surgir com a carência do iodo nutricional: hipotireoidismo neonatal ou adulto, diminuição da fertilidade perinatal, retardo do crescimento, deficiência mental, surdo-mudez, variantes clínicas do cretinismo endêmico¹. O iodo encontra-se presente no corpo humano em quantidades muito pequenas (15 a 20mg no adulto) e apresenta um papel indispensável na síntese dos hormônios tireoideanos². As medições de iodo são utilizadas para avaliar a ingestão em uma determinada população³ e, a partir dessa metodologia, podemos também estimar a concentração de iodo excretado no leite materno, nos produtos alimentícios, na água potável e em tecidos tireoidianos e mamários⁴.

O leite materno é constituído por vitaminas, minerais, proteínas, aminoácidos e gorduras e é produzido em diferentes períodos de lactação: colostro, leite de transição e leite maduro (Anvisa, 2007)⁵.

O teor de gordura no leite materno é de 1,85 g/dL a 2,9 g/dL no colostro, de 2,9 g/dL a 3,6 g/dL no leite de transição e de 3,0g/dL a 3,8g/dL no leite maduro.

Para a execução deste estudo, foi realizada a seleção da matriz de leite comercial que fosse similar e representativa ao leite materno.

O leite é o alimento de maior consumo humano e o teor de gordura é o que difere os leites de integral, semidesnatado e desnatado (tabela 1).

Dentre os diferentes tipos de leites comerciais analisados e comparados com a constituição do leite materno, selecionamos o leite comercial líquido semidesnatado por conter uma quantidade de gordura (3,0 g) em sua composição muito semelhante à quantidade de gordura encontrada no leite materno (3,0-3,8 g).

Considerando-se que o leite é um composto orgânico muito complexo e apoiado em conhecimentos prévios quanto a fatores interferentes que acometem a reação de iodo, a

Tabela 1. Informação nutricional da rotulagem de três tipos comerciais de leite líquido

Nutrientes	Leite integral	Leite semidesnatado	Leite desnatado
Carboidratos	9,0 g	9,6 g	9,6 g
Proteínas	6,2 g	6,4 g	6,6 g
Gorduras totais	7,0 g	3,0 g	ausente
Gorduras saturadas	4,3 g	2,0 g	ausente
Gorduras trans	0 g	ausente	ausente
Fibra alimentar	0 g	ausente	ausente
Sódio	110 mg	119 mg	119 mg

matriz de leite foi trabalhada de forma a eliminar os possíveis interferentes na reação de iodo com o leite comercial selecionado. Para tal, foi necessário seguir procedimentos de armazenamento e acondicionamento (fase pré-analítica) das amostras de leite comercial.

Importantes procedimentos foram seguidos para se obter a garantia dos resultados das análises (fase analítica), no que tange o preparo dos reagentes e as soluções de trabalho, estes seguiram um protocolo de controle de qualidade estabelecido em nosso laboratório. Todas as etapas descritas anteriormente foram realizadas seguindo a norma da ABNT ISO/IEC 17025.

A matriz leite selecionada foi diluída 1:1 em água milli-Q e centrifugada a 10.000 rpm a 4 °C por 20 minutos. Após a centrifugação, observou-se uma espessa camada de gordura (fase sólida) (figura 1) que foi separada (figura 2), retirando-se a fase líquida, a qual foi utilizada para o preparo das soluções de trabalho 2,0µg/dL; 5,0µg/dL; 10,0µg/dL e 15,0µg/dL com solução de iodato de potássio para cobrir toda a faixa do ensaio, através da reação bioquímica colorimétrica baseada no método de Sandell-Kolthoff (1937)⁶ recomendada pelo Conselho Internacional para Controle das Desordens por Deficiência de Iodo (sigla, em inglês, ICCIDD) adaptada em nosso laboratório.

Após a digestão do persulfato de amônio com o iodo a 94 °C, as soluções apresentaram-se transparentes (livres de macromoléculas do leite) (figura 3), possibilitando a continuidade da reação, tendo como produto final a leitura com as respectivas absorvâncias, demonstrando o conteúdo de iodo na matriz leite obtido por comparação das leituras com a curva analítica e expresso em µg/dL (figura 4).

Foi avaliada a estabilidade de amostras da matriz leite selecionada, respeitando sua validade comercial e observamos que as amostras



Figura 1. Demonstração da camada de gordura do leite na parede do tubo após centrifugação



Figura 2. Separação da fase líquida após centrifugação



Figura 3. Digestão do persulfato de amônio com o iodo na matriz de leite selecionada

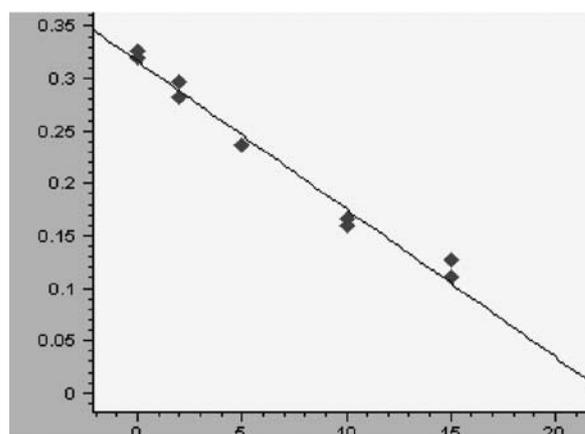


Figura 4. Curva analítica realizada com as soluções de trabalho em duplicatas nas concentrações conhecidas de iodo na matriz leite selecionada em temperatura de 20 ± 2° C

armazenadas a 4 °C apresentaram estabilidade de dez dias e, a 20 °C negativos, seu aspecto físico permaneceu intacto durante quatro meses. Com base nesses dados, preparamos as soluções de trabalho e observamos que são estáveis somente durante dez dias armazenadas a 4 °C.

A reação de iodo é preconizada na Temperatura Ambiente (TA) de 20 ± 2 °C, segundo a OMS. No entanto, quando a TA se apresenta acima de 22 °C, a reação que deveria acontecer em um minuto é completada em menos de trinta segundos, impossibilitando, assim, a leitura da reação (figura 5).

Em todas as etapas da reação devem ser tomados cuidados com a luz direta incidindo sobre os reagentes manipulados desde o preparo das soluções de trabalho até o momento da leitura no espectrofotômetro para obtenção da concentração do iodo.

A utilização de água ultrapura é de fundamental importância no preparo de reagentes e soluções.

A determinação de iodo na matriz de leite comercial pode ser aplicada desde que sejam controladas as fases pré-analítica e analítica, considerando os pontos críticos envolvidos em todos os procedimentos da reação, tais como:

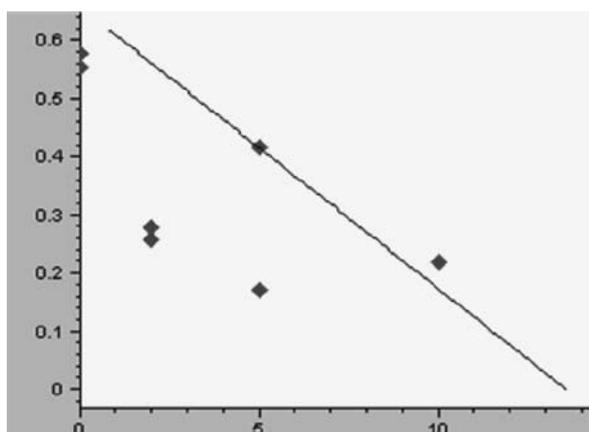


Figura 5. analítica realizada com as soluções de trabalho em duplicatas nas concentrações conhecidas de iodo na matriz leite escolhida em temperatura acima de 22° C

pesagem, pipetagem, temperatura e luminosidade. Também analisamos as possíveis variabilidades metodológicas e a suscetibilidade dos interferentes que possam afetar a reação de iodo, visando à melhoria da qualidade metodológica.

AGRADECIMENTOS

Ao Núcleo de Contaminantes Orgânicos, Centro de Contaminantes, e ao Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz pela utilização de seus equipamentos.

REFERÊNCIAS

1. Burrow GN, Fisher DA, Larsen PR. Maternal and fetal thyroid function. *N Engl J Med.* 1994;331:1072-8.
2. Duarte GC, Tomimori EK, Borioli RA, Ferreira, JE, Catarino RM, Camargo RYA, Medeiros-Neto G. Avaliação ultrassonográfica da tireoide e determinação da Iodúria em Escolares de Diferentes Regiões do Estado de São Paulo. *Arq. Bras. Endocrinol Metab.* 2004;48(6):842-848.
3. Maeda MYS, Santos RTM, Catarino RM, Ferreira JE, Minazzi-Rodrigues RS, Mello MRPA. Estudo da concentração de iodo na urina e no sal de cozinha na população do entorno do Polo Petroquímico de Capuava/Maúa-São Paulo. *Rev. Bras. Epidemiol.*, número especial versão eletrônica de setembro/2008.
4. Abalovich M, Amino N, Barbour LA, Cobin RH, Glinoe D, Mandel SJ, Stagnaro-Green A. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(Suppl 8): S1-S47.
5. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos. Brasília: Anvisa, 2007, 156 p.
6. Sandell EB, Kolthoff IM. Micro determination of iodide by a catalytic method. *Mikrochim Acta.* 1937;1:9-25.

Otimização da reação em cadeia da polimerase para detecção de segmento *tax* do genoma proviral de HTLV-1 e HTLV-2

Leila Dias Teixeira da COSTA*, Vanessa da Silva BUENO*, Mariana Cavalheiro MAGRI², Adele CATERINO-DE-ARAÚJO¹

¹Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz

²Laboratório de Retrovírus, Núcleo de Doenças Sanguíneas/Sexuais, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz

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

Os vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) são retrovírus, cujo genoma proviral se insere ao DNA da célula hospedeira, podendo levar o indivíduo infectado ao estado de portador assintomático ou doente. A região *tax* do genoma proviral desses vírus diverge quanto à sua composição nucleotídica e ao tamanho do produto gerado (proteína Tax) e, portanto, essa região se presta a estudos de epidemiologia molecular^{1,2}. Sabe-se que a proteína Tax de HTLV-1 possui capacidade de induzir células T citotóxicas a produzirem citocinas e quimiocinas, responsáveis por processos inflamatórios graves, e que variantes da Tax são descritas em diferentes isolados no mundo²⁻⁴. Assim, o presente estudo objetivou otimizar uma reação em cadeia da polimerase (PCR) capaz de amplificar um segmento grande da Tax, para posterior utilização em estudos de epidemiologia molecular. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Retrovírus do Instituto Adolfo Lutz. Foram usadas na otimização sete amostras de DNA sabidamente positivas para HTLV-1 (n = 4) e HTLV-2 (n = 3), disponíveis no Laboratório de HTLV do Instituto Adolfo Lutz⁵. Após ajustes nos protocolos de amplificação (*primers*, reagentes e

condições de ciclagem), foi possível obter produtos de 1119 pb para HTLV-1 e 1134 pb para HTLV-2 (Figuras 1 e 2, respectivamente). Com os protocolos otimizados, foram amplificadas mais 43 amostras de DNA proviral (13 de HTLV-1 e 30 de HTLV-2), obtidas de pacientes coinfectados pelo HIV/Aids para posterior sequenciamento e busca de possíveis assinaturas moleculares presentes em isolados que circulam em São Paulo, em Londrina e região.

REFERÊNCIAS

1. Proietti AB de FC. HTLV Cadernos Hemominas. Minas Gerais: Belo Horizonte: Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais, 2010.
2. Iñiguez AM, Gastaldello R, Otsuki K, Balangero M, Carvalho Costa F, Remondegui C, Paula Vicente AC, Gallego S. Correlation of HTLV-1 Tax genetic diversity with HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis progression and HTLV-1a genotypes in an HTLV-1 endemic region in Argentina. J Med Virol. 2010;82(8): 1438-41.
3. Furukawa Y, Yamashita M, Usuku K, Izumo S, Nakagawa M, Osame M. Phylogenetic Subgroups of Human T Cell Lymphotropic Virus (HTLV) Type I in the tax Gene and Their Association with Different Risks for HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. J Infect Dis. 2000; 182: 1343-9.

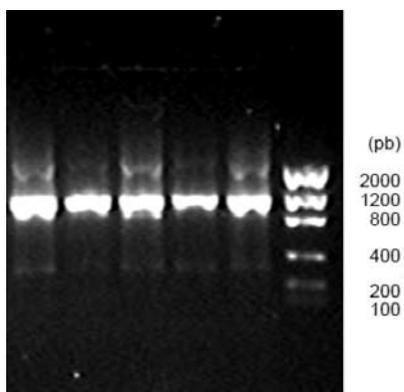


Figura 1. Bandas obtidas da amplificação da região Tax do genoma proviral de HTLV-1, quando submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,3%

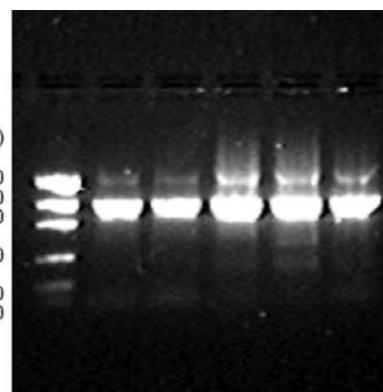


Figura 2. Bandas obtidas da amplificação da região Tax do genoma proviral de HTLV-2, quando submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,3%

4. Higuchi M, Fujii M. Distinct functions of HTLV-1 Tax1 from HTLV-2 Tax2 contribute key roles to viral pathogenesis. *Retrovir.* 2009;6:117.
5. Bueno VS, Magri MC, Caterino-de-Araujo A. Estabelecimento de métodos moleculares para a amplificação da região tax do genoma proviral de HTLV-1 e HTLV.

Nota: artigo baseado na monografia de Leila Dias Teixeira da Costa, apresentada no Programa Institucional de Iniciação Científica do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, área Imunologia/Biologia Molecular, em 2011.

Avaliação da PCR em tempo real como teste confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo

Karoline Rodrigues CAMPOS*, Adele CATERINO-DE-ARAÚJO¹

¹Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz de São Paulo

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

Diante de problemas detectados em algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1/2 utilizados no Instituto Adolfo Lutz (IAL) de São Paulo (Algoritmos 2007 e 2009)^{1,2}, o presente estudo objetivou avaliar um novo algoritmo (2010) que emprega como primeiro teste confirmatório a PCR em tempo real (*pol*), seguida do ensaio de *Western Blot* (WB)³. Avaliou-se também a repetitividade e a reprodutibilidade dos ensaios de PCR. Foram utilizados DNAs padrões de HTLV-1, HTLV-2 e albumina humana (controle endógeno) diluídos na razão 10, para confirmação do limite de detecção das PCRs e construção de curvas padrão. Foram realizadas duplicatas e replicatas nos ensaios de PCR, analisadas as curvas de amplificação quanto a: aspecto, *slope* (γ), regressão linear (R^2), valores de ciclos *threshold* (C_t), média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) (Figura 1). Os resultados obtidos com os padrões confirmaram bom desempenho, eficiência e repetitividade intraensaio ($CV \leq 1,6$) e reprodutibilidade interensaios

($CV \leq 1,0$). Posteriormente, foram submetidas à PCR em tempo real e ao WB 84 amostras de sangue que resultaram positivas na triagem sorológica. Quando comparados os resultados obtidos na PCR com os de WB, notou-se que o teste molecular apresentou maior especificidade (detectou sete casos que resultaram inconclusivos no WB), porém menor sensibilidade (deixou de detectar 13 casos WB positivos). Os resultados negativos na PCR podem estar relacionados à baixa carga proviral, ao estado de imunossupressão e ao uso de terapia antirretroviral pelos pacientes, já que 12 das 13 amostras de sangue que resultaram PCR negativas eram provenientes de indivíduos com HIV/AIDS. O ensaio molecular confirmou redução de 44% no custo do diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1/2 em laboratório que dispõe de equipamento e estrutura para realização da PCR em tempo real⁴. Concluindo, nenhum dos testes confirmatórios (PCR em tempo real e WB) sozinho pode ser aplicado em casuística atendida pelo IAL de São Paulo e confirma como melhor algoritmo o de 2010.

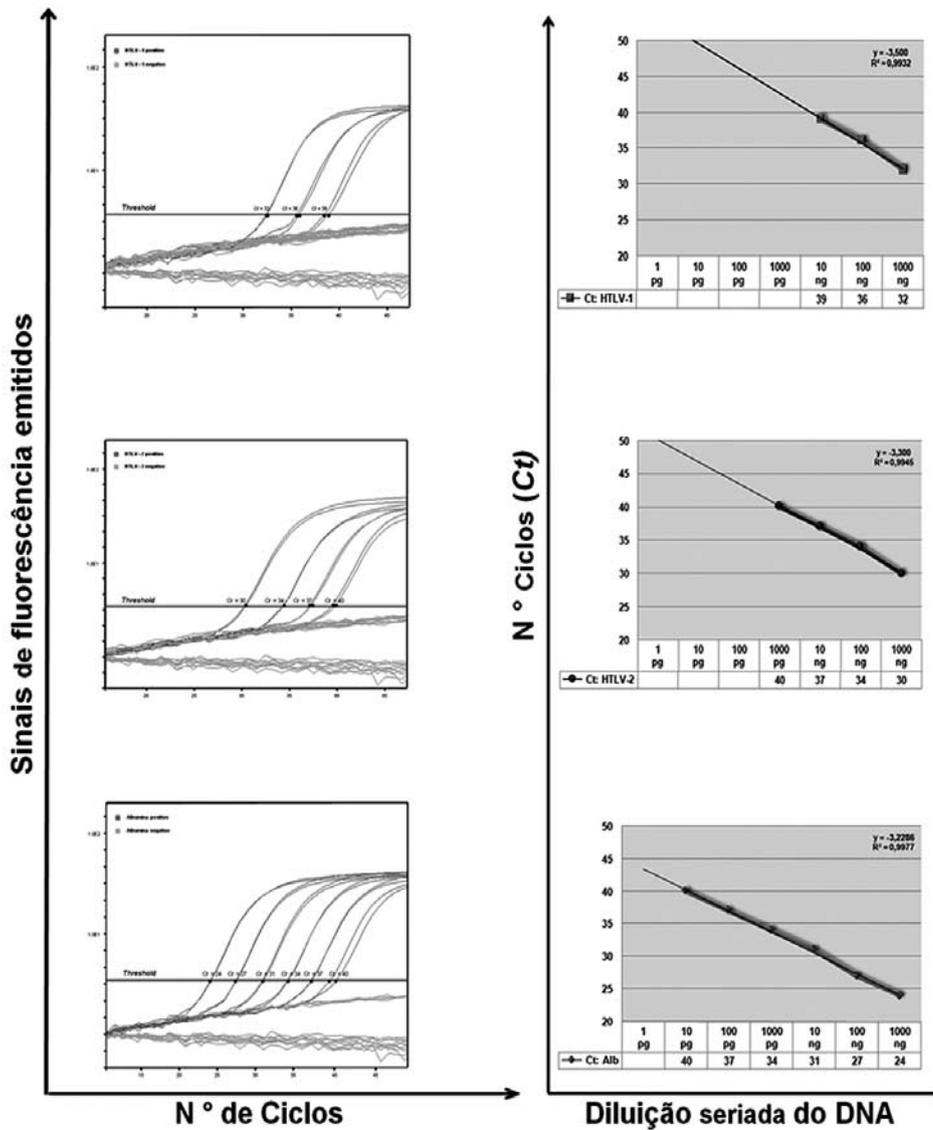


Figura 1. Curvas de amplificação na PCR em tempo real para HTLV-1, HTLV-2, albumina humana e correspondente curva de regressão linear, de acordo com a concentração de DNA alvo. À esquerda, curvas vermelhas representam positividade, enquanto as verdes são negativas.

REFERÊNCIAS

- Jacob F, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araujo A. Algoritmo de testes sorológicos de triagem para infecção por HTLV-1/2 usado no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. BEPA, 2008; 5:12-8.
- Costa EAS, Jacob F, Feliciano RS, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araujo A. Falha na implantação de um novo algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 em população de risco. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 2009; 68(2): 148-151.
- Costa EAS, Magri MC, Caterino-Araujo A. The best algorithm to confirm the diagnosis of HTLV-1 and HTLV-2 in at-risk individuals from São Paulo, Brazil. J Virol Methods. 2011; 173:280-283.
- Costa EAS, Campos KR, Caterino-de-Araujo A. Análise do custo-benefício de dois algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTLV-2. BEPA, 2011; 8 (94):4-13.

Detecção de genes de resistência microbiana produzidos por *Klebsiella pneumoniae* isoladas de infecção ou colonização hospitalar de vários hospitais do estado de São Paulo

Lorena Santinoni TONON*, Doroti de Oliveira GARCIA¹

¹*Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz*

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

Klebsiella pneumoniae são bacilos gram-negativos frequentemente envolvidos em infecções hospitalares. O principal mecanismo de resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas e aztreonam) é a produção de β -lactamases, enzimas que degradam o anel β -lactâmico contido na estrutura dos antimicrobianos β -lactâmicos. A grande preocupação desse tipo de mecanismo é em relação à facilidade de transferência dos plasmídeos entre os isolados clínicos. Devido à extensa disseminação de cepas resistentes a antibióticos, especialmente de cepas produtoras de ESBL, existe uma preocupação redobrada em infecções causadas por *K. pneumoniae*. Além da produção de ESBL, *K. pneumoniae* produtoras de outras β -lactamases têm sido descritas, tais como carbapenemases KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase)¹ e metalo- β -lactamases, as quais comprometem seriamente as opções terapêuticas para pacientes infectados por esses micro-organismos.

Os objetivos deste trabalho foram detectar genes de resistência responsáveis pela produção de KPC em amostras de *K. pneumoniae* provenientes de colonização e/ou infecção hospitalar e avaliar se há disseminação clonal.

Foram utilizadas 337 cepas de *K. pneumoniae* suspeitas de serem produtoras de KPC, isoladas de amostras clínicas de pacientes infectados ou colonizados provenientes de vários hospitais do estado de São Paulo, encaminhadas ao Núcleo de Enterobactérias do Centro de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz para confirmação de identificação, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e produção de KPC e tipagem epidemiológica molecular. A confirmação bioquímica foi feita por métodos bioquímicos clássicos manuais. Em relação aos testes de sensibilidade aos antimicrobianos, as cepas foram primeiramente submetidas ao teste de disco-difusão. Cepas com sensibilidade diminuída aos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem) e, portanto, suspeitas de serem produtoras de KPC, foram submetidas a testes dilucionais, Etest (AB Biomerieux, Solna, Sweden), para a determinação da concentração inibitória mínima frente aos seguintes agentes antimicrobianos: cefotaxima, ceftazidima, ertapenem, imipenem, imipenem/imipenem+EDTA, meropenem, polimixina B e tigeciclina. A leitura e a interpretação dos resultados foram feitas de acordo com o CLSI (2011)², exceto para tigeciclina e polimixina B (EUCAST)³. Cepas

com confirmação de sensibilidade diminuída aos carbapenêmicos foram encaminhadas para a realização da PCR para a confirmação da presença do gene *bla_{KPC}* (Rasheed et al, 2008)⁴. Para a tipagem epidemiológica, utilizou-se o método de eletroforese de campo pulsado (PFGE). A análise dos perfis foi feita de acordo com os critérios de Tenover (1995)⁵.

As 337 cepas de *K. pneumoniae* analisadas foram confirmadas como produtoras de ESBL e apresentaram resistência ou sensibilidade diminuída aos carbapenêmicos. A porcentagem de resistência foi elevada para a maioria dos antimicrobianos testados. A maioria das cepas (quase 100%) apresentou CIM $\geq 1\mu\text{g/mL}$ (R) frente ao ertapenem e a sensibilidade ao imipenem e meropenem foi variável. A porcentagem de resistência às cefalosporinas de terceira geração (cefotaxima e ceftazidima) também foi elevada. Tigeciclina e polimixina B foram os antimicrobianos que apresentaram maior sensibilidade, embora tenha ocorrido o aparecimento de sensibilidade diminuída e resistência a essas drogas (tabela 1). Em 208 cepas de *K. pneumoniae* (62%) analisadas por PCR foram observadas a presença de uma banda de 1011 pb, correspondentes à presença do gene *bla_{KPC-2}*. A análise dos perfis de restrição obtidos pela eletroforese em campo pulsado (PFGE) mostrou que houve disseminação clonal intra e inter-hospitais. Esse mesmo clone encontra-se disseminado

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM50 e CIM90) referente a 142 cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC, isoladas de diversos hospitais do Estado de São Paulo

Antimicrobiano	Intervalo CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Imipenem	0,5->32	4	>32
Meropenem	0.25->32	4	>32
Ertapenem	0,5->32	4	>32
Cefotaxime	3->32	>32	>32
Ceftazidime	6->256	128	>256
Tigecycline	0.125-4	1,5	2
Polymyxin B	0.19-128	1,0	2

em diversos hospitais no estado de São Paulo, com grande enfoque para a área metropolitana.

A opção terapêutica para casos de infecção por *K. pneumoniae* produtora de ESBL é a utilização de β -lactâmicos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem), portanto, a produção de carbapenemases, como a KPC, limita bastante o tratamento. Assim, a continuidade do monitoramento da produção de cepas produtoras de KPC e da disseminação de um clone único no estado de São Paulo é de fundamental importância no intuito de se criar novas estratégias para evitar a disseminação desses micro-organismos em nosso meio.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo auxílio financeiro (Processo 2009/53229-0).

REFERÊNCIAS

1. Abboud CS, Bergamasco M, Doi AD, Zandonadi EC, Barbosa VL, Cortez D, Saraiva CR, Doy C, Garcia DO. First Report of Investigation of an Outbreak due to carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* (KPC) in a Tertiary Brazilian Hospital, with Extension to a Patient of the Community. *J. Infect Prev.* 2011;12(4):150-153.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 21th informational supplement CLSI document M100-S21. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011. Wayne, PA, USA.
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). [Data de acesso: 29/05/2011]. Disponível em: http://eucast.org/fileadmin/srd/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v1.1.pdf.
4. Rasheed JK, Biddle JW, Anderson KE, et al. Detection of the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase type 2 Carbapenem-hydrolyzing enzyme in clinical isolates of *Citrobacter freundii* and *K. oxytoca* carrying a common plasmid. *J. Clin. Microbiol.* 2008;46:2066-2069.
5. Tenover FC, Arbeit RD, Goering R, Mickelsen PA, Murray BE, Perseing D, et al. Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. *J. Clin. Microbiol.* 1995;33(9):2233-2239.

Análise de contaminantes em leite bovino: determinação de chumbo

Bruna Macedo BAEDER*, Paulo TIGLEA

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

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

A contaminação do leite bovino por agentes químicos é considerada um problema de saúde pública, uma vez que é um alimento importante na dieta humana. A ocorrência de contaminantes químicos em alimentos pode causar reações de hipersensibilidade e toxicidade, que podem ser agudas, crônicas e, eventualmente, com progressão lenta, como a ação carcinogênica. Metais como chumbo e cádmio podem estar presentes em função de diversos fatores associados a condições ambientais, práticas tecnológicas e uso indiscriminado de produtos químicos na produção animal¹.

Para o chumbo, a Portaria nº 685, de 27/08/98, estabelece o limite máximo em leite fluido pronto para o consumo em 0,05mg/kg². Comparativamente aos adultos, as crianças, que compõem o grupo mais vulnerável aos efeitos tóxicos desse elemento, que incluem deficiência de aprendizado, ingeririam quantidades significativamente maiores do contaminante, já que o seu consumo de leite é de três a quatro vezes maior. A Organização Mundial da Saúde estabeleceu em 25µg/kg de peso corpóreo

a Ingestão Semanal Provisória Tolerável de chumbo por crianças (PTWI)³.

Este trabalho teve como objetivo a análise de amostras de leite comercializadas no Brasil, com o intuito de avaliar os níveis de chumbo. Foram analisadas dez amostras de leite do tipo pasteurizado integral, 137 do tipo UHT integral e 71 amostras de leite em pó integral, totalizando 218 amostras.

As tomadas de ensaio consistiram de alíquotas de 10mL para o leite fluido e de 1,2g de amostra para o leite em pó, correspondente à alíquota de leite fluido reconstituído. As amostras foram mineralizadas e as cinzas obtidas dissolvidas com 0,5mL de HNO₃ 65%, grau analítico Suprapur, e transferidas para balão de 10mL, com concentração final de HNO₃ de 5% (v/v). As concentrações de chumbo foram determinadas em um Espectrômetro de Massa com Plasma de Argônio Acoplado Indutivamente (ICP-MS), marca Perkin-Elmer, modelo Elan DRC II. O resultado de cada amostra foi obtido pela média de três replicatas. As amostras foram manipuladas para leitura em uma sala limpa ISO classe sete. Para o cálculo das concentrações, foi utilizada a média de três isótopos

(206, 207 e 208) e, como padrão interno, empregou-se uma solução de rênio de 5µg/L.

A validação do método foi efetuada com o Material de Referência Certificado NIST (*National Institute of Standards & Technology*, EUA) 8435 – *Whole Milk Powder* (valor certificado de 0,11 ± 0,05mg/kg), com recuperação média de 91%, para 13 preparações independentes. Os Limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ) obtidos foram de 0,32µg/kg e de 0,97µg/kg, respectivamente. O coeficiente de variação foi de 10% para a concentração de 1,0mg/L. A curva de calibração consistiu de concentrações de 1-2-5-10-20-50µg/L em HNO₃ 5% (v/v), com linearidade de R² > 0,999.

Os resultados obtidos, representados na tabela 1, foram comparados ao valor limite de 0,05 mg/kg, de acordo com a legislação brasileira⁴, e todas as amostras foram consideradas satisfatórias.

O CODEX Alimentarius tem recomendado a adoção de práticas para a redução dos níveis de chumbo em diversos tipos de alimentos⁴. Nos países da Comunidade Europeia (CE), o valor tolerado para o leite já é de 0,02mg/kg⁵. Considerando que o limite estabelecido pela legislação brasileira raramente é alcançado, seria possível uma redução de seu valor. Adotando-se o limite da CE, a classificação dos resultados seria relativamente modificada como mostra a tabela 2, tornando insatisfatória parte das amostras, porém ainda em número reduzido.

Considerando a toxicidade do chumbo e a importância do leite para a dieta do brasileiro, principalmente das crianças, a redução da concentração desse contaminante contribuiria para a melhoria da saúde da população. Comparando os valores obtidos com o limite estabelecido pela União Europeia,

verifica-se que é possível aplicá-lo à nossa realidade, o que, além da garantia da saúde populacional, traria o benefício adicional de facilitar a comercialização do produto nacional no mercado exterior.

AGRADECIMENTOS

Márcia Liane BUZZO, Maria de Fátima Henriques CARVALHO, Richard MATSUZAKI, Edna Emy Kumagai ARAKAKI, Carmen Silvia KIRA, Luciana Juncioni de ARAUZ.

APOIO

Projeto CNPq/MAPA.

REFERÊNCIAS

1. FLYNN, A. Minerals and trace elements in milk. *Advances in Food and Nutrition Research*, 1992; v. 36, p. 209-252.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Aprova o Regulamento Técnico: "Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos". *Diário Oficial*, Brasília, DF. n. 183-E, 24 set. 1998, Seção 1. p.3
3. World Health Organization [WHO]. IPCS – International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 165, Inorganic Lead. Geneva: World Health Organization, 1995.
4. CODEX ALIMENTARIUS. Code of practice for the prevention and reduction of lead contamination in foods. CAC/RCP 56, 2004. [http://www.codexalimentarius.net/downloads/Standards/10099/CXC_056_2004e.pdf].
5. UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) nº 1881/2006, da comissão, de 19 de dezembro de 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos gêneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*, de 20 de dezembro de 2006. [<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:PT:PDF>]

Análise de contaminantes em leite

Cidalia Ricardo da SILVA*, Janete ALABURDA

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

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

O leite é um alimento rico em vitaminas com uma composição contendo nutrientes fundamentais para o desenvolvimento da saúde humana. O seu consumo diário tem sido estimulado, principalmente, para crianças. Embora os benefícios que o leite traga à saúde sejam muitos, sabe-se que podem existir etapas de contaminação durante o processo de sua produção. Dessa forma, foi avaliada a contaminação por resíduos de sulfonamidas (sulfametazina, sulfadimetoxina e sulfametazol) e aflatoxina M1 em amostras de leite provenientes das capitais de vinte estados do território nacional e do Distrito Federal, totalizando 305 amostras de leite integral, sendo 136 de leite UHT, 64 de pasteurizados e 105 de leite em pó. Os resíduos de sulfonamidas foram extraídos com diclorometano e coluna de extração em fase sólida de sílica, separadas e quantificadas por CLAE/fluorescência com derivação pré-coluna com fluorescamina. A aflatoxina M1 foi extraída a partir do leite desengordurado por coluna de imunoafinidade, separada e quantificada por CLAE/fluorescência. A contaminação de AFM1 foi observada em 206 (67,6%) amostras de leite, sendo 108 amostras de leite UHT, 27 amostras de leite pasteurizado e em 71 de leite em pó. Com relação aos

resultados de resíduos de sulfonamidas, verificou-se que uma amostra de leite em pó apresentou contaminação por sulfametazol, uma amostra de leite UHT por sulfadimetoxina e 19 amostras apresentaram contaminação por sulfametazina (três leites UHT, seis leites pasteurizados e dez leites em pó). No entanto, todas as concentrações desses contaminantes estavam abaixo dos limites da legislação vigente. A qualidade dos leites analisados estava adequada para o consumo para a população.

REFERÊNCIAS

1. ALABURDA, J. et. al., Sulfonamidas em leite por cromatografia líquida de alta eficiência com derivação pré-coluna e detecção de fluorescência. *Revista Agropecuária*, Brasília, nov. 2007, v. 42, n. 11, p 1587-1592.
2. BRASIL. ANVISA. Resolução RDC n. 274, de 15 de outubro de 2002. Aprova o regulamento técnico sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, no amendoim e no milho. *Diário Oficial da União*, DF, 16 de outubro de 2002.
3. EUROPEAN COMMUNITY. Establishment of maximum residue levels of veterinary medical products in foodstuffs of animal origin, Council Regulation n. 2377/90. *Official Journal of European Community*, L224/1, 1990.
4. SHUNDO L, SABINO M. Aflatoxin M1 in Milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. *Brazilian Journal Microbiology*. 2006, 37:164-7.

Papel da resistência genotípica à nova classe de medicamentos que atuam na integrase no resgate terapêutico de pacientes infectados pelo HIV-1

André Minhoto LANÇA*, **Luis Fernando de Macedo BRÍGIDO**

Laboratório de Retrovírus, Núcleo de Doenças Sanguíneas e Sexuais, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz

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

Raltegravir (Merck®) foi o primeiro antirretroviral inibidor da enzima integrase do HIV-1 aprovado para uso em pacientes infectados pelo HIV-1¹, sendo utilizado no Brasil atualmente para tratamento de indivíduos multiexperimentados aos medicamentos disponíveis e com evidência de falha no controle da replicação viral, caracterizando seu uso como terapia de resgate.² A presença de mutações em códons que codificam aminoácidos relacionados à atividade enzimática ou em sítios de ligação entre fármaco e enzima, alterando a conformação estrutural desta, pode comprometer essa interação, levando à queda da suscetibilidade do vírus à droga e consequente ineficácia do medicamento.³ Ensaios *in-vitro* e *in-vivo* identificaram as principais mutações de resistência a este fármaco: N155H [substituição de uma asparagina (N) por uma histidina (H) na posição 155], Q148HRK e Y143RHC. Entretanto, essas mutações reduzem a capacidade funcional da integrase e da replicação viral, e a emergência de

mutações acessórias é necessária para restauração da capacidade de replicação do vírus.^{4,5} Para avaliar o perfil de resistência antirretroviral, foi padronizada uma metodologia de sequenciamento genômico do gene da integrase, após extração de RNA viral isolado de plasma de indivíduos infectados, submetido às etapas de transcrição reversa, amplificação por reação em cadeia da polimerase e sequenciamento do produto amplificado. A sequência obtida é, então, submetida aos *websites* Geno2pheno e HIV *Stanford Resistance Database*, os quais possuem ferramentas de submissão capazes de avaliar o perfil de mutações das sequências obtidas, apresentando laudo de resistência. Atualmente, o Laboratório de Retrovírus do Instituto Adolfo Lutz atende ao estado de São Paulo e a outras cidades do Brasil, assumindo um papel de proporcionar à conduta médica a oportunidade de solicitação de um teste genotípico ainda não disponível na Rede Nacional de Genotipagem (Renageno), permitindo a avaliação de pacientes em falha terapêutica após introdução dos inibidores de integrase em terapias

de resgate. A alta taxa de conservação da integrase contribui para a eficácia dos inibidores dessa enzima em pacientes multirresistentes para drogas que atuam em outras etapas do ciclo viral. Entretanto, há elevada prevalência de polimorfismos em posições relacionadas indiretamente à resistência, o que pode impactar na suscetibilidade aos inibidores de integrase durante a terapia de resgate⁶. Devido à baixa barreira genética do RAL e ao grande número de indivíduos com reduzida suscetibilidade a todas as classes antirretrovirais recomendadas para tratamento de entrada e resgate, há grande dificuldade de emprego do RAL em esquemas terapêuticos capazes de suprimir por longos períodos a replicação viral. É recomendado o uso desse medicamento acompanhado de duas outras drogas antirretrovirais ativas (HAART) e nem sempre esse cenário é favorável, tornando necessário o uso do RAL associado a drogas parcialmente ativas, justificando a necessidade de um teste genotípico rápido e barato para detecção precoce da emergência de mutações capazes de reduzir a atividade dos inibidores de integrase.

REFERÊNCIAS

1. FDA. FDA approves new HIV drug – Raltegravir tablets used in combination with other antiretroviral agents. In: Administration USFaD, editor. FDA News, 2007.
2. Ministério da Saúde, 2009. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>. Acesso em: 30 de março de 2011.
3. Markovitz, M. Targeting Integrase: Mechanisms of Action and Mechanisms of Resistance to Integrase Inhibitors. *Clinical Care Options*; 2008.
4. Charpentier C, Karmockine M, Laureillard D, Tisserand P, Belec L, Weiss L, Si-Mohamed A, Picketti C. Drug resistance profiles for the HIV Integrase gene in patients failing Raltegravir salvage therapy. *HIV Med.* 2008; v.9, p. 765-770.
5. Hu Z e Kuritzkes. D.R. Effect of Raltegravir Resistance Mutations in HIV-1 Integrase on Viral Fitness. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010; v. 55, p. 148-155.
6. Hackett JJ, Swanson P, Harris B, Holzmayer V, Yamaguchi J, Bodelle P, Brennan C, Schochetman G e Devare S. Conf Retr. *Opportunistic Infect. Comprehensive evaluation of HIV-1 integrase gene diversity in group m, n, and o viruses.* Abstract 366, 2005; Feb 22-25.

Caracterização das espécies de micobactérias isoladas de surtos pós-procedimentos invasivos quanto à diversidade e ao perfil genético

Natalia Fernandes Garcia de CARVALHO*, Erica CHIMARA, Lucilaine FERRAZOLL

Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses, Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz

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

O gênero *Mycobacterium* contempla espécies do complexo *M. tuberculosis* e as denominadas Micobactérias não tuberculosas, constituindo um grupo de bactérias geneticamente distintas e, em sua maioria, de limitada patogenicidade². Estas podem ser classificadas de acordo com o tempo de crescimento em micobactérias de crescimento lento e em Micobactérias de Crescimento Rápido (MCR)⁴. As micobactérias podem ser encontradas em uma variedade de reservatórios ambientais como reservatórios de águas naturais, redes de armazenamento e distribuição de água, solo, protozoários, animais e humanos³. Além disso, são patógenos oportunistas que necessitam de uma abertura da defesa do hospedeiro para infectar o mesmo. Essas aberturas podem ocorrer por danos à barreira da mucosa ou da pele, doenças pulmonares de base ou imunossupressão causada por HIV, câncer ou drogas¹. Devido a sua natureza ambiental e oportunista, as MCRs estão relacionadas com muitas

infecções nosocomiais. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os isolados de MCR provenientes de surtos no estado de São Paulo no período de 2007 a 2011 por sequenciamento do gene *rpoB* e pela técnica *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PGFE). Foram avaliados 34 isolados de MCR provenientes da cidade de São José do Rio Preto (SJRP), 35 de Campinas, oito de Assis e dois de Santos. A identificação por PRA-*hsp65* e o sequenciamento do gene *rpoB* revelaram que, dos isolados de SJRP, 30 eram *M. abscessus* ssp *bolletii* e quatro *M. cosmeticum*/ *M. canariasense*. Dos isolados de Campinas, 26 eram *M. fortuitum* e 7 *M. abscessus* ssp. *bolletii*. Todos os isolados de Assis eram *M. abscessus* ssp. *bolletii* e de Santos, um era *M. abscessus* ssp. *bolletii* e outro *M. abscessus* ssp. *abscessus*. A análise de 50 isolados por PFGE mostrou seis grupos genéticos distintos. Os isolados de *M. fortuitum* foram agrupados em dois grupos (MF1, MF2), os isolados de *M. abscessus* ssp. *abscessus* em um grupo (MAA1) e os isolados de *M. abscessus* ssp. *bolletii* em três grupos (MAB1, MAB2, MAB3). O

grupo MAB3 corresponde ao perfil encontrado nas cepas causadoras do surto brasileiro, sendo CRM 273 a cepa tipo. Esses dados comprovaram a ocorrência de surtos e um pseudosurto nas regiões estudadas.

REFERÊNCIAS

1. Jarzembowski JA, Young MB. Nontuberculous Mycobacterial Infections. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, Ag, 2008; vol. 132, n. 8, p.1333-1341.
2. McNabb A, Eisler D, Adie K, Amos M, Rodrigues M, Stephens G, Black WA, Isaac-Renton J. Assessment of partial sequencing of the 65-kilodalton heat shock protein gene (*hsp65*) for routine identification of *Mycobacterium* species isolated from clinical sources. Journal of Clinical Microbiology, Jul, 2004; vol. 42, n. 7, p. 3000-11.
3. Primm TP, Lucero CA, Falkinham JO. 3rd. Health impacts of environmental mycobacteria. Clinical Microbiology Reviews, Jan. 2004; vol.17, n.1, p. 98-106.
4. Runyon EH. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. Medical Clinics of North America, Jan. 1959; vol. 43, n. 1, p. 273-90.

Perfil de células do infiltrado inflamatório de *Calomys callosus* infectados pelo *Trypanosoma cruzi* na fase aguda da infecção

Cybele Almeida Freitas DA SILVA*, Noemi Nosomi TANIWAKI

Núcleo de Microscopia Eletrônica, Centro de Procedimentos Interdisciplinares, Instituto Adolfo Lutz

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

A doença de Chagas causada pelo *Trypanosoma cruzi* é um problema de saúde pública na América Latina. Estima-se que há entre 10-16 milhões de pessoas infectadas por esse parasita e outras milhares ainda expostas ao risco de novas infecções.

O papel do sistema imune no desenvolvimento da doença de Chagas ainda é desconhecido, devido a poucas informações acerca das características imunológicas no sítio da doença.

Um modelo experimental da doença de Chagas em *Calomys callosus* foi realizado, a fim de identificar e semiquantificar as células do infiltrado inflamatório no miocárdio de *Calomys* infectados pelo *Trypanosoma cruzi* das cepas Y (*T. cruzi* II), CL (*T. cruzi* VI) e G (*T. cruzi* I), na fase aguda da infecção e investigar as diferenças nas lesões teciduais com parasitas de grupos representativos de três linhagens filogenéticas do *T. cruzi*¹.

Os animais foram sacrificados na fase aguda e os corações foram retirados e incluídos em parafina.

Cortes de coração foram processados para imunohistoquímica.

Corações de animais infectados com as cepas Y e CL apresentaram um infiltrado inflamatório linfomononuclear com macrófagos, linfócitos e plasmócitos, além de polimorfonucleares neutrófilos e eosinófilos, na região atrial. No ventrículo, observou-se uma miocardite focal discreta. Observaram-se ninhos de parasitas no interior de células musculares cardíacas. Corações de animais infectados com a cepa G apresentaram um infiltrado inflamatório leve e alguns ninhos de parasitas de tamanhos variados.

Resultados preliminares obtidos através de análises semiquantitativas do infiltrado inflamatório de corações de *Calomys callosus* infectados com as cepas Y, CL e G mostraram um grande número de macrófagos nos corações de animais infectados com as três cepas. Animais infectados com a cepa Y mostraram um maior número de células T CD8 que as demais cepas.

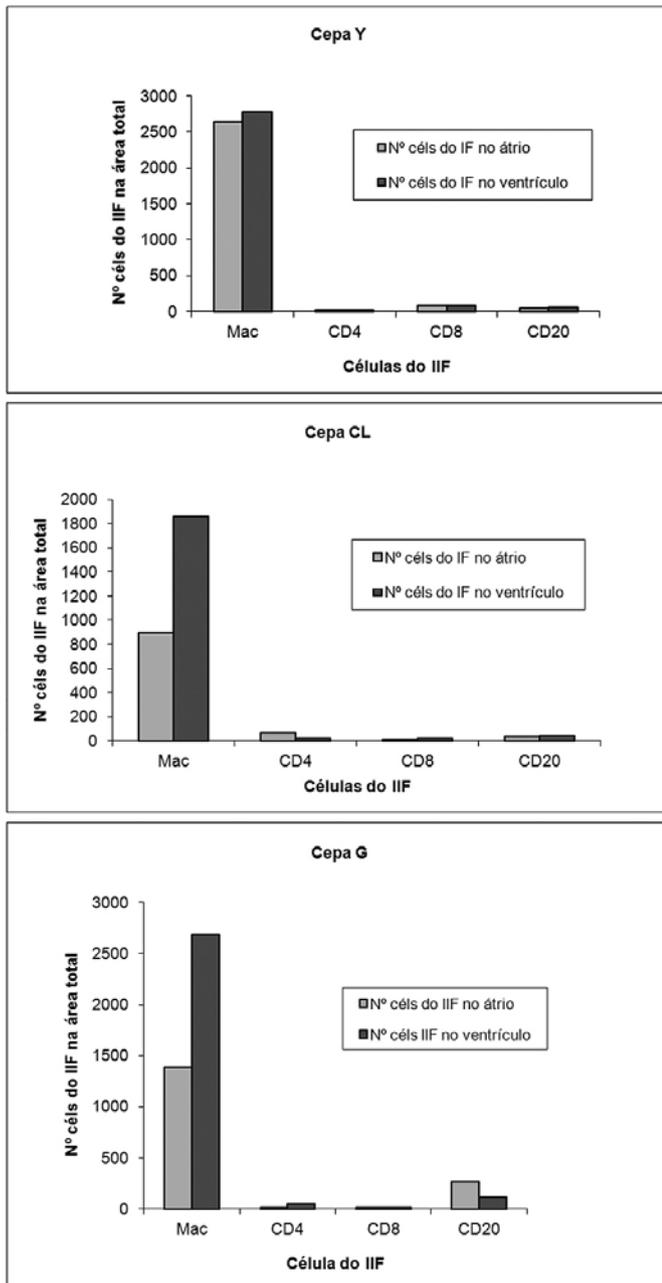


Figura 1. Análise semiquantitativa de macrófagos, células T CD4, T CD8 e B CD20 no coração de *Calomys callosus* infectados com *T. cruzi* da cepa Y, CL e G na fase aguda da infecção

Havia um maior número de células T CD4 na região do átrio de animais infectados com a cepa CL e no ventrículo de animais infectados com a cepa G. O número de células B CD20 foi maior no átrio e no ventrículo de animais infectados com a cepa G em relação às outras cepas. De acordo com Brener e Gazinelli (1997)², as células T CD8 e os macrófagos são células importantes no controle da replicação do parasita na fase aguda da doença de Chagas. Nossos resultados sugerem que o sistema imune de *Calomys* atua de uma forma mais vigorosa quando infectado com a cepa Y, por ser uma cepa mais infectiva e virulenta que CL e G.

REFERÊNCIAS

1. Zingales B; Andrade SG; Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR, Miles MA, Romanha AJ, Sturm NR, Tibayrenc M, Schijman AG. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009; v. 104, p. 1051-1054.
2. Brener Z, Gazinelli RT. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas' disease. Int Arch Allergy Immunol, 1997;114(2):103-10.

Evolução molecular do HIV-1 em crianças vivendo com HIV/AIDS com doença avançada

Paula Morena de Souza GUIMARÃES*, Luís Fernando de Macedo BRÍGIDO

*Laboratório de Retrovírus, Centro de Virologia,
Instituto Adolfo Lutz*

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

A introdução dos medicamentos antirretrovirais na rede pública possibilitou uma melhora dos marcadores virológicos e imunológicos das crianças portadoras de HIV/AIDS¹, permitindo um aumento expressivo da sobrevida nesse grupo². Contudo, a progressão da doença em crianças infectadas no período perinatal difere da progressão observada em adultos, tendo entre os principais fatores a imaturidade do sistema imune³. Além disso, a alta variabilidade genética do vírus associada à pressão seletiva por parte dos medicamentos permite a emergência de cepas com resistência às drogas antirretrovirais. Com isso, o monitoramento clínico e molecular se faz necessário para auxiliar no entendimento da patogênese viral e para subsidiar a decisão clínica na escolha da terapia de resgate ideal para cada paciente.

O objetivo do estudo foi avaliar a evolução de características moleculares das regiões polimerase e envelope do HIV-1, em crianças vivendo com HIV/AIDS em fase avançada de doença.

Foram analisadas amostras de 25 crianças infectadas pelo HIV por transmissão vertical, em seguimento clínico no Instituto de Infectologia

Emílio Ribas e expostas a tratamento antirretroviral. O sequenciamento genético das regiões analisadas foi realizado em dois momentos no período de 2005 a 2010 e as sequências foram derivadas de amostras de plasma. A subtipagem da região da polimerase e do envelope foi realizada pelos *websites* *REGA HIV-1* e *Genotyping NCBI*, a predição de tropismo viral foi realizada, em triplicatas, pela ferramenta *Geno2pheno* 10% clonal, e o perfil de resistência aos Inibidores de Protease (IP) e transcriptase reversa (NRTI; NNRTI) foi analisado por *HIV Stanford Database* e pelo *IAS List Mutation, 2010*. Os dados clínicos e moleculares foram analisados pelo programa EpiInfo6.

Os pacientes apresentaram, em média, 13 anos de idade (DP 6-18), uma média de carga viral de 4.38 log₁₀, 52% eram do sexo masculino; apresentaram, em média, 10 anos de tratamento e utilizaram, em média, 4 (DP 1-8) esquemas terapêuticos na segunda avaliação. O subtipo B foi o mais prevalente tanto no gene *pol* (80%) quanto no *env* (68%), sendo que no gene *env* as demais amostras (32%) eram do subtipo F, enquanto no gene *pol* observou-se uma frequência de 12% de amostras recombinantes BF. Com relação à contagem de células TCD4⁺, foi observada uma

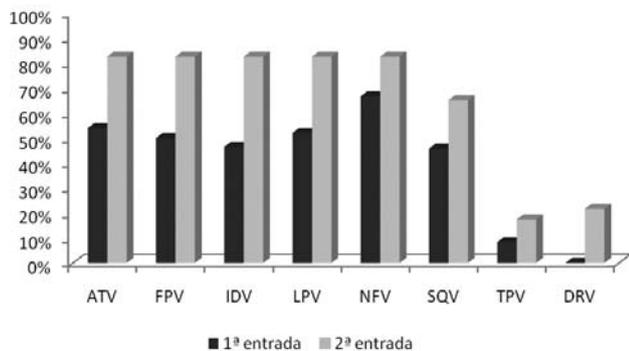


Figura 1. Frequência de resistência intermediária/alta aos Inibidores de Protease (IP) na primeira e na segunda entrada. Abreviaturas dos IP: Atazanavir (ATV), Fosamprenavir (FPV), Indinavir (IDV), Lopinavir (LPV), Nelfinavir (NFV), Saquinavir (SQV), Tipranavir (TPV), Darunavir (DRV)

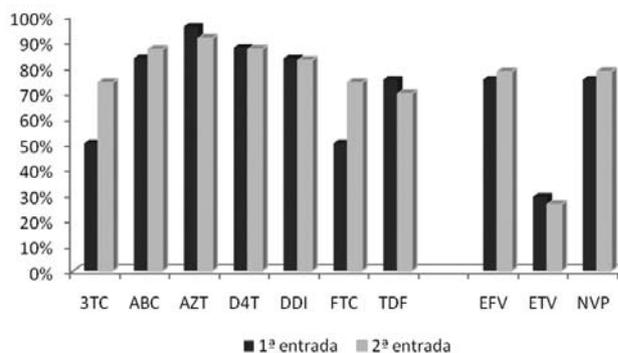


Figura 2. Frequência de resistência intermediária/alta aos Inibidores de Transcriptase Reversa análogos de Nucleosídeos/Nucleotídeos (NRTI) e não análogos de Nucleosídeos (NNRTI) na primeira e na segunda entrada. Abreviaturas dos NRTI: Lamivudina (3TC), Abacavir (ABC), Zidovudina (AZT), Estavudina (D4T), Didanosina (DDI), Emtricitabina (FTC), Tenofovir (TDF). Abreviatura dos NNRTI: Efavirenz (EFV), Etravirina (ETV), Nevirapina (NVP)

diminuição de 28% nos níveis de TCD4⁺ entre a primeira e a segunda amostra (570 céls/mm³ – 411 céls/mm³). Todas as crianças apresentaram resistência a IPs, NRTIs, NNRTIs desde a primeira avaliação, inclusive para medicamentos de segunda geração, em que os pacientes ainda não haviam sido expostos, como o Tipranavir (IP) e a Etravirina (NNRTI). As mutações M46I/L e I47V/A apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$), enquanto a D30N diminuiu ($p < 0,05$), essa última podendo estar associada com o recolhimento do fármaco Nelfinavir. Na primeira avaliação, 37,5% dos casos apresentaram tropismo X4, enquanto na segunda entrada observou-se um discreto aumento de 6,25%. Esse aumento pode estar associado com o perfil de evolução clínica das crianças do estudo, mas em virtude da pequena amostragem não é possível afirmar essa relação.

Os dados clínicos e moleculares observados neste estudo demonstram um importante risco de progressão da doença nesses pacientes, assim como uma dificuldade na elaboração de tratamento de resgate dessas crianças, visto que se observa aumento de resistência à maioria dos medicamentos

analisados e uma elevada proporção de sequências com resistência intermediária ou alta em alguns casos. Isso se torna mais impactante frente ao fato que muitos medicamentos de nova geração ainda não terem sido liberados para uso em algumas faixas etárias dessa população. Dessa forma, os dados ressaltam a necessidade de estudos clínicos que antecipem a liberação de novas terapias de resgate para crianças em falha terapêutica e a importância de um monitoramento clínico e molecular diferenciado para crianças portadoras de HIV/AIDS.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer aos médicos pediatras do Instituto de Infectologia Emílio Ribas: Alexandre Ely Campeas, Maria do Socorro Carneiro Ferrão e Silva Marques, por possibilitarem a realização desse trabalho e permitirem o acesso aos dados clínicos. Agradecemos também a Rosângela Rodrigues, Jaqueline de Souza Cavalcanti e João Leandro de Paula Ferreira do Laboratório de Retrovírus do Instituto Adolfo Lutz que auxiliaram na análise dos dados e no desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Resino S, Bellon JM, Ramos JT, Resino R, Urbindo MD, Mellado MJ *et al.* Impact of highly active antiretroviral therapy on CD4⁺ T cells and viral load of children with AIDS: a population-based study. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2004; 20:927-931.
2. Matida LH, Marcopito LF, Succi RCM, Marques HHS, Negra MD, Grangeiro A *et al.* Improving Survival Among Brazilian Children With Perinatally-Acquired AIDS. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2004; 8:419-423.
3. Shearer WT, Quinn TC, LaRussa P, Lew JF, Mofenson L, Susan A *et al.* Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. *The New England Journal of Medicine*. 1997; 336:1337-1342.

Atividades de Museologia e educação não formal no MusIAL – Museu do Instituto Adolfo Lutz

Pedro Antonio FEDERSONI JR., Silvana Campos da Rocha CALIXTO

*MusIAL – Museu do Instituto Adolfo Lutz – Núcleo de Acervo
Centro de Planejamento e Informação, Instituto Adolfo Lutz*

O MusIAL (Museu do Instituto Adolfo Lutz) foi convidado e está inscrito, desde 2009, para o 1º Encontro Paulista de Museus (em 2011, na sua terceira edição) e tem participação ativa nos Núcleos Setoriais, do SISEM (Sistema Estadual de Museus de São Paulo), da Secretaria de Estado da Cultura de São Paulo, e foi sede da primeira reunião da região, em 2009. Os autores têm tido inclusões decisivas para a setorização nas tipologias de museus.

Já no primeiro encontro, por moção dos autores, foi discutida a abertura de espaço para que museus de Ciências pudessem reunir seus museólogos e técnicos, a partir do segundo encontro. Conseguiu-se, assim, a inclusão do MusIAL em reuniões deliberativas da recém-formada área de “Museus e Centros de Ciências”, inclusive com possibilidade de fazer parte da RedPop (*Red de la Popularización de las Ciencias*), da Unesco, a qual os autores já faziam parte, desde 2000, quando propuseram que a RedPop abrisse uma ala para discussões destinada aos pequenos museus (como era o Mibio, museu em que, então, militavam no Instituto Biológico). A partir de 2000, por sugestão dos autores, nasceu a “RedPop Lilliput”. Em 2011, no 3º Encontro Paulista de Museus, já houve toda uma tarde para discussões

dos integrantes dos museus e dos centros de Ciências do estado de São Paulo.

A partir de 2011, a convite do IBRAM (Instituto Brasileiro de Museus), órgão da PNM (Política Nacional de Museus), do Ministério da Cultura, Brasília; o MusIAL participou, juntamente com outros 1.005 museus de todo o Brasil, com 3.080 eventos, da “9ª Semana de Museus – Museu e Memória”, de 16 a 20 de maio; a fim de comemorar o Dia Internacional dos Museus, em 18 de maio, criado pelo ICOM (*International Council of Museums*).

O programa consistiu em trazer para o MusIAL uma atividade que vinha sendo desenvolvida pelos autores desde o final da década de 1980. No início, foi uma disciplina de curso de pós-graduação *lato sensu*: “Museologia e Educação Ambiental”, oferecido pelo Ministério da Saúde e pelo Instituto Butantan. Tinha 80h/aula com teoria e prática, inclusive no campo, com expedições. Quando o apoio do Ministério da Saúde foi cortado, o público a quem o curso estava destinado solicitou, insistentemente, que o mesmo fosse retomado. Então, sob os auspícios do Instituto Butantan, os autores continuaram a ministrá-lo; agora, não como matéria de um curso de especialização, mas como um curso teórico/prático de 40h/aula (cinco dias intensivos, período integral), com a

obrigatoriedade de que os quatro grupos, de cinco alunos cada, elaborassem um programa museológico, que chegasse à montagem dos quatro museus e suas respectivas inaugurações, com autoridades presentes, promoções em órgãos de imprensa e tudo o que uma inauguração de museu deve propiciar.

Foram dadas dezenas desses cursos, no Instituto Butantan e no Instituto Biológico, para onde os autores se transferiram, em 1998. Foram oferecidos em períodos de férias escolares para que professores de escolas públicas e particulares pudessem frequentá-los. Foram também ministrados, no Mibio, a pedido da Secretaria de Estado da Educação de São Paulo, com patrocínio da Capes, dois cursos de aperfeiçoamento de professores da rede pública, com a finalidade de lhes dar instruções específicas para a criação de museus escolares e comunitários, nos seus bairros e arredores.

As notícias correram. Universidades passaram a solicitar que o curso fosse ministrado entre seus professores e seus graduandos, em suas diversas áreas; como uma nova visão para a guarda da memória e a divulgação de ações positivas em seus locais de trabalho. Tudo perpassa pela produção de materiais de baixo custo destinados à interatividade e à inclusão de pessoas portadoras de necessidades especiais de aprendizado. A alternativa para isso foi ministrar cursos básicos/teóricos de 20h/aula, com todo o conteúdo dos anteriores, porém sem as práticas de montagem de exposições. Outras dezenas desses cursos foram ministradas no decorrer dos anos.

Desde início de 2006, os autores se transferiram para o Instituto Adolfo Lutz. Com isso, trouxeram o *know how* e a tradição de suas práticas didáticas. Foi quando um curso de museologia, básico/teórico, de 20 horas, foi oferecido pelo MusIAL, durante a 9ª Semana de Museus, do Ibram, para público interessado, interno e externo. Foram oferecidas vinte vagas, com gratuidade de inscrição. Não se sabia, até então, que as atividades daquela semana

seriam veiculadas por diversas mídias e por um livro/catálogo com todas as atividades oferecidas em todo o Brasil. Surpreendentemente, já na primeira semana de inscrições, foram recebidos muitos pedidos a mais, inclusive de outros estados. Incluíram-se mais quinze vagas. Devido à ausência de local maior para abrigar além desse número, foi feita uma lista de pessoas interessadas excedentes.

Como os autores trabalham diretamente com Museografia Inclusiva (destinada a todas as tipologias de pessoas portadoras de necessidades especiais), deve-se fazer constar que, nesse primeiro curso, tivemos um acadêmico da Faculdade de Pedagogia da USP, portador de deficiência visual. Isso não só abrilhantou todo o desenvolvimento da teoria que era tratada, como desenvolveu, nos outros alunos, a real abertura para a percepção das necessidades do “outro”, na vida cotidiana, seja na família, no trabalho, na escola ou no museu. Por outro lado, todos: alunos e professores, aprenderam de maneira prática o que aquele colega tinha de excepcional em seus outros sentidos e percepções, inclusive com apetrechos de informática e novas tecnologias assistivas para cegos.

O sucesso desse curso obrigou os professores a agendar um segundo curso de museologia do IAL, que foi oferecido, de 4 a 8 de julho, a 23 alunos.

Diante da demanda e de acordo com o público-alvo (professores da rede pública e particular, trabalhadores de museus, profissionais da área da Educação, na lida com educação não formal), ficou estabelecido que, a partir de 2012, o curso será oferecido na primeira semana de janeiro e de julho de cada ano, por serem meses de férias escolares. Dessa forma, os profissionais poderão frequentá-lo sem perda de dias de trabalho.

Vale um comentário: no segundo curso, três alunos eram policiais militares, que dão seus plantões no Museu da Polícia Militar de São Paulo. Atendendo ao convite dos mesmos e de seus comandantes, os autores fizeram uma visita oficial àquele museu. Ali,

ficaram sabendo da atuação daquele órgão, no final do século XIX, com a fundação da Polícia Marítima e Aérea de São Paulo, em 1892, com a finalidade de vistoriar e policiar navios e aeronaves que chegavam a São Paulo e ao Porto de Santos. Era esse pessoal da Polícia Marítima que subia nos navios, coletava material biológico para exames de saúde e alimentos naturais e processados para análises sanitárias. Isso causou imediato interesse nos autores, uma vez

que o Instituto Bacteriológico (atual, Adolfo Lutz) iniciou suas atividades no mesmo ano; tendo, assim, sua história ligada àquela ala policial do estado de São Paulo. No mesmo dia foi feito um acordo de intenções bilaterais para se trabalhar, em parceria, entre o MPM (Museu da Polícia Militar) e o MusIAL (Museu do Instituto Adolfo Lutz). Certamente, as duas facetas se complementarão e escreverão um novo capítulo da história da saúde do Brasil.

5ª Primavera dos Museus – Mulheres – Museus – Memória

Silvana Campos da Rocha CALIXTO, Pedro Antonio FEDERSONI JR.

*MusIAL – Museu do Instituto Adolfo Lutz
Núcleo de Acervo – Centro de Planejamento e Informação,
Instituto Adolfo Lutz*

O IBRAM (Instituto Brasileiro de Museus), vinculado ao Ministério da Cultura, promove eventos em todo o Brasil, com o intuito de levar às comunidades novos rumos, novos pensares e novas possibilidades de interação. Em 2011, propôs às comunidades de todo o nosso território o evento: “5ª Primavera dos Museus”, com o tema “Mulheres, museus e memórias”.

O MusIAL (Museu do Instituto Adolfo Lutz) realizou atividades específicas de sua área de atuação, como museu de área científica de saúde pública, na semana de 19 a 23 de setembro de 2011. Promoveu um encontro para todos os interessados internos e externos ao Instituto, intitulado “A presença feminina na pesquisa da saúde pública brasileira – A história do Instituto Adolfo Lutz contada através de suas pesquisadoras”.

Foram atividades diárias que, no final, durante avaliação informal e de acordo com uma quantidade enorme de manifestações verbais presenciais, por telefone ou por *e-mail*, temos certeza de que atingiram os objetivos básicos e os ultrapassou de maneira visivelmente satisfatória e até prazerosa, as expectativas.

Aquela semana consistiu de uma programação intensa no auditório Augusto D’Escagnole Tonay,

para horário de almoço (das 11h às 13h), com um *brunch* de confraternização, no final de cada grupo de eventos diários.

O comitê organizador do evento programou duas palestras em cada dia, proferidas por mulheres Pesquisadoras Científicas (PqC), que estão no topo da carreira e com tempo de serviço em sua área, superior a trinta anos.

A afluência ao evento foi maciça, contrariando as expectativas, uma vez que em outras ocasiões as atividades dessa tipologia (cultura, generalidades, assuntos museu-relacionados...) não foram tão concorridas por pesquisadores e assistentes da casa.

Com esse programa, fez-se a escolha de dez PqCs para proferir palestras e cada uma delas foi apresentada por outra pesquisadora de mesmo patamar de conhecimento. A cada uma delas (palestrantes e apresentadoras) foi solicitado que as palestras fossem gravadas em áudio e, em um futuro breve, fossem entrevistadas pelo o programa de História Oral da Saúde (HOS), promovido pelo MusIAL. Todas aceitaram; portanto, em princípio, teremos vinte depoimentos de HOS.

Como o evento focou a presença da mulher nos programas de museus e memória, a PqC Silvana Campos da Rocha Calixto, do MusIAL,

discorreu sobre o tema sugerido pelo IBRAM, com um título de palestra, que deveria, propositalmente, causar ambiguidade de interpretação: “As mulheres na vida do Dr. Adolpho Lutz”, significando, em primeiro lugar, as mulheres de sua vida particular (sua mãe, suas irmãs, a esposa e a filha) e em uma segunda avaliação, representando pesquisadoras, assistentes, técnicas, auxiliares que desempenharam sempre papel de vulto dentro da pesquisa no Instituto que leva seu nome. Essa palestra deu um ar de informalidade salutar para todos os discursos seguintes; uma vez que a maior parte dos funcionários não conhecia a história do ser humano Adolpho Lutz, com seus crescimentos pessoais, conquistas, vitórias, decepções e recomeços. Uma vida realmente marcante.

O início do encontro se deu com rápidas palavras dos coordenadores da mesa de abertura; os PqCs: Luiza Terezinha Madia de Souza, representando a Diretoria Geral; Regina Gomes de Almeida, diretora do Centro de Planejamento e Informação e Pedro Antonio Federsoni Júnior, coordenador do evento.

Cada PqC apresentadora fez um breve relato sobre o seu relacionamento particular com a palestrante e enumerou itens básicos de seu currículo.

As palestras, duas a cada dia tiveram a seguinte ordem:

Dia 19

11h – Silvana Campos da Rocha Calixto – Apresentada por Pedro Antonio Federsoni Júnior

12h – Myrna Sabino – Apresentada por Adriana Palma de Almeida

Dia 20

11h – Júlia Maria Martins de Souza Felipe – Apresentada por Luz Marina Trujillo

12h – Mirthes Ueda – Apresentada por Adele Caterino Araújo

Dia 21

11h – Domingas Maria A. G. V. Torres – Apresentada por Helena Hilomi Taniguchi

12h – Dilma Scala Gelli – Apresentada por Deise Aparecida Pinatti Marsiglia

Dia 22

11h – Regina Gomes de Almeida apresentou as atividades atuais dos Laboratórios Regionais

12h – Mariza Menezes Romão – Apresentada por Regina Gomes de Almeida

Dia 23

11h – Sônia Maria Miranda Pereira – Apresentada por Raimunda Telma de Macedo

12h – Luiza Terezinha Madia de Souza – Apresentada por Maria do Carmo Sampaio Timenetsky

Ao final, o diretor geral, Prof. Dr. Alberto José da Silva Duarte, teceu comentários a respeito da importância do evento, projetando o nome do Instituto e de seus colaboradores e colaboradoras, em todos os níveis de atuação, pelo Brasil, a partir dos certames promovidos pelo IBRAM.

Faz-se obrigatório o agradecimento formal a todos funcionários e convidados externos, pelo apoio dado a esse desafio abraçado pelo MusIAL. Os comentários posteriores a essa atividade comprovaram que esse tipo de iniciativa deve ser repetido tantas vezes quantas forem possíveis para que os vínculos profissionais sejam pontos de apoio para a coesão entre os servidores do Instituto.

Vital Brazil Mineiro da Campanha – Uma carreira de lutas, conquistas e méritos em defesa contra o ophidismo

Pedro Antonio FEDERSONI JR., Silvana Campos da Rocha CALIXTO

MusIAL – Museu do Instituto Adolfo Lutz – Núcleo de Acervo
Museu – Centro de Planejamento e Informação, Instituto
Adolfo Lutz

O MusIAL (Museu do Instituto Adolfo Lutz), pertencente ao Núcleo de Acervo, tem, sob sua guarda, uma quantidade considerável de documentos escritos, fotografados e filmados. Entre eles, relatórios anuais, livros de registro de exames executados em seus laboratórios, livros agendas de laboratório, livros de técnicas laboratoriais, livros de visitas.

Entre eles, agendas diárias com registros do doutor Adolpho Lutz e seus “Ajudantes Médicos” (como eram intitulados na época). Um desses ilustres personagens, o doutor Vital Brazil Mineiro da Campanha, que ingressou no Instituto Bacteriológico, no dia 1º de junho de 1897, conforme figura anexa.

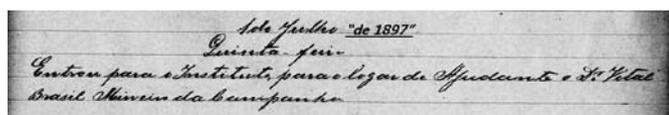


Figura 1. Caligrafia do doutor Adolpho Lutz – 1º de julho (de 1897) (quinta-feira). Entrou para o Instituto para o lugar de ajudante do doutor Vital Brazil Mineiro da Campanha

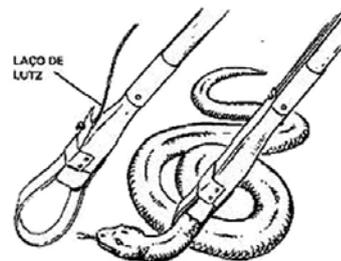
Tendo os autores amizade estreita com os descendentes do doutor Vital Brazil, devido à convivência nos 33 anos em que estiveram no exercício de funções no Instituto Butantan, criado por aquele vulto da ciência e por ter estreitado ainda mais esses laços, quando da organização

e inauguração da Casa de Vital Brazil, em Campanha, Minas Gerais, em 1988; foi feito um convite, pelo atual presidente daquela Casa (senhor Érico Vital Brazil), para que fosse escrito um capítulo, que constaria de um livro comemorativo do centenário de publicação do livro “A defesa contra o ophidismo”, escrito por Dr. Vital Brazil, em 1911. Essa obra mudou o rumo das pesquisas sobre venenos e envenenamentos por serpentes peçonhentas, tanto no Brasil, como no mundo.

Ao se passarem cem anos de sua entrega ao público; então, por iniciativa da Casa de Vital Brazil (Campanha, MG), Instituto Vital Brazil (Niterói, RJ), do Instituto Butantan (São Paulo, SP) e patrocinadores, seria editado o livro: “A defesa contra o ophidismo – cem anos depois”.

O MusIAL foi convidado a participar dessa edição histórica, mostrando excertos daquela agenda, que indicam o caminho seguido por Vital Brazil e Adolpho Lutz, no percurso de suas incansáveis pesquisas laboratoriais. O capítulo, páginas 73 a 85, teve como título: “Vital Brazil Mineiro da Campanha: uma carreira de lutas, de conquistas e de méritos em defesa contra o Ophidismo”. O lançamento do livro se deu, primeiramente, no Instituto Vital Brazil, em Niterói, em 28 de abril, e no Instituto Butantan, em São Paulo, em 4 de julho de 2011; com sessões de autógrafos pelos autores dos capítulos.

Nessa pesquisa de documentos originais, ficou patente a perseverança de um e o apoio dado pelo outro. Vital Brazil, incansável, dedicando-se inteiramente às pesquisas do Instituto Bacteriológico, desempenhando papel de químico, bioquímico, médico, legista; ora mergulhado em sua bancada, melhorando técnicas para corar tecidos e micróbios; ora em necrotérios, fazendo necropsias em suspeitos de morrerem por febre amarela, tifo entre outras enfermidades da época; ora examinando águas para possível uso humano. Em cada momento, porém, distante do atropelo do cotidiano, que havia um período livre, voltava-se para suas serpentes peçonhentas.



Tudo isso, em meio a um torvelinho de inovações, em culturas, coloração de tecidos e de seres microscópicos, necropsias em animais, acompanhamentos de experimentos *in vivo*. Naquela época, no Instituto Bacteriológico, não havia domingo, feriado, festa nacional ou religiosa; os livros eram preenchidos todos os dias com descrições de atividades as mais diversas.

Percebe-se que, no decorrer das descrições de pesquisas orientadas, havia inúmeras outras aleatórias, investigando parasitismo e infecções em animais (nem sempre animais comuns de laboratório; mas aves, como sabiás, canários do Brasil = canários da terra, tatus, gambás, burros...). Nota-se que Dr. Lutz sempre aproveitava até o último instante e ia até as últimas buscas, respeitando o animal estudado, mesmo depois de morto; procurando por parasitas e manifestações patológicas em seus órgãos internos, que pudessem levar os pesquisadores a desvendar os mistérios das enfermidades.

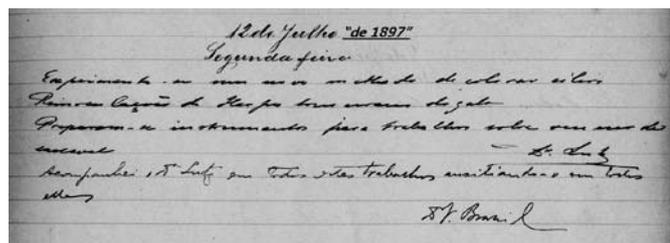


Figura 2. 12 de julho (de 1897) (segunda-feira). “Experimenta-se um novo methodo de colorar cilios. Reinoculação de herpes tonsurans do gato. Preparam-se instrumentos para trabalhos sobre veneno de cascavel – Dr. Lutz – Acompanhei o Dr. Lutz em todos esses trabalhos, auxiliando-o em todos eles.” Dr. V. Brazil

Foi tanto o empenho em salvar vidas de pessoas picadas por ofídios, que isso lhe deu como prêmio a simpatia de seu diretor Adolpho Lutz, o qual permitiu que se fizessem tais pesquisas ofídicas em local isolado, mas próximo das instalações do Instituto Bacteriológico. Lutz foi o grande incentivador de Vital Brazil, com quem discutia técnicas, meios seguros de captura dos animais na natureza, métodos de coleta e guarda das peçonhas conseguidas nas extrações cada vez mais frequentes.

Criou-se, assim, o que é conhecido desde sempre como “Laço de Lutz”, que é um “pegador seguro” de serpentes, idealizado por quem lhe deu o nome.

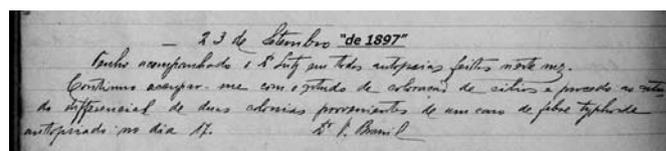


Figura 3. 23 de setembro (de 1897). “Tenho acompanhado o Dr. Lutz em todas as autopsias feitas neste mez. Continuo occupar-me com o estudo de coloração de cilios e procedo ao estudo differencial de duas colônias provenientes de um caso de febre typhoide autopsiado no dia 17.” Dr. V. Brazil

Em alguns pontos das descrições manuscritas, fica impossível digitalizá-la para publicação; motivo pelo qual apresentamos em transcrição:

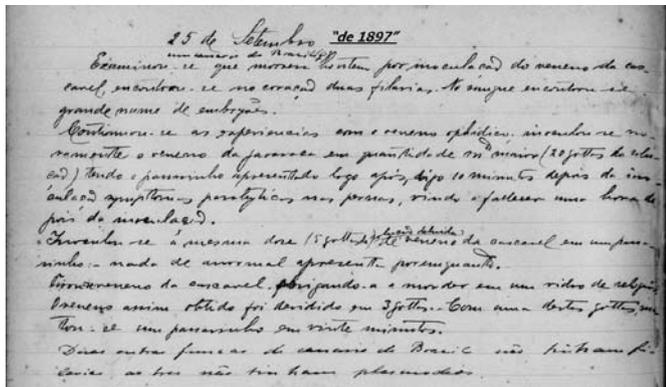


Figura 4. 25 de setembro (de 1897). “Examinou-se – um canário do Brazil (fêmea) – que morreu hontem por inoculação do veneno de cascavel, encontrou-se no coração duas filarias. No sangue encontrou-se grande nume de embryões. Continuou-se as experiências com o veneno ophidico; inoculou-se novamente o veneno de jararaca em quantidade mto maior (20 gottas da solução) tendo o passarinho apresentado logo após, digo 10 minutos depois da inoculação simptoms paralyticos nas pernas, vindo a falecer uma hora depois da inoculação. Inoculou-se a mesma dose (5 gottas da solução diluída) de veneno de cascavel em um passarinho: - nada de anormal apresenta por enquanto. Tirou-se, veneno da cascavel obrigando-a a morder em um vidro de relógio. O veneno assim obtido foi dividido em três gottas. Com uma destas gotas, matou-se um passarinho em vinte minutos. Duas outras fêmeas de canário do Brazil não tinham filarias, as três não tinham plasmódios.”

Outubro de 1899 – Transcrição de Partes de um relato do Dr. Adolpho Lutz, durante a Peste Bubônica em Santos.

“... Estive em Santos com o Dr. Ribas o dia 15 e 16 e outra vez de 17 de tarde para 19 de manhã. Observei três doentes de peste bubônica fazendo nos 2 punções de bubões para fins de cultura, trabalhando com o Dr. Vital. Tirou-se também sangue para inoculação. No dia 17 o Dr. Vital fez uma autopsia e outra no dia 18 em dous doentes fallecidos d’esta moléstia um mineiro e outro preto sergipano.

A punção de um bubão forneceu uma cultura que injetada no rato branco (coxa) em pequena quantidade produziu a morte em menos de 28 horas com muitos bacillos no baço e no lugar da inoculação. Um rato apanhado doente mostrava grande numero de bacillos mais ou menos typicos, no baço e no sangue. As culturas derão bactérias em forma de cadeias.

Depois d’estes, vi mais alguns casos clássicos dos quaes um que mais tarde falleceu, forneceu ao

Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz (que chegou do Rio mandado pelo Governo Federal) material para culturas e innoculações. As preparações feitas com thiamina phenicada ficarão bem nítidas.

O Ajudante Dr. Vital Brazil teve uma infecção modificada por injeções de serum feitas em parte já durante a incubação. Soffri pessoalmente duas injeções uma de 18, outra de 5 grammas seguidas ambas erythema e oedema bastante forte.”

Além de ter sido um prêmio poder escrever esse pequeno testemunho da vida dos dois cientistas, foi um orgulho poder mostrar ao público que, em uma época em que pouco se tinha de tecnologia, de conhecimentos distribuídos por mídias eletrônicas, se fazia muito; talvez mais que hoje nos campos das ciências naturais, médicas e humanas.

Deixamos no final do capítulo, por nós escrito, o seguinte comentário que endossamos agora:

Em 1911, Vital Brazil publicou um livro de advertências e ensinamentos sobre o ofidismo. Seu nome se transformou em exemplo obrigatório, quando se discursa sobre perseverança. O livro intitulado “Defesa contra o ophidismo”, traduzido para o francês, foi e é um marco na história da medicina brasileira.

Ao completar seu centenário, esse livro, para nós, autores deste capítulo, significa muito mais que um roteiro percorrido entre palavras, conceitos ou diretrizes médicas. Nós que temos a oportunidade de consultar originais que demonstram aquela luta sem tréguas... Nós nos sentimos motivados a continuar nossa humilde ajuda histórica... Nós que vemos caligrafias, por vezes serenas e desprovidas de maiores percalços; mas, por outras, caligrafias vigorosas, crivadas de preocupações de vida ou morte, caligrafias não tão “cali” (= bela); mas nervosas, que se vingam diante da morte, que não pôde ser evitada... Nós temos em mãos vibrações históricas que jamais se apagarão.

Deixamos, aqui, como testemunho a nossa admiração multiplicada inúmeras vezes por esses vultos que salvaram nossos antepassados, para que os pudéssemos louvar hoje.

“A defesa contra o ofidismo” foi o “grito escrito” de um homem de valor, que soube louvar a vida; a sua própria e a de seus irmãos “brazileiros” e do mundo.

REFERÊNCIA

1. A defesa contra o Ophidismo – Edição comemorativa – 100 anos – Vital Brazil

Superdosagem de solução oftálmica de nitrato de prata 1% em produto manipulado

Helena Miyoco YANO, Luz Marina TRUJILLO, Fernanda Fernandes FARIAS, Marcelo Beiriz DEL BIANCO, Rita Cristina Agostinho GUARDIÁ, Mariangela Tirico AURICCHIO

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

A solução oftálmica de nitrato de prata é um medicamento anti-infeccioso de uso obrigatório nas primeiras horas de vida em neonatal, como profilaxia da conjuntivite neonatal gonocócica¹. A infecção é usualmente adquirida durante o parto, quando a mãe é portadora de algum dos agentes etiológicos. Devido a dificuldades em detectar se a mãe é portadora ou não, procede-se à aplicação do colírio de solução de nitrato de prata em todos os recém-nascidos antes de completarem uma hora de vida². Essa técnica é regulamentada no Brasil pelo Decreto nº 9.713, de 19/04/1997, e alterado pelo Decreto nº 19941 (1982)¹.

Caso a profilaxia no recém-nascido não aconteça, é possível identificar a infecção nas primeiras 48 horas de vida, quando se manifestam sintomas como secreção ocular abundante. Recomenda-se a coleta de material para exames bacteriológicos e bacterioscópico, sendo que se inicia o tratamento mesmo antes do resultado definitivo dos referidos exames¹.

Outra conjuntivite bastante comum é quando ocorre uma irritação por aplicação de determinadas substâncias na superfície ocular¹. Nesse contexto, é necessário certificar a qualidade do colírio de nitrato de prata empregado; uma vez que em concentrações

altas, essa substância pode ser corrosiva em contato com os olhos, podendo acarretar visão embaçada, vermelhidão, dor e queimadura severas dos tecidos com danos aos olhos¹. Através de um caso de suspeita na concentração de nitrato de prata em solução de uso oftálmico para fins hospitalares, o Núcleo de Ensaios Físico e Químico em Medicamentos do Instituto Adolfo Lutz, no ano de 2008, recebeu amostras de colírio de nitrato de prata a 1% para determinação do teor, de tal forma que este trabalho visou avaliar a qualidade dessa solução oftálmica manipulada. Para determinar o teor, preparou-se uma de tiocianato de amônio 0,02 M para quantificar o nitrato de prata na solução-amostra, realizando-se a titulação. Repetiu a análise seis vezes. Em seguida, determinou-se o pH da solução-amostra e realizou-se os testes de identificação de íon prata através da reação de precipitação. Tratou-se a solução-amostra com ácido clorídrico para verificar a formação de precipitado branco, que deve ser insolúvel em solução de ácido nítrico e facilmente solúvel em solução de hidróxido de amônio 6M. Tratou-se a solução-amostra também com hidróxido de amônio 6M e pequena quantidade de formaldeído. Por aquecimento, verificou depositar a formação de espelho de prata metálica na superfície do recipiente, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira,

4ª ed. 1988³. O resultado do ensaio de pH estava de acordo com a literatura farmacopeica na faixa entre 4,5 a 6,0; bem como o ensaio de identificação do íon prata³. O teor obtido de nitrato de prata do colírio manipulado correspondeu a trinta vezes acima do declarado na rotulagem do produto, ou seja, solução a 30g% em nitrato de prata. A titulação com tiocianato de amônio é um método volumétrico de precipitação que objetiva dosar substâncias precipitáveis pelo íon tiocianato, utilizando como agente titulante a solução-padrão de tiocianato de amônio. A reação estequiométrica que ocorre é: $\text{Ag}^+ + \text{SCN}^- \rightarrow \text{AgSCN}\downarrow$; como demonstra, ocorre precipitação do tiocianato de amônio⁴. Conforme resultado obtido do teor na amostra, a quantidade de nitrato de prata acima do uso convencional pode causar queimaduras em qualquer área de contato, podendo ser fatal se engolido e danoso se inalado, pode levar também a uma conjuntivite química, trazendo danos muitas vezes irreversíveis ao paciente; principalmente, tratando-se de indivíduos suscetíveis como os recém-nascidos². É necessário que se estabeleça uma garantia da qualidade dos medicamentos manipulados, uma vez que essa vem sendo criticada por diversos setores como clínicas médicas, hospitais e o próprio consumidor, o qual no final de todo processo será o mais afetado. Muitas vezes, tal fato decorre da impossibilidade das farmácias de manipulação em realizarem um controle de qualidade durante o processo, assim como a análise do produto final, fazendo com que se tornem crescentes os relatos de casos de óbitos por uso desses medicamentos⁵.

As farmácias de manipulação devem seguir as recomendações previstas na RDC 67/07 da Anvisa e as Boas Práticas de Manipulação em Farmácia.

Um grande obstáculo é garantir que incorporem um rígido controle de qualidade tanto em matérias-primas quanto em produtos acabados⁵. É imprescindível uma conscientização maior dos estabelecimentos de farmácias de manipulação em implantar as normas da garantia da qualidade em conjunto com ações da vigilância sanitária para garantir segurança, eficácia e qualidade dos medicamentos manipulados.

Este trabalho apresenta um caso de medicamento manipulado de solução oftálmica de nitrato de prata, de uso frequente em hospitais para recém-nascidos. Esse medicamento apresentou desvio da qualidade, podendo ocasionar graves sequelas ao paciente. Dessa forma, conclui-se que há uma necessidade de um controle maior nas farmácias de manipulação e suas boas práticas.

REFERÊNCIAS

1. Borowsky C, Bellini LP. Atualização no diagnóstico e tratamento das conjuntivites. Rev. AMRIGS. 2007; 3(51):222-225.
2. Netto AA, Goedert ME. Avaliação da aplicabilidade e do custo da profilaxia da oftalmia neonatal em maternidades de grande Florianópolis. Rev. Bras. Oftalmol. 2009; 68(5):264-270.
3. Brasil. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 4ª ed. São Paulo: Ateneu, 1988.
4. Korolkovas A. Análise Farmacêutica. Rio de Janeiro: Guanabara Dois S.a., 1984.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF; 2007. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/67_081007rdc.htm

Levantamento de rótulos e algumas análises de identificação de produtos manipulados e coletados pela Vigilância Sanitária e Polícia no período de junho de 2004 a março de 2010, analisados pelo Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes do Instituto Adolfo Lutz Central

Helena Miyoco YANO

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

O medicamento manipulado é específico e personalizado para cada usuário e é fundamental que sua elaboração seja com qualidade e segurança¹. A sua manipulação, na forma mais simples, é a fabricação artesanal de uma formulação para atender às necessidades de tratamento ou ao diagnóstico de determinado paciente². A falta de padronização das técnicas e dos produtos utilizados para a obtenção do medicamento é um dos principais problemas que atualmente afeta o setor magistral¹ e que desvios da qualidade de medicamentos manipulados podem provocar consequências irreparáveis na saúde do paciente.

O medicamento é um dos componentes fundamentais da atenção à saúde da população e sua utilização racional contribui para a qualidade de saúde dos pacientes. No entanto, o uso inadequado ou indevido do medicamento pode causar maiores malefícios do que benefícios à saúde dos indivíduos e para a sociedade³.

O Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes do Instituto Adolfo Lutz recebeu amostras de produtos manipulados de fármacos de origem sintética no período de junho de 2004 a março de

2010 para análise de rotulagem e identidade, de acordo com a denúncia acompanhada com a amostra. Este estudo objetiva analisar amostras de produtos de farmácia de manipulação (medicamentos manipulados ou matérias-primas) contendo como ingrediente ativo fármacos de origem sintética, bem como análises de identificação de compostos declarados nos rótulos de produtos farmacêuticos coletados em farmácias magistrais.

Os resultados obtidos no período de 2004 a 2010 das amostras em desacordo com os dizeres da rotulagem estão apresentados da figura 1.

As principais causas em que a rotulagem foi condenada foram devido a não constarem: CNPJ do estabelecimento, nome do prescritor ou do paciente, componentes da formulação sem as respectivas quantidades e posologia, que são itens necessários segundo preconizado pela RDC nº 67/2007⁴. Quanto à análise de identificação de compostos declarados nos rótulos de produtos farmacêuticos, foram realizados de acordo com a solicitação da Vigilância Sanitária. Seguem alguns casos analisados:

- Recebemos dois medicamentos manipulados, uma solução de Fyat K (formulação contendo 6%

de iodo) e de cromoglicato de sódio 2% (solução nasal), em que o paciente lactente fazia uso concomitante de ambos os medicamentos. Após análise laboratorial de identificação de iodo e cromoglicato de sódio⁵, verificou-se que os rótulos dos medicamentos estavam trocados, constando-se um grave erro de desvio da qualidade por parte do produtor do medicamento. O iodo é uma substância irritante e capaz de provocar queimaduras em contato prolongado com a pele.

- Recebemos da autoridade sanitária, que estava em visita de rotina em farmácia de manipulação, dezesseis amostras de matérias-primas farmacêuticas que declaravam conter: biotina, vitamina B6, vitamina B1, cinarizina, óxido de zinco, N-acetilhidroxiprolina, GABA, isossorbida, simeticona, ciproheptadina, ácido nicotínico, vitamina C, carisoprodol, metoclopramida, loratadina e tibolona e uma identificação em que esses produtos corresponderiam, respectivamente, às substâncias: bromazepam, diazepam, anfepramona, mazindol, nortriptilina, sulpirida, amitriptilina, clodiazepóxido, sertralina, buspirona, femproporex, fluoxetina, imipramina, sulpirida, paroxetina e oxandrolona, todas correspondendo a fármacos controlados pela Portaria 344/98. Após análise laboratorial utilizando técnicas de cromatografia em camada delgada e espectrofotometria⁵, verificou-se que as amostras não correspondiam ao que estava declarado no rótulo e sim à identificação correspondente. Podemos afirmar que ingredientes ativos diferentes daqueles declarados nos rótulos de produtos caracterizam-se como uma *fraude*⁶.

Os resultados não satisfatórios das avaliações de rótulos de produtos manipulados e os casos relatados anteriormente são muito preocupantes e uma investigação continuada por parte da Vigilância Sanitária em conjunto com laboratórios oficiais em produtos farmacêuticos são imprescindíveis para atuar de modo a garantir a qualidade e a segurança desses produtos distribuídos e comercializados, visando a eliminar, diminuir ou prevenir os riscos sanitários como incapacidades e doenças³.

REFERÊNCIAS

1. Okuyama SSK, Moro CMC. Proposta de Padronização para o Preparo de Medicamentos na Farmácia Magistral: Formas Farmacêuticas Semissólidas e Líquidas. Disponível em: <http://www.sbis.org.br/cbis11/arquivos/718.pdf>.
2. Nordemberg T, Pharmacy Coumpounding: Customizing Prescription Drugs. FDA Consumer. 2000; 34(4):11-12.
3. Ministério da Saúde – MS. Incentivo à Assistência Farmacêutica Básica: o que é e como funciona. Acesso em: 17 de junho de 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/incentivo_assit_farm.pdf].
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/67_081007rdc.htm. Acesso em: 12 de agosto de 2008.
5. Moffat AC, Editor. Clarke's isolation and identification of drugs. 2nd ed. London: The Pharmaceutical Press; 1986; 1223 p.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Silva GHT, Fagundes MJD. O que devemos saber sobre MEDICAMENTOS, 2010. Disponível em: <http://www.sbrafh.org.br/documentos/Carilha%20ANVISA.pdf>.

Solução de hipoclorito de sódio na higienização de vegetais comestíveis

Vanessa Aparecida NAKATSU¹, Tereza Marilene BRONHARO², Aparecida de Fátima MICHELIN²

¹Universidade Paulista – Unip – Instituto de Ciências da Saúde – ICS – Campus Araçatuba/SP

²Centro de Laboratório Regional de Araçatuba/SP, Instituto Adolfo Lutz

A higiene está diretamente relacionada à limpeza, seja no sentido pessoal, seja no ambiental e constitui em hábito que previne o indivíduo de certas doenças. Tal procedimento pode envolver apenas a remoção da sujidade, como também uma desinfecção ou esterilização.

Nesse contexto, a higienização alimentar é o processo responsável pela remoção dos micro-organismos presentes nos alimentos, minimizando a contaminação e a liberação de toxinas microbianas que podem ser um fator de risco para possíveis doenças de origem alimentar. Dessa forma, a higienização objetiva tornar os alimentos seguros para o consumidor, mantendo suas boas qualidades, sem alterar sua composição⁵.

Entre os alimentos que necessitam de higienização estão os vegetais comestíveis, como frutas, verduras e legumes; que são colhidos diretamente do solo, proporcionando uma grande carga de contaminação de micro-organismos como bactérias, protozoários e helmintos⁶.

Além do solo, outros fatores estão envolvidos na contaminação microbiana desses alimentos de origem vegetal como a qualidade das águas empregadas na irrigação, as condições de acondicionamento, armazenamento, de transporte e manipulação dos mesmos durante a coleta e a distribuição².

Sendo assim, torna-se necessário o cuidado com uma lavagem adequada e a sanitização de frutas, legumes e verduras antes do consumo para a redução da carga microbiana³.

Uma das formas mais utilizadas para a redução de micro-organismos é através do uso da solução de compostos clorados de origem inorgânica como o hipoclorito de sódio⁷. A ação germicida desse produto está voltada para a membrana celular dos micro-organismos, interferindo no transporte de nutrientes e promovendo a perda de compostos celulares¹.

O hipoclorito de sódio, como agente sanitizante de frutas, verduras e legumes, é empregado em concentrações entre 100 e 250 partes por milhão (ppm)⁴. Nessas concentrações, apresenta-se com ampla taxa microbicida, ação rápida, baixa toxicidade, baixo custo e várias formas de estocagem⁵.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o teor de hipoclorito de sódio em soluções destinadas à sanitização de vegetais comestíveis como frutas, verduras e legumes.

Foram avaliadas três amostras de marcas diferentes de produtos à base de hipoclorito de sódio destinados à sanitização de vegetais comestíveis como frutas, verduras e legumes. Essas amostras foram nomeadas de A, B e C para garantir o sigilo das marcas. Os referidos produtos foram adquiridos em

estabelecimentos comerciais do comércio varejista de uma microrregião do noroeste paulista. A limitação do número de amostra se deu pelo esgotamento das marcas comercializadas na área de abrangência do estudo. Os valores do teor do cloro ativo (%) contido nos produtos foram analisados, em duplicata, por volumetria de oxirredução através da iodometria. A iodometria é um método indireto de titulação, que consiste na dosagem de espécies oxidante pela adição de um excesso de iodeto (I^-), que é oxidado a iodo e, posteriormente, titulado com uma solução padrão de tiosulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$).

Os valores de hipoclorito de sódio (%), designados de esperados, são iguais àqueles constantes nos rótulos dos produtos, conforme declarados pelo fabricante.

Todas as análises foram realizadas no mês de setembro de 2011, dentro do prazo de validade estabelecido pelo fabricante, que é de seis meses.

A partir das análises realizadas nos três produtos, destinados à sanitização de frutas, verduras e legumes, à base de hipoclorito de sódio, de diferentes marcas, os quais foram adquiridos em estabelecimentos comerciais do comércio varejista de uma microrregião do noroeste paulista, verificou-se que os valores, em percentagem, para o produto A foi acima do esperado; para o B abaixo e para o C o valor estava de acordo com a especificação do rótulo (tabela 1).

Os resultados obtidos indicaram que a maioria das marcas de solução de hipoclorito de sódio empregada para a higienização de frutas, verduras e legumes estava de acordo com os

valores declarados pelos fabricantes. Contudo, o monitoramento desses produtos se faz necessário, já que esse princípio ativo é altamente instável e pode atingir cifras não satisfatórias, mesmo ainda dentro do prazo de validade.

Conclui-se que a sanitização de frutas, verduras e legumes pode ser comprometida pela qualidade do produto, à base de hipoclorito de sódio, utilizado já que pode ocorrer divergência entre o valor divulgado e aquele presente no produto.

REFERÊNCIAS

1. ANTONIOLLI, Lucimara Rogéria; BENEDETTI, Benedito Carlos; SOUZA FILHO, Men de Sá Moreira et al. Efeito do hipoclorito de sódio Sobre a microbiota de abacaxi pérola minimamente processado. *Rev. Bra. Frutic. Jaboticabal- SP*, abril 2005; vol. 27, n. 1, p. 157.
2. CANTOS, G. A; SOARES, B. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Rev. Bras. Epidemiol* 2005; vol. 8, n. 4, p.377,.
3. CARDONHA, A. M. S; FILGUEIRA, L. P; ROLIM, P. M. Influência da solução clorada no controle higiênico-sanitário de saladas cruas, produzidas em Unidade de Alimentação e Nutrição Hospitalar. *Rev. Higiene Alimentar*, novembro/dezembro, 2008; vol.22. n. 166/167, p. 150,.
4. FIGUEIREDO, R. M. Manual de Procedimentos e Desenvolvimento: Coleção higiene dos alimentos. São Paulo: Manole, 1999.
5. HOBBS, B. C; ROBERTS, D. Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de Alimentos. São Paulo: Varela, 1998.
6. NASCIMENTO; M. da S. do; SILVA, N. da; CATANOZZI, M. da P. L. M. Emprego de sanitizantes na desinfecção de vegetais. *Rev. Higiene Alimentar*, setembro 2003; vol.17, n. 112, p.42.
7. PELCZARJR, M. J; CHAN, E. C. S; KRIEG, N. R. Microbiologia: conceitos e aplicações. São Paulo: Makron Books, 1996.

Tabela 1. Valores (%) de cloro ativo em produtos destinados à higienização de vegetais comestíveis (n = 3) adquiridos no comércio varejista de uma microrregião do noroeste paulista, 2011

Produtos	Teor de cloro ativo (%) esperado	Teor de cloro ativo (%) obtido
A	0,96	1,2
B	2,5	2,0
C	2,0 a 2,5	2,2

Nocardia spp.: provável agente etiológico para pacientes com sintomas de doença infecciosa

Paulo da SILVA, Marta Inês Cazentini MEDEIROS,
Jaqueline Otero SILVA, Ana Maria Machado CARNEIRO,
Daisy Nakamura SATO

Núcleo de Ciências Biomédicas – Laboratório de Bacteriologia,
Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto (CLR VI),
Instituto Adolfo Lutz

O gênero *Nocardia* compreende várias espécies, reconhecidas, causadoras de doença (nocardiose) em humanos e animais. Geralmente, a nocardiose é considerada uma infecção oportunista e, na maioria dos casos primários, apresenta-se como doença pulmonar, embora em casos de trauma podem ocorrer abscessos locais¹. A maioria dos pacientes com a doença, clinicamente reconhecida, tem fatores debilitantes subjacentes. A difusão a partir dos pulmões pode-se manifestar como bacteremia, empiema, abscesso cerebral, pericardite, sinovite, ou infecção nos tecidos moles. Úlceras da córnea e peritonite também já foram descritas. Tipicamente, nocardiose é caracterizada por uma resposta inflamatória aguda, terminando em necrose e formação de abscesso, granulomas não são normalmente formados². O diagnóstico clínico de nocardiose é difícil, em que sinais, sintomas e exames radiológicos podem sugerir, presumivelmente, a doença. Diagnóstico sorológico não é confiável e não está disponível comercialmente. A investigação adequada das amostras clínicas através de exames microscópicos e cultura continua sendo a principal forma de diagnóstico. A detecção do micro-organismo em esfregaços corados e o isolamento de *Nocardia* spp. em meios de cultura, geralmente,

não são difíceis³. *Nocardia* spp. são caracterizadas como bactérias gram-positivas, parcialmente álcool ácido-resistentes, estritamente aeróbias e formam filamentos ramificados que se fragmentam em forma de bastonetes pleomórficos ou elementos cocoides. Esses micro-organismos são de crescimento lento e seu isolamento em amostras clínicas requer um período de incubação prolongado, podendo-se estender por duas ou três semanas. As espécies desenvolvem-se, satisfatoriamente, na maioria dos meios não seletivos utilizados para o isolamento de bactérias e fungos⁴. Existem vários relatos na literatura de nocardiose em humanos⁵. A maioria dos casos é adquirida através da inalação. Um número menor de casos é devido à introdução traumática dos micro-organismos por via percutânea. Nocardiose parece não ser transmitida de pessoa para pessoa e, geralmente, não é adquirida nosocomialmente. No entanto, tem havido raros relatos de grupos de pacientes infectados com *Nocardia* spp., ocupando leitos próximos em enfermarias⁴. Este estudo revisou, retrospectivamente, possíveis diagnósticos de nocardiose no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2009 no Instituto Adolfo Lutz, Laboratório de Ribeirão Preto – SP. Foram investigados 197 isolados bacterianos provenientes de culturas de amostras clínicas, cuja caracterização

morfotintorial foi sugestiva de *Nocardia* spp. Todos os isolados foram semeados em ágar Mueller-Hinton com 5% de sangue de carneiro e incubados a 35-37 °C em condições aeróbias por 3 a 10 dias. Após esse período, as culturas foram submetidas a exames microscópicos, com a realização de esfregaços corados pelos métodos de Gram e Kinyoun⁶. Entre as amostras clínicas investigadas, 167 foram provenientes de pacientes com suspeita de tuberculose (escarro = 157, urina = 4, lavado brônquico alveolar = 3, biópsia pulmonar = 1, lavagem gástrica = 1, raspagem de córnea = 1), um de fibrose cística (escarro), um de abscesso cerebral (secreção), oito de abscesso cutâneo (secreção), dez de meningite (sangue = 4, líquido cefalorraquidiano = 4), um de pneumonia (escarro), sete de sepse (sangue) e dois de uretrite (corrimento uretral). A idade dos pacientes variou de um mês a 85 anos (média de 40,5 anos), sendo que 73,6% pertenciam ao sexo masculino e 26,4% ao sexo feminino. Todos os isolados suspeitos de *Nocardia* spp. apresentaram colônias com aspecto cotonoso, devido à formação de micélio aéreo, com tons de coloração variando de branco, coral, ou alaranjado. Na microscopia foram observados bacilos Gram-positivos ramificados e ácido-resistentes. A aparência da colônia, morfologia celular e álcool ácido resistência, podem variar de acordo com o tempo de crescimento da cultura, o tipo de amostra e as falhas nas técnicas de coloração. Nocardiose pode ser uma infecção localizada ou disseminada, que se manifesta com diferenças clínicas e microbiológicas. Este estudo avaliou o número provável de nocardiose durante um período de dez anos, no entanto, estudos adicionais são necessários. A importância de identificar *Nocardia* spp. tem sido exaltada por vários pesquisadores no

diagnóstico de nocardiose em seres humanos. Esse micro-organismo, geralmente, quando observado em uma amostra clínica, pode ser considerado como bactéria comensal e outras vezes, devido à resistência ao álcool ácido, o bacilo pode ser confundido com micobactérias, acarretando atraso ou falha no diagnóstico da infecção, levando a tratamento inapropriado. Este estudo enfatiza a importância da caracterização fenotípica como uma ferramenta para identificar *Nocardia* spp., bem como atenção quanto ao seu isolamento em cultura. Sem dúvida, uma identificação precisa quanto à espécie e testes de suscetibilidade dos isolados são extremamente importantes no diagnóstico e no tratamento dos pacientes.

REFERÊNCIAS

1. McNeil MM, Brown JM. The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. Clin. Microbiol. Rev. 1994;7:357-417.
2. Alfaresi M, Elkosh A. Rapid identification of clinically relevant *Nocardia* species using real-time PCR with SYBR Green and melting-curve analysis. J. Med. Microbiol. 2006; 55: 1711-5.
3. Lerner P. Nocardiosis. Clin. Infect. Dis. 1996;22:891-903.
4. Brown J M, McNeil MM. – *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Actinomyces*, *Streptomyces*, and other aerobic actinomycetes. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA & Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed., Washington, D. C. ASM Press, 2003. p.502-531.
5. Chedid MBF, Chedid MF, Porto NS, Severo CB & Severo LC. Nocardial infections: report of 22 cases. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo. 2007;49(4):239-46.
6. Ballows AJ, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual Clinical of microbiology. 5th ed. Washington, D. C. ASM Press, 1991. 1593 p.

Estudo comparativo entre o exame parasitológico positivo, as técnicas sorológicas e o teste imunocromatográfico rápido no diagnóstico da leishmaniose canina no município de Adamantina-SP

Wiverson Moura SILVA¹, Jamille Merino DEMISCKI¹,
Osias RANGEL², José Eduardo TOLEZANO³, Roberto
Mitsuyoshi HIRAMOTO³

¹Controle de Vetores – Município de Adamantina;

²Superintendência de Controle de Endemias (Sucen) – Regional
Campinas; ³Núcleo de Parasitoses Sistêmicas, Centro de
Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz

No estado de São Paulo, 54 municípios apresentam casos humanos e caninos autóctones de Leishmaniose Visceral Americana (LVA), em diversas regiões do estado, incluindo diversos municípios da Alta Paulista¹, onde se encontra o município de Adamantina (figura 1), cujo primeiro caso humano ocorreu em 2004, sendo até o momento detectados 78 casos da doença². Os inquéritos caninos têm sido realizados conforme preconizado³ e, no ano de 2010 após treinamento pelo Instituto Adolfo Lutz, o município iniciou a realização do exame parasitológico para auxiliar no diagnóstico em animais. Além disso, o município tem realizado o novo teste diagnóstico para leishmaniose TR-DPP (teste imunocromatográfico rápido), que futuramente será implantado no Programa de Controle da LVA, utilizando sangue total dos animais, fornecendo dados para que esse tipo de amostra seja utilizada no teste, pois até o momento tem se preconizado o uso com soro.

Este trabalho objetiva analisar os resultados do exame parasitológico realizado no município de Adamantina, comparando com as técnicas sorológicas

utilizadas no diagnóstico da leishmaniose canina e verificar a concordância utilizando TR-DPP.

Exame parasitológico: foram coletados aspirados de linfonodo, por médico veterinário. As lâminas foram coradas e a leitura realizada no município, sendo utilizado para o estudo o resultado de 43 lâminas positivas. Teste Rápido Imunocromatográfico (TR-DPP) (Bio-Manguinhos/Fiocruz); amostras de sangue foram coletadas e o teste realizado conforme descrito na bula. Ensaio Imunoenzimático (EIE) (Bio-Manguinhos/Fiocruz); amostras de soro foram enviadas para o Instituto Adolfo Lutz em São Paulo e os ensaios realizados conforme descrito na bula. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI): amostras de soro também foram enviadas para o Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, e os ensaios realizados conforme descrito na bula.

Analisando os testes sorológicos DPP, EIE e RIFI pelo teste exato Fisher, foi demonstrado que não existe diferença entre DPP e EIE ($p = 0.24$) para detecção das amostras positivas. Quando a comparação foi realizada utilizando EIE/IFI ou DPP/

IFI, demonstrou-se que as distribuições são diferentes. Na análise da associação EIE/IFI, demonstrou-se que a sensibilidade para detectar casos positivos foi de 51,2% IC (35,7 – 66,4); enquanto DPP/EIE, a sensibilidade para detectar casos foi de 81,1% IC (64,3 – 91,4). O DPP realizado com sangue demonstrou bons resultados no diagnóstico dos animais positivos. A associação DPP (sangue)/ELISA apresentou o melhor conjunto para detectar o maior número de animais positivos, embora haja necessidade de análise com maior número de amostras e inclusão de amostras negativas no exame parasitológico para comparação com as técnicas sorológicas. A realização do exame parasitológico no município tem agilizado o diagnóstico, confirmado casos positivos e apoiado os estudos para melhoria do diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina.

REFERÊNCIAS

1. McNeil MM, Brown JM. The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.* 1994;7:357-417.
2. Alfaresi M, Elkosh A. Rapid identification of clinically relevant *Nocardia* species using real-time PCR with SYBR Green and melting-curve analysis. *J. Med. Microbiol.* 2006; 55: 1711-5.
3. Lerner P. Nocardiosis. *Clin. Infect. Dis.* 1996;22:891-903.
4. Brown J M, McNeil MM. – *Nocardia, Rhodococcus, Gordonia, Actinomadura, Streptomyces*, and other aerobic actinomycetes *In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA & Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed., Washington, D. C. ASM Press, 2003. p.502-531.*
5. Chedid MBE, Chedid ME, Porto NS, Severo CB & Severo LC. Nocardial infections: report of 22 cases. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 2007;49(4):239-46.
6. Ballows AJ, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. *Manual Clinical of microbiology. 5th ed. Washington, D. C. ASM Press, 1991. 1593 p.*



Figura 1. Localização do município de Adamantina, estado de São Paulo

Aplicação da técnica de hibridização “in situ” para auxílio diagnóstico e prognóstico em amostras histológicas

Lidia Midori KIMURA, Suely NONOGAKI, Neuza Kasumi SHIRATA

Núcleo de Patologia Quantitativa, Centro de Patologia – Instituto Adolfo Lutz

A hibridização “in situ” (ISH) é uma técnica molecular que se baseia no pareamento e na ligação dos nucleotídeos de uma sonda específica complementar a uma sequência-alvo do DNA ou do RNA em amostras histológicas e citológicas. A sonda utilizada pode ser marcada por radioisótopos (mais sensíveis) ou substâncias não isotópicas como enzimas, fluoróforos, biotina ou digoxigenina (mais estáveis)^{1,2}.

O objetivo dessa técnica é determinar a presença ou a ausência de sequências específicas de DNA ou RNA nas amostras para identificar sítios cromossômicos, alguma particularidade celular do espécime estudado, a presença de vírus, parasitas e bactérias e visualizar as alterações morfológicas associadas às suas ações. A identificação da sequência dentro das células é estabelecida pelas propriedades fundamentais dos ácidos nucleicos, suas habilidades de anelamento com uma ou outra sequência específica para formação de híbridos, podendo ocorrer combinações entre DNA-DNA, DNA-RNA e RNA-RNA^{2,3}.

Antes de iniciar a reação da ISH propriamente dita, é necessária correta aquisição e preparo, a fixação e o processamento histológico adequado da amostra, que são fases pré-analíticas importantes para obtenção de resultados de qualidade, ou seja,

a garantia de boa preservação da sua morfologia e a eficiente hibridização da sonda^{1,2,3}.

A sensibilidade da ISH é considerada mais alta em amostras de tecidos congelados quando comparada com as fixadas e incluídas em parafina. A fixação deverá ser realizada de maneira a preservar de forma adequada os aspectos morfológicos das células e dos ácidos nucleicos. Podem ser utilizados blocos de parafina que foram arquivados há vários anos para estudos retrospectivos desde que os aspectos anteriormente mencionados tenham sido preservados^{1,2,3}.

A etapa inicial da ISH consiste na proteólise com o uso de enzimas como a pepsina e a proteinase K, seguida da desnaturação do ácido nucleico em temperaturas elevadas, que podem variar de 60 a 80°C. Em seguida, é realizada a hibridização com sondas de DNA ou RNA (em temperaturas que variam de 37° a 60°C). Após a hibridização, o anelamento das sondas é detectado por técnicas de autorradiografia ou reações de imuno-histoquímicas, conforme o tipo de marcador utilizado (fluoróforos, enzimas, biotina, digoxigenina)^{2,3,4}.

As sondas utilizadas para detecção de DNA ou RNA, idealmente com 50 a 300 pares de bases, devem considerar, principalmente, a especificidade, a eficiência e a facilidade de penetração no tecido.

As sondas utilizadas podem ser^{2,3,4}:

- DNA dupla fita: geradas por clonagem e amplificação de sequências específicas de DNA ou cDNA, derivados da transcriptase reversa do mRNA.
- RNA fita simples (riboprobos): geradas por transcrição do RNA a partir do DNA, utilizando a RNA polimerase. Os híbridos RNA-RNA são mais estáveis que os DNA-DNA e DNA-RNA.
- DNA fita simples: gerada através da PCR, são de alta especificidade e mais estáveis que as geradas por clonagem, não necessitam de desnaturação.
- Oligonucleotídeos sintéticos: são os mais acessíveis, possuem de 15-50 pares de bases geradas por um sintetizador automático. Por terem sequências curtas, os híbridos podem ser facilmente desligados em lavagens pós-hibridização, resultando falsos negativos.
- Oligoprobos podem ser gerados a partir de um molde de DNA ou a combinação de uma fita simples de oligonucleotídeos com um bacteriófago.

Para garantir a qualidade do procedimento, faz-se necessário o uso de controles positivo e negativo do procedimento e uma amostra positiva para a sequência em estudo. Para o controle negativo, pode-se utilizar uma sonda com uma sequência não específica e para o positivo, uma sonda que demonstre a integridade de algum componente celular na amostra estudada. Para o controle positivo da sequência em estudo, pode-se utilizar uma amostra conhecida que tenha apresentado positividade por alguma outra metodologia. A interpretação dos resultados deverá ser feita mediante a avaliação crítica do padrão de positividade associadas às alterações histológicas e às informações clínicas⁵.

Vários estudos têm aplicado essa metodologia para diagnóstico e prognóstico de neoplasias cervicais provocadas pelo papiloma vírus humano (HPV),

além de outros vírus DNA como citomegalovírus, herpes simplex vírus, Varicella zoster, Epstein-Barr vírus, adenovírus etc. Muitos desses vírus citados podem ser detectados pela reação em cadeia da polimerase (PCR), mas a ISH pode demonstrar a localização precisa nos tecidos estudados^{4,6}.

Concluimos que com os modernos refinamentos técnicos e a disponibilidade de várias sondas comerciais, a hibridização “in situ” torna-se uma prática rotineira, tanto na pesquisa como nos diagnósticos laboratoriais. É um método poderoso para a localização de DNA ou RNA em células ou micro-organismos, podendo contribuir na elucidação de vários diagnósticos, na compreensão dos processos patológicos e estudos epidemiológicos de muitas doenças.

REFERÊNCIAS

1. Segalés J, Ramos-Vara JA, Duran O C, Porter A, Domingo M. Diagnosing infectious disease using in situ hybridization. *Swine Health Prod.* 1999; 7(3):125-8.
2. Henriksen U, Müller S, Schonau A. Dual color CISH and FISH to CISH conversion. *In: Education Guide. Immunohistochemical (IHC) staining methods.* 5ª ed. Dako North America, Inc. Carpinteria, CA USA. 2009; p.97-101.
3. Silva MG, Almeida FCA, Antonio LFM, Libório TN, Acquafreda T, Casal C, Ferraz A, Nunes FD. Hibridização “in situ” com sonda não radioativa para mRNA: princípios e aplicações em patologia. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2006; 42(3):207-13.
4. Gulley ML, Glaser SL, Craig FE et al. Guidelines for interpreting EBER in situ hybridization and LMP1 immunohistochemical tests for detecting Epstein-barr virus in Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2002; 117-259-67.
5. Torlabovic EE, Riddell R, Banerjee D et al. Canadian Association of pathologists – Association Canadienne des Pathologistes National Standards Committee/immunohistochemistry. Best Recommendations for Standardization of Immunohistochemistry Tests. *Am Clin Pathol* 2010; 133-354-65.

Controle da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no estado de São Paulo. Estudo de corte de cães em áreas endêmicas do município de Bauru (2008-2011)

Patrícia A. SANTOS¹, Roberto Mitsuyoshi HIRAMOTO¹, Suelen F. SILVA¹, Tatiana R. ALEXANDRE¹, Elaine Barbosa OLIVEIRA¹, José Rodrigues GONÇALVES NETO², José Eduardo Raefray BARBOSA¹, Helena Hilomi TANIGUCHI¹, Carlos Roberto ELIAS¹, Donizete RAIMUNDO², Rui LAROSA¹, Jeffrey Jon SHAW³, José Eduardo TOLEZANO¹

¹Núcleo de Parasitoses Sistêmicas, Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz;

²Centro de Controle de Zoonoses de Bauru;

³Depto. Parasitologia-ICB/USP

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma zoonose que representa um grave problema de saúde pública, causada por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*¹. As ações do Programa de Controle (PCLVA)^{2,3} estão em constante questionamento, devido às dificuldades na operacionalização de suas estratégias e sua efetividade. Os cães são importantes fontes de infecção para os vetores, tornando-se o alvo preferencial nas ações de controle. A partir do estudo de um corte de cães de algumas áreas endêmicas para LVA no município de Bauru, objetivou-se avaliar o impacto da retirada de cães infectados no controle da transmissão. No período de 2008 a 2011 foram realizados inquéritos sorológicos semestrais em todos os domicílios nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester. Nos bairros Vanuire e Jardim Helena, os inquéritos foram anuais, tal como preconizado no PCLVA. Para os diagnósticos, foram utilizados os testes Ensaio imunoenzimático (Elisa-Biomanguinhos) e Imunofluorescência indireta (RIFI-Biomanguinhos). Ao longo do período de

estudo, observou-se que nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, com inquéritos semestrais, a soroprevalência inicial foi de 11,66% (21/180); no segundo inquérito, 6,21% (10/161) e no terceiro inquérito, 5,55% (10/180) (fig. 1).

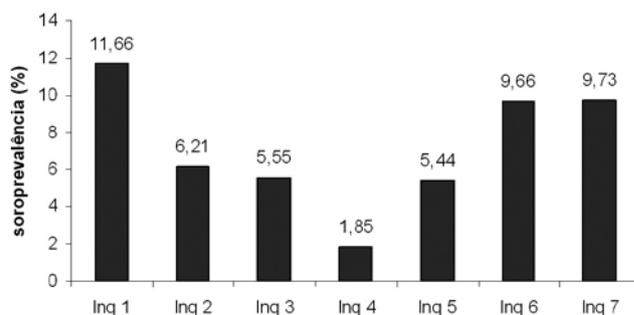


Figura 1. Soroprevalência nos inquéritos semestrais realizados nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, município de Bauru, estado de São Paulo (2008-2011)

No quarto inquérito realizado nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, observou-se a prevalência de 1,85% (3/162). A partir de então, para os bairros com inquéritos semestrais, observou-

se uma recrudescência da prevalência da infecção canina com aumento para 5,44% (16/294) no quinto inquérito, 9,66% (20/207) no sexto e 9,73% (22/226) no sétimo.

A partir do segundo ano foram incluídos dois bairros: Vanuire e Jardim Helena, considerados áreas controle com inquéritos anuais. Nesses bairros, a prevalência no primeiro inquérito foi de 12,35% (31/251). Após 12 meses, no segundo inquérito nos bairros controle Vanuire e Jardim Helena, a prevalência foi de 7,62% (17/223) (fig.2).

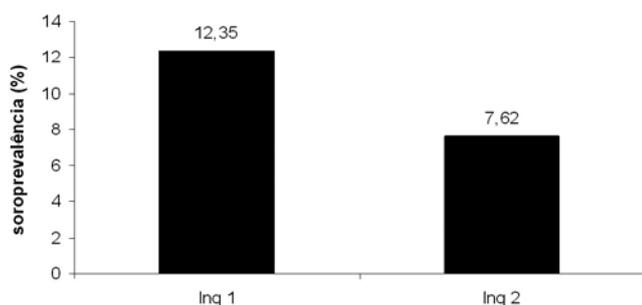


Figura 2. Soroprevalência nos inquéritos anuais realizados nos bairros controle, Vanuire e Jardim Helena do município de Bauru, estado de São Paulo (2009-2010)

As observações realizadas em relação à dinâmica das populações caninas nesses bairros revelaram elevadas taxas anuais de ingresso de novos cães, entre 11,7 e 60,6%, seja por reposição ou por estabelecimento de novos moradores, em particular no Parque Manchester que é um bairro novo. O presente estudo demonstra que o impacto das ações de controle da LVcanina sofre influência direta da composição e da estabilidade das populações desses animais, uma vez que 7% dos novos cães já chegam infectados nesses bairros.

Os autores concluem que o sacrifício de cães infectados revela-se insuficiente como medida para a eliminação da transmissão da LVA. A dinâmica atual caracteriza-se pela retirada de animais infectados e a reposição de suscetíveis ou mesmo de outros infectados, promovendo assim a perpetuação dos focos de transmissão. Torna-se imperioso a completa revisão das estratégias e do PCLVA.

Apoio financeiro – CNPq/Doenças negligenciadas – Proc. 410556/2006-8.

AGRADECIMENTOS

À equipe do Centro de Controle de Zoonoses de Bauru pela prévia realização do Diagambi (Diagnóstico ambiental) nos bairros investigados; às aprimorandas Tatiane R. Alexandre e Suelen F. da Silva pela colaboração na realização de exames sorológicos.

REFERÊNCIAS

1. Lainson R, Shaw JJ. New World leishmaniasis. In: COX FEG, Kreier JP, Wakelin D, editors. Topley & Wilson's Arnold. Microbiology and Microbial Infections, Parasitology, London, Sydney, Auckland; 2005; p.313-349.
2. São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde, 2006. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006; 120 p.: il. color – (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da água para consumo humano na região metropolitana da Baixada Santista, estado de São Paulo, no biênio 2009-2010

Mario TAVARES, Estevão de Camargo PASSOS, Roberto Carlos Fernandes BARSOTTI, Eduardo GONZALEZ, Ana Ruth Pereira de MELLO, Cícero Vagner de SOUSA, Ana Carolina Buchalla ALONSO, Maria de Lourdes Paixão da SILVA, Luzia Ilza Ferreira JORGE, Estela Sebastiany DAL RI*, Thais Helena da CUNHA*, Thais Calixto da SILVA*, Letícia Silva BRAGA*, André Luís Monteiro ARAÚJO*

Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional de Santos, Instituto Adolfo Lutz

**Programa de Aprimoramento Profissional (PAP)*

A água é um elemento essencial da vida, possuindo múltiplos usos indispensáveis a um amplo espectro das atividades humanas, bem como na preservação da vida aquática. Assim, a manutenção de sua qualidade é uma prioridade universal, exigindo a atenção das autoridades competentes no cumprimento da legislação referente à sua potabilidade, especialmente a Portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde¹.

Nesse contexto, foi instituído em 1992, no estado de São Paulo, o Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (PROÁGUA), no qual atuam em conjunto a Vigilância Sanitária (ANVISA) estadual e municipal e a rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz (IAL). É coordenado pelo Centro de Vigilância Sanitária (CVS) do estado de São Paulo, por meio do Grupo de Vigilância Sanitária (GVS) de cada região, como o GVS-XXV na Região Metropolitana da Baixada Santista, sediada em Santos, compreendendo esse município e os de Bertioga, Cubatão, Guarujá, Itanhaém, Mongaguá, Praia Grande, Peruíbe e

São Vicente; com uma população fixa superior a 1.600.000 habitantes, chegando a triplicar no verão devido ao turismo.

Cabe destacar que essa região vem apresentando resultados insatisfatórios para amostras analisadas no Programa PROÁGUA, variando entre 27% e 33% nos biênios 2001-2002, 2003-2004, 2005-2006 e 2007-2008².

Este trabalho objetiva avaliar os resultados da qualidade da água para consumo humano na referida região no biênio 2009-2010, em cumprimento ao citado programa.

Foram avaliadas 3514 amostras de água para consumo humano, sendo 92,5% provenientes do sistema de abastecimento público e 7,5% de sistemas alternativos, como poços, nascentes etc.; inseridas no Programa PROÁGUA, no biênio 2009-2010, quanto a determinados parâmetros microbiológicos e físico-químicos estabelecidos pela Portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde¹.

A coleta das amostras foi feita pelas equipes da Vigilância Sanitária dos municípios da Região

Metropolitana da Baixada Santista. O método de amostragem utilizado no momento da coleta foi o recomendado pela citada portaria, cabendo aos fiscais a dosagem de cloro residual livre (CRL) e a medição do pH e da temperatura da água. Por problemas técnico-operacionais em algumas das VISAs, não houve determinação de CLR e pH em parte das amostras.

Os demais ensaios foram realizados no Centro de Laboratório Regional de Santos/SP do IAL, tendo os microbiológicos (presença de coliformes totais e *Escherichia coli*), seguindo as técnicas descritas no “Standard Methods for Examination of Water and Wasterwater”, 2005³; e os físico-químicos (cor, fluoretos, odor e turbidez), as metodologias publicadas pela ANVISA/MS, 2005⁴.

Os resultados obtidos mostraram que, do total de 3.514 amostras analisadas, 1.301 (37,0%) revelaram inconformidade com as normais legais vigentes. Se comparados aos biênios 2001-2002, 2003-2004, 2005-2006 e 2007-2008², observou-se que, no biênio 2009-2010, foi superada a faixa de variação de amostras com resultados insatisfatórios (entre 27% e 33%).

Como pode ser observado na figura 1, 18% das amostras analisadas foram condenadas quanto ao exame microbiológico, das quais 13% relativas aos coliformes totais e 5% a *Escherichia coli*. Todos os municípios da região estudada apresentaram resultados insatisfatórios, sendo que Cubatão mostrou maior positividade para *Escherichia coli*, seguido de Santos e Bertioga com relação aos dois parâmetros.

Quanto aos ensaios físico-químicos, 34,3% das amostras analisadas estiveram em desacordo com a legislação, como mostra a figura 2. O parâmetro cor aparente foi que apresentou maior discordância (16,9%), seguido pela turbidez (5,2%) e pelo fluoreto (5,1%). Nos dois parâmetros iniciais, o município

de Itanhaém destacou-se negativamente e no último, Bertioga. Todos os municípios da região também revelaram resultados insatisfatórios para os referidos ensaios.

Detectaram-se níveis acima do recomendado para cloro residual livre (2,0 mg/L) ou ausência em um número significativo de amostras, o que prejudica a desinfecção da água para consumo¹.

Os resultados obtidos demonstram a necessidade de continuidade do Programa Proágua na região metropolitana da Baixada Santista e a importância do trabalho conjunto dos laboratórios de saúde pública com as Vigilâncias Sanitárias (VISAs) municipais, uma vez que a qualidade da água é uma prioridade à saúde humana.

Faz-se necessário que as VISAs continuem tomando medidas cabíveis perante as empresas tratadoras e fornecedoras de água, face aos benefícios para a população que deve receber água para consumo de qualidade satisfatória.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Leis, decretos, etc. Portaria nº 518, de 25 de março e 2004. Estabelece os procedimentos e as responsabilidades relativos ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano. Diário Oficial, Brasília, 26 de março de 2004, Seção 1, p. 266-70.
2. Passos EC et al. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da água para consumo humano na região metropolitana da Baixada Santista, estado de São Paulo, no biênio 2007-2008. In: V Simpósio Brasileiro de Vigilância Sanitária; 2010, novembro 13-17, Belém. [CD-ROM].
3. American Public Health Association (APHA). Standard methods for examination of water and wastewater. 20th ed., Washington, APHA, 2005.
4. Scorsafava MA. Águas. In: Zenebon O, Pascuet NS. [editores]. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4^a ed. Brasília; Ministério da Saúde, Anvisa; 2005; p. 345-404.

Problemas no diagnóstico laboratorial de *C. neoformans* e *C. gattii*

Marilena dos Anjos MARTINS, Sandra Regina Brasil Stolf PUKINSKAS

Núcleo de Micologia, Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz

Criptococose é micose sistêmica causada por levedura capsulada do gênero *Cryptococcus spp.* Embora compreenda, aproximadamente, 39 espécies, somente as espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* são consideradas patogênicas.

Anteriormente, a espécie *C. neoformans* estava dividida em duas variedades: *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii*. Devido às diferenças fenotípicas, genotípicas e epidemiológicas, os taxonomistas estabeleceram a separação definitiva das variedades em duas espécies distintas: *C. neoformans* e *C. gattii*¹.

Dados do Ministério da Saúde (2004) mostraram que a criptococose era a segunda infecção oportunista do Sistema Nervoso Central (SNC) mais frequente no Brasil. Apesar da diminuição do número de casos brasileiros da doença, ela ainda é considerada importante pela sua morbimortalidade². Do ponto de vista clínico e epidemiológico, essa micose se divide em: criptococose oportunista, associada a condições de imunodepressão celular causada predominantemente por *C. neoformans* e criptococose primária, associada a hospedeiro aparentemente imunocompetente, causada predominantemente por *C. gattii*³.

Devido ao seu tropismo pelo SNC, o Líquido Cefalorraqueano (LCR) é o material biológico mais utilizado para o diagnóstico laboratorial, porém outros materiais podem ser analisados: sangue,

escarro, lavado brônquico, medula óssea, urina, biópsia e secreção prostática.

O diagnóstico laboratorial da criptococose consiste, principalmente, na pesquisa direta da levedura capsulada no material biológico com tinta da China e no isolamento em meios de cultura. Pesquisa de antígeno e técnicas moleculares também podem ser utilizados.

Micológico direto e cultura de LCR apresentam sensibilidade variável, a saber: nos pacientes com Aids ela varia em torno de 80% a 100%, respectivamente; e nos pacientes imunocompetentes, ela está em torno de 30-50% e 89%, respectivamente (Moretti et.al, 2008).

No processamento das amostras biológicas líquidas, como LCR, é importantíssima a centrifugação, por 10 minutos a 2.000 rpm. O volume mínimo ideal é de 3mL.

Para micológico direto com tinta da China, coloca-se, sobre lâmina de microscopia, uma gota de tinta nankin ou nigrosina e uma gota do sedimento. Observar ao microscópio óptico em 40x a presença de levedura capsulada.

Nossa experiência mostra que amostras de LCR não centrifugadas e a não diluição da tinta nanquim (1:4 em sol. fisiológica) podem levar a falsos resultados negativos. Em pacientes com Aids, a levedura pode produzir pouca ou nenhuma cápsula. Nesses casos, a cápsula pode não ser visualizada; porém, na observação da morfologia da levedura,

o contorno da parede e as inclusões citoplasmáticas são características. Como o resultado do micológico direto deve ser liberado rapidamente pelo laboratório, em caso de dúvida quanto à presença de cápsula, liberar o resultado como: presença de leveduras sem cápsula com morfologia característica de *Cryptococcus spp* ou simplesmente presença de levedura. A inexperiência de alguns laboratoristas pode levar a falso resultado positivo nos casos em que houver extravasamento de material citoplasmático dos neutrófilos, o que leva à formação de halo ao seu redor, porém não é uniforme⁴.

Para o isolamento de *Cryptococcus spp*, podem ser utilizados vários meios de cultura como: ágar sangue, chocolate, Sabouraud e infusão de cérebro e coração (BHI). Não devem ser utilizados meios que contenham cicloheximida (Actidione, Roche®) como o meio Mycosel® e Micobiotic®, pois essa substância inibe o crescimento da levedura. Incubar por até 15 dias à temperatura de 30 °C, com leituras diárias. Normalmente, o crescimento é por volta de 48 a 72h. A utilização de ágar Niger auxilia na identificação presuntiva de *Cryptococcus spp*, pois nesse meio somente as colônias desse gênero apresentam coloração marrom.

Após crescimento em cultura, a identificação da espécie deve ser iniciada pela pesquisa de cápsula nas colônias de leveduras com tinta da China. O mesmo procedimento deverá ser aplicado quando da utilização de meios cromogênicos (meios utilizados na identificação presuntiva de leveduras do gênero *Candida*), em que o *Cryptococcus spp* cresce com tonalidade rosa ou creme, a mesma encontrada em outras leveduras; portanto, o laboratorista não suspeita do crescimento de *Cryptococcus* nesse meio. Deve-se ter cuidado, principalmente, em isolados de sangue e liquor de realizar a pesquisa de cápsula nas colônias antes de liberar um resultado presuntivo para espécies de *Candida* em um meio de cultura que também cresce *Cryptococcus spp* e outros gêneros de leveduras. Tal fato é observado em nosso laboratório, para onde são

encaminhadas culturas de leveduras, principalmente de corrente sanguínea, previamente identificadas como *Candida sp* e, ao serem reidentificadas, tratavam-se do gênero *Cryptococcus spp*.

A identificação das espécies de *Cryptococcus* pode ser realizada por método manual de assimilação de fontes de carbono e nitrogênio e provas complementares como hidrólise da ureia, crescimento em várias temperaturas e prova de CGB (Canavanina, Glicina e indicador azul de Bromotimol) (Fell et al., 1998). A prova de CGB é de fácil execução e deve ser utilizada apenas para separar as duas espécies antes englobadas como *C. neoformans*. O teste de CGB pode apresentar resultado falso positivo se for semeado um inóculo pesado de levedura ou se houver contaminação.

Os laboratoristas que utilizarem métodos comerciais e não realizarem prova complementar de CGB para a diferenciação das espécies *C. neoformans* e *C. gattii*, mesmo que esses métodos cheguem ao resultado de *C. neoformans* (taxonomia antiga que engloba as duas novas espécies), deverão liberar o laudo como *Cryptococcus spp* ou pertencente ao complexo das espécies *C. neoformans/C. gattii*.

REFERÊNCIAS

1. Kwon-Chung KJ, Varma SA. Do major species concepts support one, two or more species within *Cryptococcus neoformans*? FEMS Yeast Res; 2006;6:574-587.
2. Pappalardo, MCSM, Szeszs MW, Martins MA, Baceti LB, Bonfietti LX, Purisco SU et al. Susceptibility of clinical isolates of *C. neoformans* to amphotericin B using time-kill methodology. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2009.
3. Moretti ML, Resende MR, Lazera MS, Colombo AL, Shikanai - Yasuda MA. Consenso em cryptococcosis - Rev. Soc. Bras. Med. trop, 2008;41(5):524-44.
4. Mendes-Giannini MJS, Melhem MSC. Infecções Fúngicas. In Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan; 2001; p.334- 403.

Descarte de resíduos formados em uma titulação de precipitação para a determinação de cloreto

Maria Anita SCORSÁFAVA

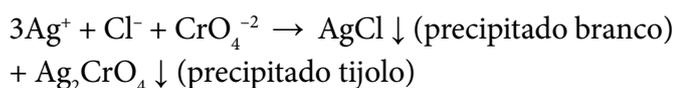
Núcleo de Águas e Embalagens – Centro de Contaminantes –
Instituto Adolfo Lutz

A utilização de substâncias químicas em laboratórios de química analítica requer cuidados na hora de descartar os resíduos formados após os ensaios realizados. Para minimizar a contaminação gerada no ensaio para a determinação de cloretos por titulação de precipitação com nitrato de prata, foi desenvolvido o procedimento a seguir.

Na determinação do cloreto por precipitação com o nitrato de prata, tendo como indicador o cromato de potássio, gera-se resíduo de íons cromato e íons prata em solução aquosa. Como esses elementos são considerados tóxicos, esse procedimento objetiva de maneira simples a eliminação desses íons presentes na solução, na forma de resíduo sólido, utilizando o cloreto de bário para precipitar o cromato.

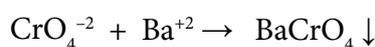
Titulação de precipitação

Nesta determinação ocorrem as seguintes reações:

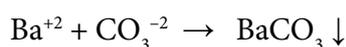


Após a titulação com o nitrato de prata, filtrar a solução para a retirada do resíduo de cloreto de prata e cromato de prata. Na solução filtrada há íons cromato, acrescentar algumas gotas de hidróxido de amônio concentrado (ou hidróxido de sódio a 40%) e

cloreto de bário solução a 10%, (ocorre a precipitação do cromato de bário, que é um precipitado amarelo claro), até a solução não ter traços amarelos.



Adicionar 0,5 ou 1mL a mais de cloreto de bário a 10%, agitar e, a seguir, adicionar carbonato ou bicarbonato de amônio (ou de sódio). Com isso, todo o excesso de bário fica precipitado como carbonato de bário (precipitado branco) que é filtrado.



Filtrar essa solução. Nos papeis de filtro teremos: o precipitado do cloreto de prata, de cromato de bário e de carbonato de bário, que passam a ser um resíduo sólido, após seco à temperatura ambiente são descartados como metais (prata, cromo e bário). NBR 10004 da ABNT.

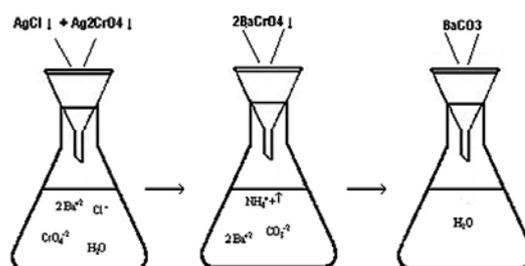


Figura 1. Descarte de resíduos de prata e cromo

Os resíduos gerados nesse procedimento são classificados pela Resolução no 358, de 29 de abril de 2005, como grupo B: resíduos contendo substância química que pode apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, devido à sua toxicidade.

Algumas considerações sobre a toxicidade desses elementos: o cromo na sua forma de oxidação três (Cr^{+3}) é essencial para o ser humano, quando ingerido em traços, porém em excesso passa a ser tóxico. Sua principal função está relacionada ao metabolismo da glicose, do colesterol e de ácidos graxos. É encontrado naturalmente no solo, na poeira e nos gases de vulcões. São três os números de oxidação do metal: cromo zero, três e seis. O cromo seis e o zero são produzidos por processos industriais, em que é empregado, principalmente, para fazer aços inoxidáveis e outras ligas metálicas. Na forma do mineral cromita, é utilizado na indústria de refratários para fazer tijolos de fornos metalúrgicos, em galvanoplastia, cromados, manufatura de pigmentos, curtume de couro e tratamento de madeira. O cromo seis é um carcinógeno humano, em contato com a pele causa dermatites alérgicas. Há ainda suspeita de que esse composto químico pode afetar o sistema imunológico de seres humanos.

O bário em excesso no organismo pode causar vômitos, diarreias, dor abdominal e ainda desalojar o potássio das células. Níveis altos de bário associados com uma razão Ca/Mg alta foram correlacionados com infarto do miocárdio.

A prata foi usada pelos gregos e pelos romanos desde a Antiguidade como bactericida e antibiótico. É tóxica para o meio ambiente, pois mata os micro-organismos indiscriminadamente, não só os patogênicos. Afeta a capacidade reprodutiva de alguns organismos aquáticos, invertebrados, podendo atingir inclusive os peixes. Ingestão em altas doses pode causar sangria.

REFERÊNCIAS

1. NBR 10.004/2004 – Resíduos sólidos – classificação.
2. Resolução CONAMA nº 358, 29/04/2005 – Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências.
3. Caldas LQA, Hick SR. Toxicologia experimental de compostos contendo bário solúvel. Ver. Soc. Bras. Toxicol. 1988; 1(1/2):55-7, jan-jun.
4. Barceloux DG. Chromium. Clinical Toxicology, 1999; 37:173-194.
5. Ferreira ADQ. O impacto em sistemas biológicos. Química Nova, 2002; 25 no 4.
6. Hagstrand C, Wood. CM. Toward a better understanding of the bioavailability, physiology and toxicology of silver em fish: Implications for water quality criteria. Environmental Toxicology and Chemistry. 1998;17:547-561.
7. Vogel AI. Química Analítica Qualitativa. Copyright Lngman Group Limited, Londres, 1979.

Avaliação da qualidade da água destinada aos trabalhadores do setor canavieiro das regiões de Assis, Bauru e Marília, do estado de São Paulo, Brasil

Regina Célia Arantes STANCARI¹, Francisco Lopes DIAS Jr.¹, Mara Aparecida Garnica SUAIDEN², Rosângela Aguilar da SILVA³, Luci Ochi FERREIRA³, Roberto Costa SANTOS³

¹Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, ²Núcleo de Ciências Biomédicas, Centro de Laboratório Regional II – Instituto Adolfo Lutz de Bauru

³Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional IV – Instituto Adolfo Lutz de Marília

O propósito primário para a exigência da qualidade da água é a proteção à saúde pública. Os critérios adotados para assegurar essa qualidade objetivam fornecer uma base para o desenvolvimento de ações que, se adequadamente implementadas junto à população, garantirão a segurança do fornecimento de água através da eliminação ou da redução da concentração mínima de constituintes na água conhecidos por serem perigosos à saúde¹.

A ampliação do cultivo da cana-de-açúcar, o aumento da produção do setor sucroalcooleiro e o conseqüente crescimento do número de trabalhadores expostos aos riscos nesse ambiente de trabalho, levou a Secretaria de Estado da Saúde, por meio do Centro de Vigilância Sanitária (CVS), a implementar o Programa Paulista em Saúde do Trabalhador (VISAT) do setor canavieiro com a finalidade de fazer intervenções nas condições de risco à saúde, as quais esses trabalhadores estão expostos².

O estado de São Paulo é o maior produtor de cana-de-açúcar do Brasil e até meados de 2007 abrigava 175 usinas distribuídas por 130 municípios de 13 regiões de saúde (Araçatuba,

Araraquara, Barretos, Bauru, Campinas, Franca, Marília, Piracicaba, Presidente Prudente, Ribeirão Preto, São João da Boa Vista, São José do Rio Preto, Sorocaba)³.

O Programa Visat do setor canavieiro em conjunto com o Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (PROÁGUA) desenvolveram o projeto: “Condições de hidratação e qualidade da água do trabalhador canavieiro”, com o objetivo de eliminar, minimizar e controlar os riscos decorrentes das condições de hidratação e qualidade da água oferecida a esses trabalhadores.

A Portaria no 518, de 25/03/2004, do Ministério da Saúde, estabelece que o controle da qualidade da água para consumo humano, desde a captação, passando pelo tratamento até a distribuição deve ser realizado pelos responsáveis pela operação do sistema ou da solução alternativa de abastecimento de água e monitorada pelas Secretarias de Saúde Estaduais e institui planos de amostragem e os padrões de potabilidade restritos ao trecho que se inicia na captação e se encerra nas ligações domiciliares dos consumidores⁴.

Buscando contribuir com as ações de saúde pública, o presente estudo objetiva conhecer a qualidade da água fornecida aos trabalhadores canavieiros de 31 usinas das regiões de Assis, Bauru e Marília que, em função das características dessa atividade, são transformados em grupos vulneráveis e expostos a riscos à saúde.

No período de maio a julho de 2008 foram analisadas 72 amostras de água coletadas pelas vigilâncias sanitárias municipais das respectivas regiões em estudo. Os dois pontos de coletas estabelecidos foram os reservatórios dos ônibus de transporte dos trabalhadores e os caminhões-pipa utilizados para reabastecimento durante a jornada de trabalho. As análises foram realizadas pelos Núcleos de Ciências Químicas e Bromatológicas dos Centros de Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz de Bauru e Marília.

Os parâmetros avaliados foram: microbiológicos (coliformes totais e *E. coli*) pela técnica do substrato enzimático, segundo *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*⁵ e físico-químicos (cor, turbidez, nitrato e fluoreto) conforme Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz⁶. A análise de cloro residual livre foi realizada em campo pelos técnicos das Vigilâncias Sanitárias por meio de *kit* comercial.

Das 72 amostras analisadas, 32 (44%) estavam de acordo com as legislações em vigor e 40 (56%) estavam em desacordo em, pelo menos, um dos parâmetros avaliados. A Portaria nº 518 do Ministério da Saúde, de 25/03/2004, estabelece que em água para consumo humano, incluindo fontes individuais como poços, não é permitida a presença de *Escherichia coli* ou coliformes termotolerantes em 100 mL da água⁴. No presente estudo, 10 (14%) das amostras apresentaram bactérias do grupo coliformes totais e 6 (8%), *E. coli*. A detecção de *E. coli*, mesmo em um número reduzido de amostras, indicou a veiculação hídrica de micro-organismos patogênicos, demonstrando que esses trabalhadores

estão expostos ao risco de contraírem doenças diarreicas, podendo debilitá-los ou incapacitá-los para o trabalho.

A avaliação dos resultados de cloro residual livre mostrou que 21 (29%) das amostras apresentaram concentrações abaixo de 0,2 mg/L (concentração mínima exigida)⁴. Esse resultado chama a atenção porque a presença de cloro é fundamental para o processo de desinfecção. A adição intencional de cloro na água tem por finalidade garantir a qualidade microbiológica em relação às bactérias e aos vírus durante transporte e distribuição, tornando-a segura para o consumo. Os resultados obtidos indicam alguma falha no processo de tratamento ou transporte/distribuição da água, demonstrando a necessidade de intervenção da Vigilância Sanitária para que o problema seja solucionado.

Em relação à turbidez, apenas uma amostra (1%) estava acima do limite estabelecido de 5 UT⁴. A turbidez na água indica a presença de material particulado, o qual pode dificultar o processo de desinfecção, tornando-o ineficiente na eliminação de micro-organismos patogênicos.

Considerando a Resolução SS-250, de 15/08/1995⁷, que estabelece os limites de concentração para íons fluoreto no estado de São Paulo, 30 (42%) das amostras estavam abaixo de 0,6 mg/L e 2 (3%) acima de 0,8 mg/L. A análise dos resultados de fluoreto revela a necessidade de um maior controle do processo de fluoretação da água para assegurar o benefício da prevenção da cárie dentária e da fluorose, pois o consumo diário de água contendo concentração fora da faixa estabelecida pode contribuir para danos em relação à saúde desses trabalhadores. Em relação à cor e à concentração de nitrato, todas as amostras analisadas estavam de acordo com a legislação⁴.

Os dados obtidos com este estudo são representativos da situação de abastecimento público de água destinada ao consumo dos trabalhadores canavieiros das regiões de Assis, Bauru e Marília

e mostram a importância da vigilância e do monitoramento neste setor e a necessidade de ações investigativas e corretivas para garantir o fornecimento de água com qualidade.

REFERÊNCIAS

1. D'Aguila PS, Roque OCC, Miranda CAS, Ferreira AP. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do município de Nova Iguaçu. *Caderno de Saúde Pública* 2000; 16(3): 791-98.
2. São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Sanitária. Saúde do Trabalhador. Programa Paulista de VISAT-Vigilância em Saúde do Trabalhador do Setor Canavieiro. Acesso em 22 de abril de 2011. Disponível em: http://www.cvs.saude.sp.gov.br/dvst_canav.asp.
3. São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica. Programa Paulista de Vigilância à Saúde do Trabalhador do Setor Canavieiro. *Boletim Epidemiológico Paulista* 2007; 4(45): 24-5. Acesso em 22 de abril de 2011. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa45_strab.htm.
4. Brasil – Ministério da Saúde. Portaria no 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e as responsabilidades relativos ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. *Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 26 mar. 2004. Seção I, p. 266-70.*
5. American Public Health Association (APHA). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 21th ed. Washington, 2005.
6. São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Coordenadoria de Controle de Doenças. Instituto Adolfo Lutz. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos* 5a ed. São Paulo, 2008. Acesso em 21 de setembro de 2009. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br>
7. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Resolução SS-250, de 15 de agosto de 1995. Define concentrações do íon fluoreto nas águas para consumo humano, fornecidas por sistemas públicos de abastecimento. *Diário Oficial [do] Estado de São Paulo, São Paulo, SP, 16 ago. 1995. Seção 1, p. 11.*

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.

