

---

# BOLETIM do INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Bol. Inst. Adolfo Lutz, ano 13, n. 2, p. 3 - 28, 2003

# ADOLFO LUTZ

## Expediente

**Dr. Cristiano Corrêa A. Marques**

Editor Responsável

Diretor-geral do Instituto Adolfo Lutz

**Janete Alaburda**

Presidente da Comissão de Redação

**Cecília Cristina Marques dos Santos**

Secretária

### COORDENADORES DE ÁREAS:

**Marilena Oshiro**

**Therezinha Travassos C. de Almeida**

Área de Vigilância Epidemiológica

**Márcia Regina Pennacino do Amaral Mello**

**Márcia Bittar Atuí**

Área de Vigilância Sanitária

**Daisy Nakamura Sato**

Área de Ações Básicas de Saúde

**Rocely A. de Souza Bueno**

Setor de Publicações da Biblioteca do I.A.L.



---

## Sumario

Medicamentos genéricos: perguntas e respostas .....	4
Gerenciamento de resíduos químicos realizado no Instituto Adolfo Lutz – Ribeirão Preto .....	6
Contribuição da concentração da amostra no diagnóstico microscópico da tuberculose .....	8
Embalagens plásticas recicladas pós-consumo e o contato direto com alimentos .....	10
Utilização de kits de imunensaio para detecção de insetos e fragmentos de insetos em grãos e alimentos ....	12
Tricotecenos e a guerra biológica .....	14
Legislação sobre o iodo no sal e o combate ao bócio endêmico no Brasil .....	16
Determinação de cloretos em presença de fosfatos .....	19
A influência da força iônica nas medidas de pH através de eletrodo de vidro combinado .....	21
Hemoglobina Glicada - Sua importância no controle do Diabetes Mellitus .....	22
Anticorpos antitireoidianos – auxílio diagnóstico nas tireoidites autoimunes .....	23
Viabilidade das cepas de micobactérias conservadas à temperatura ambiente e à -70°C .....	24

---

# Medicamentos genéricos: perguntas e respostas

Mariangela Tirico AURICCHIO

Instituto Adolfo Lutz Central –Divisão de Bromatologia e Química - Diretoria do Serviço de Medicamentos

1 - O que são medicamentos genéricos?

Um medicamento genérico é a cópia de um medicamento referência ou inovador. É composto pela mesma substância ativa ou fármaco, na mesma dosagem, e que terá, portanto, a mesma potência se usado como seria usado o medicamento referência, produzindo a mesma resposta terapêutica.

2 - O que é medicamento referência?

É um medicamento cujo estudo de eficácia e segurança está bem estabelecido, que não está mais sob proteção patentária e geralmente detém a maior parcela do mercado na sua categoria, sendo a base para a aprovação de todos os seus candidatos a genéricos.

3 - Por que as autoridades de Saúde do nosso país adotaram os medicamentos genéricos?

Os problemas com os custos dos medicamentos são mundiais, em países como o Brasil o peso dos gastos com medicamentos é muito alto em relação à renda da população e também para o governo. Os fatos mostram que é muito difícil evitar o aumento real dos preços de remédios. Dados do Ministério da Saúde<sup>(1)</sup> para o período 1990 – 2000, assinalam que o faturamento de 3,40 bilhões de dólares para 1,50 bilhões de unidades vendidas em 1990, passou para 7,48 bilhões para 1,47 bilhões de unidades vendidas em 2000, ou seja, houve diminuição no número de unidades vendidas, apesar do aumento de 14% na população neste período, mas o faturamento aumentou mais que o dobro. Segundo dados da OMS<sup>(2)</sup>, em média, 65% da população brasileira tem acesso regular aos medicamentos. Assim, a adoção dos medicamentos genéricos é a solução mundial para diminuição no preço dos medicamentos, porque em geral os produtores destes medicamentos não tiveram gastos com o desenvolvimento da substância ativa, podendo assim, vende-los por preço menor. Como muitos fabricantes podem produzir o mesmo medicamento genérico, aumenta a competição, o que favorece a manutenção dos preços. Em última análise, os medicamentos genéricos favorecem o acesso da população ao medicamento.

4 - Medicamento genérico “é coisa de país pobre”?

Definitivamente não, a Organização Mundial da Saúde<sup>(2)</sup> ressalta este fato, já que, em 1990 os genéricos compartilhavam de proporção de vendas maior, justamente nos mercados mais ricos, e em 2000 esta tendência se manteve, pois nestes, os genéricos representaram 50% das vendas em 1990 e, quase 70% das vendas em 2000, enquanto em mercados mais pobres as

proporções foram cerca de 30% no mesmo período. Os medicamentos genéricos são, portanto, uma conquista da sociedade mundial, grande parte das nações sentiram o mesmo problema, ou seja, o impacto crescente no custo das atividades de Saúde representado pelos medicamentos. Em muitos países a diferença de preços pode ilustrar a economia que representa a consolidação do mercado de genéricos com respeito ao custo do mesmo, quando comparado ao custo do medicamento referência nas atenções de saúde: Bélgica 20%, Alemanha 30%, Canadá 50%, Grã-Bretanha 80%, Estados Unidos até 90%.

5 - Quando pode surgir um medicamento genérico ?

O genérico poderá ser produzido quando a proteção patentária do medicamento referência expirar. Os fabricantes de novos medicamentos ou medicamentos referência investem cerca de 700 milhões de dólares ao longo de 12 anos de pesquisas até que o medicamento seja aprovado, por isso é legítimo, que tenham possibilidade de retorno de seu investimento, com a concessão de exclusividade de comercialização, que hoje é de cerca de 9 anos<sup>(3)</sup>. Terminado este período, o medicamento pode ser produzido e comercializado por outro laboratório desde que cumpra todas as exigências da autoridade reguladora.

6 - Como diferenciar um medicamento genérico de outro que é apenas *similar* ao referência?

A ANVISA estabeleceu legislação específica para rotulagem de genéricos que permite distingui-lo dos demais, tanto nos dizeres como na coloração e símbolos.

7 - O que é medicamento *similar*?

É um medicamento que tem a mesma substância ativa do medicamento referência e mesma dosagem. A diferença entre eles é que no momento do registro, o similar não comprovou ser bioequivalente ao referência, portanto o similar não pode ser intercambiável com o referência, ou seja, não pode ser usado em substituição àquele.

8 - Então por que há *similares* no mercado?

Isto já vem de longo tempo no mercado de medicamentos do Brasil, sendo bem anterior aos genéricos, mas a correção será feita e já está estabelecida em legislação. A partir das futuras renovações de registros, os similares deverão apresentar também os estudos de bioequivalência para continuarem sendo comercializados, o mesmo ocorrendo com os genéricos. Com o tempo não haverá mais medicamentos similares no mercado brasileiro.

9 - Quais as exigências para que um medicamento seja considerado genérico?

A autoridade reguladora, no caso brasileiro a ANVISA, estabelece protocolos bem definidos a serem seguidos e que estão de acordo com o preconizado pela Organização Mundial da Saúde e demais agências internacionais. O fabricante deve demonstrar por meio de estudos específicos chamados de bioequivalência, que seu medicamento fornecerá a mesma quantidade da substância ativa numa velocidade comparável à do medicamento referência, podendo ser *intercambiável* com este.

10 - Como é feito este estudo?

Estes procedimentos estão estabelecidos em protocolos rígidos a serem seguidos, mas em linhas gerais, voluntários sadios, homens e mulheres, receberão mesma dose do medicamento referência e do medicamento que pretende ser o genérico correspondente. Por meio de dosagens em amostras do sangue destes voluntários são estabelecidos alguns parâmetros de *biodisponibilidade*, dentre eles,  $C_{máx}$ ,  $T_{máx}$ , e AUC, que representam respectivamente, Concentração Máxima da substância ativa, Tempo em que esta concentração é atingida e a Área sob a Curva que mede a quantidade de substância ativa efetivamente fornecida pelo medicamento. Estes parâmetros das duas biodisponibilidades obtidas são comparados para avaliação se os medicamentos são *bioequivalentes*. Os critérios e os intervalos de aceitação também são definidos nos protocolos. O fabricante separa um lote de sua produção para realização dos estudos de bioequivalência. A conclusão da bioequivalência só é válida para o lote que foi testado. A extrapolação da conclusão de bioequivalência para os lotes produzidos em seqüência, só é possível se tais lotes forem demonstrados semelhantes ao utilizado no ensaio de bioequivalência, ou seja os lotes sucessivos devem necessariamente, apresentar entre si equivalência farmacêutica.

11 - Todo medicamento referência pode ter genérico?

Não, existem alguns poucos casos onde ainda não é possível ter o genérico, principalmente no caso de hormônios naturais, ou quando alguma particularidade na composição da(s) substância(s) ativa(s) não permitir.

12 - Como avaliar o medicamento genérico laboratorialmente?

O lote no qual o estudo de bioequivalência foi realizado deve atender especificações analíticas que foram projetadas pelo fabricante, assim como todos os lotes subsequentes (são as especificações de produto acabado). Dentre outros ensaios, o de dissolução, estabelecido para o lote estudado, será aplicado a todos os demais para garantir que as propriedades físico-químicas apresentadas pelo lote estudado sejam constantes, e reproduzíveis lote a lote, em outras palavras se os diferentes lotes apresentam *equivalência farmacêutica*. Por conseguinte, se o ensaio da dissolução não responder ao teste como o esperado, indicará comprometimento da bioequivalência.

13 - Como a autoridade reguladora “acompanha” a qualidade dos medicamentos genéricos produzidos no país?

A ANVISA estabeleceu o Programa de Monitoramento da Qualidade de Medicamentos Genéricos e de Referência, para acompanhar a avaliação laboratorial de lotes de genéricos coletados no mercado. A avaliação laboratorial permite verificar se os lotes subsequentes apresentam equivalência farmacêutica com o lote no qual foi realizado o estudo de bioequivalência. O programa também realiza inspeções periódicas de modo a fiscalizar o processo produtivo das empresas farmacêuticas, quanto ao estabelecido na legislação de Boas Práticas de Fabricação.

14 - Quais são as outras medidas de fortalecimento dos genéricos em nosso país?

A ANVISA tem até o momento, adotado as estratégias preconizadas para a implantação dos genéricos, ou seja, estabeleceu legislação de suporte em várias frentes inclusive para rotulagem, mantém informações atualizadas nos sites da agência, mantém o programa laboratorial citado anteriormente, inspeções, etc. Seria interessante enfatizar maior número de informações junto à população. De outra parte, os médicos desempenham papel fundamental neste fortalecimento, ao prescreverem os genéricos e cobrando sempre das autoridades que estejam alertas no acompanhamento do desempenho dos genéricos.

15 - Como está o mercado de genéricos no Brasil?

Atualmente existem 776 medicamentos genéricos registrados, dos quais 635 estão efetivamente sendo comercializados em farmácias e hospitais. Até o momento o país dispõe de 25 centros de estudos de bioequivalência credenciados para realizar os estudos necessários ao registro dos genéricos.

16 - O que fazer para consolidar os genéricos em nosso país?

A consolidação dos genéricos será identificada pela aceitação completa deste projeto pela sociedade brasileira. Para tanto é fundamental a credibilidade e competência da agência reguladora no estabelecimento de estratégias que sejam perceptíveis a esta sociedade e aos profissionais de saúde envolvidos.

## REFERÊNCIAS

1. ANVISA – Ministério da Saúde Regulação Econômica do Mercado Farmacêutico- Equipe técnica da Gerência Geral de Regulação Econômica e Monitoramento de Mercado, 2000, 20p. [<http://www.anvisa.gov.br/monitora/index.htm>].
2. Selection of Comparator Pharmaceutical Product for Equivalence Assessment of **Interchangeable Multi-Source (Generic) Products**, WHO, 2001, 57p.
3. Hughes, J.W., Moore, J.M. and Snyder, E.A. “**Napsterizing**” **Pharmaceuticals: Access, Innovation, and Consumer Welfare NBER Working Series**, 2002, 54p.

---

# Gerenciamento de resíduos químicos realizado no Instituto Adolfo Lutz – Ribeirão Preto

Rita de Cássia BRIGANTI, Silvia C. CASTRO, Leandro J. da S. ESPINOZA  
Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Ribeirão Preto – Seção de Bromatologia e Química

Um dos maiores problemas dos laboratórios químicos está relacionado com o gerenciamento de seus resíduos perigosos. Devido ao impacto ambiental provocado pelo descarte inadequado, a falta de informações sobre como proceder o acondicionamento e a segregação desses resíduos no local gerador, o Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I – Ribeirão Preto organizou um grupo de resíduos com o intuito de minimizar a produção dos resíduos químicos e proporcionar-lhes um encaminhamento seguro de forma eficiente, visando a proteção dos trabalhadores, a preservação da saúde pública, dos recursos naturais e do meio ambiente<sup>1</sup>.

A Resolução – RDC nº 33, de 25 de fevereiro de 2003, traz a forma correta de segregar e acondicionar os Resíduos de Serviços de Saúde, gerados em laboratório. Com as melhorias físicas ocorridas em nosso estoque emergencial, houve a segregação dos reagentes com data de validade vencida, assim como já ocorre com os resíduos químicos de análises. O processo de segregação foi feito por incompatibilidade química e maior grau de risco do reagente presente no resíduo. Acondicionou-se em caixas devidamente identificadas e foram colocadas em um espaço denominado “abrigo de resíduo químico” para, posteriormente, ser encaminhado à destinação adequada. Os resíduos químicos encontrados no Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de Ribeirão Preto conforme a Resolução citada, são classificados como Resíduos Químicos do Grupo B, definidos como de risco à saúde pública ou ao meio ambiente, independente de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade. Esta classificação objetiva destacar a composição desses resíduos segundo as suas características biológicas, físicas, químicas, estado da matéria e origem, para seu manejo seguro.

Inseridos nesta classificação estão: B6 - resíduos contendo metais pesados; B7 - reagentes para laboratórios, isolados ou em conjunto, que devem ser acondicionados observadas as exigências de compatibilidade química dos resíduos entre si, assim como de cada resíduo com os materiais das embalagens, de forma a evitar reação química entre os componentes do resíduo e da embalagem, enfraquecendo ou deteriorando a mesma, ou a possibilidade de que o material da embalagem seja permeável aos componentes do resíduo; e B8 - outros resíduos contaminados com substâncias químicas perigosas. Estes resíduos deverão ser acondicionados de acordo

com as instruções contidas na ficha de informações de segurança de produtos químicos fornecida pelos fabricantes, importadores e distribuidores, conforme a norma da ABNT - NBR 14725, de julho de 2001, identificados através do símbolo de risco associado, de acordo com a NBR 7500 da ABNT, com discriminação de substância química e frase de risco. Os resíduos químicos devem ser encaminhados a aterro sanitário industrial para resíduos perigosos - Classe I ou serem submetidos a tratamento de acordo com as orientações do órgão local de meio ambiente, em instalações licenciadas para este fim.

Observou-se que para a realização da segregação dos resíduos químicos de maneira adequada, faz-se necessário o conhecimento das características e propriedades físico-químicas dos compostos envolvidos por parte do pessoal técnico encarregado, uma vez que a bibliografia referente à incompatibilidade dos resíduos é limitada e de difícil compreensão.

Através de conhecimento e conscientização, a prática de descarte de resíduos gerados em laboratórios deverá ser feita dentro das normas corretas da legislação vigente e os técnicos não devem estar alheios a esta realidade. A solicitação de reagentes deverá ser feita, sempre que possível, de maneira programada para um prazo limitado, evitando-se a geração de resíduos desnecessários.

## REFERÊNCIAS

1. Brasil, Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – Resolução - RDC nº 33 de 25 de fevereiro 2003, **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 44, 5 de março de 2003, Seção 1, p.45 – 50.
2. Gilman A. G., Limbird L. E., Hardman J. G., **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 8<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill Companies, 1996. p.1065-6.
3. **The Merck Index: An encyclopedia of chemical, drugs and biologicals**, 20<sup>th</sup> ed. Whitehouse Station, Merck, 1996, p. 265, 802, 1626-7.
4. Penteadó, M. F. et al. **Segurança em laboratórios: riscos e medidas de segurança em laboratórios de microbiologia de alimentos e de química, recomendações para construção e layout**, Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, 2002. 92p.

**Tabela 1:** Características e riscos dos resíduos químicos da Seção de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I – Ribeirão Preto:

<b>Resíduo</b>	<b>Incompatibilidade</b>	<b>Riscos</b>	<b>Precauções de Segurança</b>
tolueno + acetato de etila + ácido fórmico (6:3:1)	ácido crômico, peróxidos, halogênios, percloratos e oxidantes fortes <sup>3</sup>	intoxicação crônica apresenta uma ação narcótica maior que o benzeno, provoca debilidade generalizada, lesões no SNC e periférico, falta de coordenação, disfunção menstrual e danos no canal auditivo <sup>4</sup>	manter em local ventilado e afastado de fontes de calor <sup>4</sup>
Hexano	ácido crômico, peróxidos, halogênios, percloratos e oxidantes fortes <sup>3</sup>	inflamável, intoxicação aguda: aparecimento de sinais nervosos, euforia levando a vertigem, paralisia dos membros inferiores, perda de consciência intox. crônica: alterações cutâneas, neuropatia periférica (membros inferiores) <sup>3</sup>	manter em local ventilado e afastado de fontes de calor <sup>4</sup>
azida sódica	chumbo, cobre e outros metais <sup>1</sup>	carcinogênico e explosivo em contato com metais <sup>4</sup>	proteção das vias respiratórias, mãos e olhos, evitar contato com metais <sup>4</sup>
reagente de Nessler, mercúrio e seus sais	acetileno, ác. fulmínico, amônia, halogênios, enxofre e metais alcalinos <sup>1</sup>	muito tóxico, corrosivo para membranas, pode ser absorvido pela pele e possui efeitos acumulativos <sup>2</sup>	proteção das vias respiratórias, mãos e olhos, manter o resíduo metálico sob filme d'água <sup>4</sup> , evitando a evaporação em caso de derramamento acidental, manter o local ventilado <sup>2</sup>
cádmio metálico	nitrito de amônio, cloratos, percloratos e azidas <sup>3</sup>	carcinogênico, efeitos graves à saúde em caso de exposição prolongada muito tóxico para meio ambiente aquático <sup>3</sup>	descontaminar as vidrarias com HNO <sub>3</sub> 20% e tratar o produto como resíduo perigoso <sup>4</sup>
solução sulfocrômica	líquidos inflamáveis, ác. acético, nítrico e glicerina <sup>4</sup>	carcinogênico, nocivo em contato com a pele, irritante para as vias respiratórias e pele, risco de lesões oculares e pode causar alterações genéticas hereditárias <sup>4</sup>	manuseio em capela de exaustão e armazenagem em local fresco e ventilado; proteção das vias respiratórias, olhos e mãos <sup>4</sup>
clorofórmio com aflatoxinas	lítio, sódio, sódio/metanol, acetona/ hidróxido de potássio ou de cálcio, hidróxido de sódio/metanol <sup>4</sup>	carcinogênico, teratogênico e mutagênico, asfixiante simples <sup>3</sup>	manuseio e armazenagem em local bem ventilado, proteção das vias respiratória, mãos e olhos, descrever no rótulo: resíduo carcinogênico <sup>3</sup>
o- toluidina	ácido nítrico, peróxidos e outros agentes oxidantes <sup>3</sup>	carcinogênico, tóxico, irritante aos olhos e em contato com a pele causa irritação. Em caso de ingestão causa metahemoglobinemia <sup>4</sup>	armazenagem em local bem ventilado e afastado de fontes de ignição e de calor, manter ao abrigo da luz, proteção das vias respiratória, mãos e olhos <sup>4</sup>
éter de petróleo	oxidantes fortes como peróxido de sódio, hidrogênio, cloro e bromo, ác. nítrico e perclórico <sup>3</sup>	inflamável, nocivo por inalação, contato ou ingestão provocando irritações <sup>4</sup>	medidas contra cargas eletrostáticas, evitar formação de vapores/aerossóis, proteção das vias respiratória e pele, manter em local ventilado, longe de fontes de ignição/calor, manter o frasco fechado (evitando formação de peróxidos) <sup>4</sup>

---

# Contribuição da concentração da amostra no diagnóstico microscópico da tuberculose

Regina Célia Ponce Silva FIGUEIREDO

Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Taubaté – Seção de Biologia Médica

Com o objetivo de verificar a contribuição da metodologia de concentração da amostra no diagnóstico da tuberculose pela microscopia, foram analisados seis artigos, cuja finalidade foi comparar os resultados da microscopia, no exame direto com os do concentrado, por sedimentação ou centrifugação. Quanto a metodologia de concentração das amostras, verificou-se que os autores utilizaram: a sedimentação e/ou centrifugação; soluções digestoras das amostras, como NaOCl a 5%, NaOH a 4% e N-acetilcisteína; a coloração de Ziehl-Neelsen para microscopia direta, conforme normas padronizadas internacionalmente. Os procedimentos de concentração na **centrifugação** foram: em um tubo de ensaio, com capacidade para 10 ml, digeriu-se a amostra de escarro volume a volume com a solução digestora, incubando-se por 15 minutos com agitação regular; completou-se o volume do tubo de ensaio com água destilada, centrifugou-se por 15 minutos a 2500 a 3000 rpm, desprezou-se o sobrenadante e com o sedimento fez-se o esfregaço em lâmina. Os procedimentos na **sedimentação** foram: em um tubo de ensaio digeriu-se a amostra de escarro volume a volume com a solução digestora, deixando em repouso por 15 a 18 horas, desprezou-se o sobrenadante e com o sedimento fez-se o esfregaço em lâmina.

A análise dos resultados de comparação da microscopia, no exame direto e no concentrado foi apresentada, por alguns autores, pelo rendimento em percentagem e por outros pela determinação da sensibilidade e especificidade. Na tabela 1, observa-se o número de amostras usado em cada estudo, a positividade e o rendimento da microscopia do **centrifugado** em relação ao exame direto; na tabela 2, verifica-se o número de amostras usado, a positividade e o rendimento da microscopia do **sedimento** em relação ao exame direto. De acordo com Miorner H, *et al* (1994), a sensibilidade na análise dos resultados da microscopia direta, foi de 31,0 % para o exame direto e 69,0 % para o centrifugado, obtendo-se um acréscimo de sensibilidade de 122,0 % para a microscopia do centrifugado.

Apesar da heterogeneidade quanto ao número de amostras investigadas em cada estudo, verificou-se que a positividade da microscopia no centrifugado (tabela 1) e no sedimento (tabela 2), geralmente foi superior ao do exame direto, com acréscimo de casos positivos, variando de 7 a 96%. Os autores chamam atenção para vários aspectos, como: a possibilidade de resultados falso positivos, decorrentes da

transferência de bacilos nos tubos manuseados e até mesmo a contaminação da água utilizada, por bacilos álcool ácido resistente saprófitas; resultados falso negativos, sabendo-se que a sensibilidade da microscopia é inferior à da cultura; recomenda-se a utilização da concentração, previamente à microscopia, para os laboratórios que não utilizam a cultura; o hipoclorito de sódio usado como digestor, traz vantagens em termos de biossegurança, diminuindo o risco de infecção intralaboratorial; a importância da concentração da amostra, em relação a densidade bacilar encontrada por campo na microscopia, a qual é facilitada em relação ao tempo necessário de leitura e qualidade do resultado em cruces. Por outro lado, apesar da concentração da amostra aumentar significativamente a sensibilidade da microscopia, observa-se que em qualquer dos procedimentos, existem vantagens e desvantagens. A escolha da metodologia dependerá das características de cada laboratório, quanto aos recursos disponíveis e as necessidades diagnósticas locais, considerando-se que em bacteriologia, os itens de treinamento, supervisão, boas práticas de laboratório e cuidados com a biossegurança devem ser uma preocupação constante.

## REFERÊNCIAS

1. Deun A.V. *et al*. Bleach sedimentation method for increased sensitivity of sputum smear microscopy: does it work?. **Int J Tuberc Lung Dis**, 4(4): 371-376, 2000.
2. Gebre N. *et al*. Improved microscopical diagnosis of pulmonary tuberculosis in developing countries. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 89: 191-193, 1995.
3. Habeenzu C.; Lubasi D.; Fleming A. F. Improved sensitivity of direct microscopy for detection of acid-fast bacilli in sputum in developing countries. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 92: 415-416, 1998.
4. Miorner H. *et al*. Diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Lancet**, 344: 127, 1994.
5. Miorner H. *et al*. Improved sensitivity of direct microscopy for acid-fast bacilli: Sedimentation as an alternative to centrifugation for concentration of tubercle bacilli. **J Clin Microbiol**, 34: 3206-3207, 1996.
6. Wilkinson D.; Sturm A.W. Diagnosing tuberculosis in a resource-poor setting: the value of sputum concentration. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 91: 420-421, 1997.

**Tabela 1.** Número da amostra, positividade e rendimento da microscopia do centrifugado em relação à do exame direto.

Autor	Nº da Amostra	Positividade da Microscopia		Rendimento do Centrifugado	
		Exame Direto	Centrifugado	Acréscimo caso	%
Deun A.V <i>et al</i> (2000)	1568	248	270	22	9,0
Gebre.N <i>et al</i> (1995)	234	24	47	23	96,0
Miorner H. <i>et al</i> (1996.)	545	92	114	22	24,0
Wilkinson D. & Sturm A. W.(1997)	330	29	41	12	41,0
Habeenzu.C. <i>et al</i> (1998)	488	66	116	50	75,0

**Tabela 2.** Número da amostra, positividade e rendimento da microscopia do sedimento em relação à do exame direto.

Autor	Nº da Amostra	Positividade da Microscopia		Rendimento do Sedimento	
		Exame Direto	Sedimento	Acréscimo caso	%
Deun A.V <i>et al</i> (2000)	3287	510	544	34	7,0
Miorner H. <i>et al</i> (1996.)	545	92	113	21	23,0

---

# Embalagens plásticas recicladas pós-consumo e o contato direto com alimentos

Maria Cecília Depieri NUNES\*; Maria Rosa da Silva de ALCÂNTARA\*; Lucia Tieco Fukushima MURATA\*; Neus Sadocco PASCUET\*\*

\* Seção de Embalagens e Correlatos da Divisão de Bromatologia e Química - Instituto Adolfo Lutz

\*\* Diretoria Geral do Instituto Adolfo Lutz

No Brasil não é permitido o uso de material reciclado para a elaboração de embalagens destinadas a entrar em contato direto com alimentos, a não ser o previsto na Portaria N° 987/98 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde que aprova o Regulamento Técnico para embalagens descartáveis de polietileno tereftalato - PET - multicamada destinadas ao acondicionamento de bebidas não alcoólicas carbonatadas, onde o material reciclado fica entre duas camadas de PET virgem, não entrando em contato direto com o alimento<sup>1</sup>.

Esta legislação estabelece que a espessura da camada de PET reciclado deve ser menor que 200 µm e que a espessura da camada de PET virgem, denominada de barreira funcional deve ser maior que 25 µm. Esta barreira funcional, sob condições normais e previsíveis de uso, deve reduzir a um nível toxicológico insignificante (threshold of regulation), definido em 0,5 ppb, a migração de substâncias de toxicidade desconhecida que possam estar presentes na camada intermediária do material reciclado, e que implicariam em um risco para a saúde humana ou em uma modificação inaceitável das características sensoriais dos produtos embalados<sup>1</sup>.

Na última década, os debates sobre meio ambiente têm atingido principalmente as indústrias de embalagens, uma vez que estas são consideradas prejudiciais para o meio ambiente, não só durante as etapas de transformação de matéria-prima e produção, mas principalmente pelo volume de resíduo sólido gerado por elas. Assim, o incentivo à recuperação e reciclagem de materiais e minimização do volume de resíduos encaminhados para os aterros, fazem parte de inúmeras legislações e projetos de lei em todo o mundo<sup>5</sup>. Neste sentido, vêm crescendo o interesse de fabricantes de alimentos e de embalagens, pelo uso de material plástico reciclado pós-consumo para a fabricação de novas embalagens destinadas a entrar em contato com alimentos.

Existem três tipos de materiais plásticos reciclados:

O primário, que é aquele que se realiza na fábrica, anterior ao primeiro consumo, constituído por recortes, fragmentos e peças defeituosas, adicionados ao granulado virgem em diferentes proporções. As embalagens obtidas por este processo são consideradas como polímero virgem<sup>2,3,6</sup>.

O secundário, de natureza físico-mecânica, que consiste no reprocessamento da embalagem plástica pós-consumo,

implica na fragmentação, lavagem, fusão e formação do novo material de embalagem. É importante salientar que para a obtenção deste novo material de embalagem o material reciclado deve sempre ser adicionado à uma certa quantidade de resina virgem. Este tipo de reciclagem só é aplicável a polímeros termoplásticos, que são os mais utilizados para embalagens de alimentos. Neste processo não acontece alteração do polímero base. Antes de fundir e reprocessar o polímero, os fragmentos ou a resina peletizada são lavados para eliminar os contaminantes. A efetividade desta etapa de lavagem é muito influenciada pelo tamanho dos fragmentos ou pelets. De fato, quanto menor o fragmento, mais efetiva será a lavagem, pois possui uma maior superfície de contato com o agente de lavagem<sup>2,3,6</sup>.

O reciclado terciário, também chamado de reciclado químico, consiste na despolimerização do material plástico pós-consumo, mediante um processo químico, com a finalidade de obter o monômero original. Este monômero volta a ser polimerizado para reconstituir o polímero e formar um novo material de embalagem. O monômero regenerado, o polímero, ou ambos podem misturar-se com material virgem. O processo de repolimerização pode compreender várias etapas de purificação, além das lavagens, tais como: destilação, cristalização e reações químicas adicionais. Todas estas etapas fazem com que esse processo, apesar de apresentar-se mais seguro em relação a riscos toxicológicos para a saúde humana, seja economicamente menos viável<sup>2,3,6</sup>.

O interesse dos fabricantes de embalagens é o do uso de materiais plásticos provenientes do reciclado pós-consumo secundário ou mecânico, por ser mais barato<sup>6</sup>. Entretanto, este procedimento deve ser exaustivamente discutido, uma vez que o uso deste material, pode conter uma série de compostos e contaminar os alimentos que vierem a entrar em contato com ele<sup>4,6</sup>. Este fato pode ocorrer devido ao reuso indevido da embalagem após o consumo do alimento nela embalado, ou seja, esta embalagem pode ter sido reutilizada para embalar produtos como: gasolina, pesticidas, desinfetantes, produtos de limpeza em geral, etc., que absorvidos pelo plástico podem vir a migrar para o alimento, quando estas embalagens, provenientes de material reciclado mecânico, forem utilizadas para embalar alimentos, uma vez que este tipo de reciclagem não garante a eliminação deste tipo de contaminação.

---

Para minimizar este risco ao consumidor, pela utilização deste tipo de material reciclado quando da elaboração de embalagens para alimentos, são necessárias algumas medidas como: conscientizar o consumidor em relação ao reuso e descarte da embalagem para finalidade alimentícia; elaborar um programa de coleta seletiva específico e efetivo; garantir que a qualidade do material reciclado seja compatível com as propriedades exigidas para a elaboração de embalagens destinadas a entrar em contato com alimentos; demonstrar através de estudos analíticos que os níveis dos possíveis contaminantes químicos presentes no material reciclado estejam dentro de limites seguros para o uso desses materiais em contato direto com alimentos.

## REFERÊNCIAS

1. BRASIL, Leis, Decretos, etc. Portaria 987/98 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Regulamento Técnico para Embalagens Descartáveis de Polietileno Tereftalato – PET – Multicamada destinadas ao acondicionamento de bebidas não alcoólicas carbonatadas. **Diário Oficial**, Brasília, DF, nº61-E, de 31 de mar. 1999. Seção I, pt. I, 30-31.
2. Bayer, F. L. Polyethylene terephthalate recycling for food – contact applications: testing, safety and technologies: a global perspective. **Food Additives and Contaminants**, 19: 111–134, 2002.
3. Food and Drug Administration **Points to consider for the use recycled plastics in food packaging: chemistry considerations**. Washington: FDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition; 1992. 9p.
4. Franz, R. et al. Recycling of post – consumer poly (ethylene terephthalate) for direct food contact application – a feasibility study using a simplified – **Deutsche Lebensmittel – Rundschau**, 94: 303–308, 1998.
5. Murata, L.T.F. et al. A embalagem e o meio ambiente. **Pack Tecnologia de Embalagem, Logística e Design** 40: 30, 2000.
6. Sadler, G.D. Recycling of polymers for food use: a current perspective. In: **American Chemical Society**, chapter 31: 380–388, 1995.

---

# Utilização de kits de imunoensaio para detecção de insetos e fragmentos de insetos em grãos e alimentos

Márcia Bittar ATUI

Instituto Adolfo Lutz - Divisão de Bromatologia e Química - Seção de Microscopia Alimentar

A presença de insetos e seus fragmentos, pêlos de roedores, bárbulas de penas de aves e outras sujidades em grãos e produtos alimentares são indicativos das condições sanitárias nas quais os produtos são armazenados e/ou processados. A detecção desses contaminantes representa um desafio constante para os cerealistas e para a indústria.

Os fragmentos de insetos encontrados nos alimentos são provenientes do exoesqueleto de insetos vivos ou mortos, particularmente partes do corpo e apêndices de larvas ou adultos presentes dentro dos grãos, pois as infestações externas são geralmente removidas durante o processo de limpeza do produto na indústria. Os testes para verificar a infestação por insetos em produtos armazenados têm que ter a capacidade de detectar quantidades mínimas de material pertencente aos insetos em grandes quantidades de outros materiais moídos. A alta seletividade dos ensaios imunológicos os torna bem adaptados a este objetivo <sup>4</sup>.

A miosina é uniformemente distribuída nas diferentes espécies de insetos e presente em grandes quantidades tanto nos músculos dos adultos como nos dos insetos imaturos e é o melhor indicador da presença de larvas dentro do grão, pois é menos variável que a contagem de fragmentos de insetos <sup>3,6</sup>.

Desta forma, foram desenvolvidos ensaios bioquímicos, baseados no teste de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) para acessar e quantificar a presença da miosina presente nos músculos dos insetos <sup>1,5,6</sup>. Esta técnica combina precisão e exatidão com repetibilidade, além de exigir um treinamento mínimo, e ser aplicável a uma grande variedade de produtos armazenados a baixo custo.

O método de ELISA usa anticorpo policlonal que reage extensivamente entre as várias espécies de insetos que infestam grãos, de modo que o total da infestação dos grãos e subprodutos pode ser determinado quantitativamente. Este método é um bom instrumento para análise de grãos e subprodutos infestados <sup>2</sup>.

O ensaio baseado em uma reação colorimétrica, fornece resposta consistente para a avaliação de uma grande quantidade de insetos. É altamente específico, requer pouco tempo para treinamento e custa menos que a análise para contagem de fragmentos de insetos <sup>6</sup>.

Para o desenvolvimento de um imunoensaio para uma proteína específica de um inseto de produto armazenado é

necessário um Anticorpo (Ac) diretamente contra a proteína ou Antígeno (Ag), que deve estar presente em grandes quantidades na maior parte da vida do inseto e nos fragmentos. Necessariamente, o Ac não deve dar reações cruzadas com nenhum material do grão. O melhor seria usar como Ag uma proteína que fosse vagarosamente reativa, assim, o Ac diretamente, contra a proteína de inseto específica de uma espécie, poderia reagir com a mesma proteína numa larga variedade de espécies de insetos. A miosina foi escolhida pois, está de acordo com estes critérios. Para o desenvolvimento do ensaio, a miosina de grilo, *Achaeta domestica* (Orthoptera: Gryllidae) foi utilizada, pois existem em grande quantidade na natureza e pode ser extraída facilmente, de seus músculos femurais. Segundo Quinn *et al.* <sup>6</sup>, o Ac diretamente contra a miosina do ortóptero daria uma resposta uniforme a uma grande variedade de pragas de produtos armazenados.

Para a elaboração do imunoensaio, as paredes dos poços das placas de plástico são imunizadas (revestidas internamente) com Ac policlonais. Quando uma alíquota do extrato de grão ou farinha é adicionada aos poços, qualquer material do inseto presente é seletivamente ligado ao Ac preso à parede dos poços. Após a lavagem para remover os materiais estranhos da planta, um segundo Ac que é conjugado com uma enzima é adicionado e se liga seletivamente à miosina presente. Após nova lavagem, um substrato específico para a enzima é adicionado para que ocorra a produção de cor. A cor desenvolvida e sua intensidade são proporcionais à quantidade de miosina presente na alíquota avaliada, correlacionando bem com a massa muscular do inseto presente na amostra de trigo ou farinha. Existe correlação entre a quantidade de miosina e o número de insetos e fragmentos de insetos presentes na amostra.

Os imunoensaios oferecem vantagens em relação às metodologias convencionais para detectar a infestação por insetos em produtos alimentícios, pois podem ser usados em alimentos *in natura* ou processados, permitem analisar um grande número de amostras de uma só vez no laboratório ou poucas amostras em silos ou armazéns. O teste de ELISA detecta todas as pragas de produtos armazenados nos diversos grãos (trigo, milho, aveia, cevada, soja, sorgo e arroz) e em vários produtos alimentícios (amendoim, amêndoas, frutas secas e especiarias). Assim, este teste representa uma ferramenta versátil e precisa para a detecção destes insetos em grãos e seus subprodutos.

---

As técnicas de imunoensaio utilizando reagentes marcados para a detecção de Ag e Ac são extremamente sensíveis e econômicas no uso de reagentes. Os ensaios com anticorpos de fase sólida, com ligantes marcados com isótopos radioativos ou enzimas são, provavelmente, os métodos imunológicos mais amplamente utilizados, pela possibilidade de se realizar vários testes simultaneamente em um período de tempo relativamente curto. Neste imunoensaio tipo sanduíche podem ser testadas ao mesmo tempo mais de 24 amostras em duplicata em aproximadamente 2 horas e meia.

O teste requer equipamentos modestos, sendo que o de custo maior é a leitora de absorbância que varia de US\$ 2.000,00 a US\$ 6.000,00. O pessoal técnico pode ser treinado com eficiência em poucos dias <sup>5</sup>.

Enquanto outros métodos para pesquisa de insetos e fragmentos de insetos vem sendo usados há muitos anos, poucos trabalhos foram publicados utilizando o método de ELISA, portanto mais pesquisas se fazem necessárias para o aprimoramento desta técnica.

## REFERÊNCIAS

1. Bair, J.; Kitto, G.B. New methods for rapid determination of insects in grain. **Proceedings of GEAPS Exchange' 92, 63<sup>rd</sup> International Technical Conference & Exposition of GEAPS**, pp: 85-94, 1992.
2. Chen, W.M.; Kitto, G.B. Species-specific immunoassay for *Sitophilus granarius* in wheat. **Food & Agricultural Immunology**, 5: 165-175, 1993.
3. Flinn, P.W. ; Hagstrum, D.W. Augmentative releases of parasitoid wasps in stored wheat reduces insect fragments in flour. **Journal of Stored Product Research**, 37: 179-186, 2001.
4. Kitto, G.B.; Quinn, F.A.; Burkholder, W.E. Development of immunoassays for quantitative detection of insects in stored products. **Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Working Conference on Stored-product Protection**. Volume I, 415-420, 1992.
5. Kitto, G.B.; et al. Immunoassays for detecting insect contamination of foods products. In: **Immunoassays for Residue Analysis: Food Safety**. R.C. Beier and L.H. Stanker (eds.) Washington, DC, Americal Chemical Society, 1996.
6. Quinn, F.A.; Burkholder, W.; Kitto, B. Immunological technique for measuring insect contamination of grain. **Journal of Economic Entomology**, 85: 1463-1470, 1992.

---

# Tricotecenos e a guerra biológica

Thais Valéria MILANEZ

Instituto Adolfo Lutz Central – Divisão de Bromatologia e Química – Seção de Química Biológica

Tricotecenos são micotoxinas produzidas por várias espécies de *Fusarium*. Algumas ocorrem naturalmente em grãos como trigo e milho. Entre elas estão o desoxinivalenol (DON), o nivalenol (NIV), o diacetoxiscirpenol (DAS) e as toxinas T-2 (T2) e HT-2 (HT2). A maior parte deste grupo é potencialmente irritante dérmico, provoca inflamação e apresenta toxicidade aguda e crônica em diversos animais de laboratório testados<sup>1,4</sup>. A toxina T2 é considerada a mais tóxica deste grupo e esta relacionada à aleucia tóxica alimentar (ATA)<sup>1</sup>. Esta doença matou milhares de pessoas que comeram alimentos (pães) feitos com cereais invernados durante a 2ª Guerra Mundial. Ela se caracteriza inicialmente por uma sensação de queimadura na boca, esôfago e estômago, seguida por vômito, diarreia e dores abdominais, seguido de uma baixa dos leucócitos, agranulopenia e linfocitose acompanhada de hemorragia nas partes superiores do corpo (braços, rosto, tórax), podendo ocorrer convalescença ou morte<sup>2,3</sup>.

Intoxicação natural por tricotecenos sem ser causada por ingestão de grãos, rações ou alimentos contaminados foi relatada a partir de 1975, com os ataques químicos no Sudoeste Asiático. Há relatos de que micotoxinas foram utilizadas na forma de aerossol por ocasião da guerra no Vietnã e Laos (1975-81), Kampuchea (1979-81) e no Afeganistão (1979-81). Estes ataques ficaram popularmente conhecidos como “chuva amarela” e alega-se que provocaram mortes de cerca de 10.000 cidadãos destes países<sup>3</sup>.

Foi no Laos que surgiu o termo “chuva amarela”, pois segundo testemunhas era um aerossol de um líquido amarelo pegajoso que por vir do alto, do céu, parecia como uma chuva que estava associado ao pigmento amarelo. Outros chegaram a descrever como uma nuvem de pó, fumaça ou mesmo como um aerossol para matar insetos. Os sintomas apresentados pelas vítimas sugeriram substâncias químicas, podendo ser uma única ou uma mistura de substâncias incluindo tricotecenos (T2), sarin, mostarda e BZ, entre outros. Os sintomas relatados eram vômito, diarreia, hemorragia e irritação dérmica. Análises de amostras do pó amarelo efetuadas por laboratórios norte-

americanos independentes acusaram a presença de T2, DAS e zearalenona, outra micotoxina de *Fusarium*. O Departamento de Estado Americano colheu amostras diversas como folhas, raspas de rocha, água, solo, grãos de arroz e milho, sangue, urina e tecidos das vítimas. Nas amostras de folhas foram encontradas DON, NIV e T2 e no pó amarelo foi encontrado T2 e DAS. Algumas amostras de sangue e tecidos continham toxinas T2 e HT2 e numa das amostras de tecido também foi encontrado DAS<sup>2</sup>. O fato de se encontrar estas toxinas em grandes quantidades e em tecidos e sangue, várias semanas após à exposição, indica que de alguma forma os tricotecenos se ligam ao organismo, seja pelos ribossomos, pela glutadiona ou ainda a proteínas como a albumina. A contaminação natural foi descartada pois um fungo bom produtor de DON não produziria nem DAS nem T2, quando muito produziria NIV. Isto sem contar as elevadas quantidades encontradas nas regiões sob ataque e a ausência nas regiões não atacadas. Desta forma ficou caracterizado o uso de tricotecenos como armas de guerra<sup>2</sup>.

Os tricotecenos já haviam sido supostamente utilizados em 1964 no ataque egípcio (ou russo) no Iemem e em combinação com mostarda na guerra Irã-Iraque em 1983-84. Fontes européias afirmaram que forças soviético-cubanas estavam equipadas com micotoxinas, e ainda que um agente cubano havia morrido de síndrome hemorrágica induzida por uma micotoxina<sup>3</sup>.

Das centenas de tricotecenos é a toxina T2 a mais referida como arma em uma guerra biológica. Sabe-se que esta toxina provoca grande irritação na pele e mucosas e o contato direto pode levar à extensa inflamação, chegando a durar de 1 a 2 semanas e, conseqüente necrose do tecido. Em animais de laboratório a exposição tópica pode levar a uma intoxicação sistemática e morte<sup>1,4</sup>. Os tricotecenos podem penetrar no corpo humano seja por inalação, por ingestão ou por contato dérmico, tudo leva a crer que a inalação (aerossol) é forma mais utilizada na guerra. Além do mais os tricotecenos não são afetados pela luz e radiação ultravioleta, o que significa que eles podem ser facilmente estocados<sup>3</sup>.

---

A intoxicação por tricotecenos não tem antídoto, ela deve ser evitada utilizando-se máscaras e roupas protetoras. E há rumores de que foram encontrados em dependências iraquianas pelos inspetores que compõe a Comissão Especial das Nações Unidas<sup>3</sup>.

## REFERÊNCIAS

1. IARC. Some naturally occurring substances; food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. **IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human**, v. 56, Lyon: IARC,1993, p.467-488.
2. Mirocha, C.J.; et al. W. Analysis for *Fusarium* toxins in various samples implicated in biological warfare in Southeast Asia. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 66(6): 1485-1499, 1983.
3. Wannemacher, R.W.; Wiener, S. In: **Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare Textbook of Military Medicine**. F.R. Sidell; E.T. Takafugi; D.R. Franz (eds.) 1997. Office of the Surgeon General at TMM Publications, Washington, EUA. Trichothecene Mycotoxins cap.34.p.655-676 in Medical management of biological casualties handbook – History and significance [www.nbc-med.org/ie40/Default.html](http://www.nbc-med.org/ie40/Default.html) em 11/05.2003.
4. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Environmental Health Criteria 105. **Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichothecenes, Ergot**. IPCS (International Programme on Chemical Safety). Geneva: World Health Organization.1990, cap.2, p. 71-164.

# Legislação sobre o iodo no sal e o combate ao bócio endêmico no Brasil

Neusa V. V. SILVEIRA e Emy TAKEMOTO

Instituto Adolfo Lutz - Central - Divisão de Bromatologia e Química - Serviço de Alimentos

**1952** – Em 29 de março, o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), aprovado pelo Decreto 30.691 regulamenta o sal para uso industrial estabelecendo limites para o teor de cloreto de sódio, insolúveis totais em água e turbidez, bem como exigindo ausência de substâncias estranhas à composição do sal (não faz referência à iodação do sal).

**1953** – Lei nº 1944 de 14 de agosto da Presidência da República – Torna obrigatória a iodetação do sal destinado ao consumo alimentar nas regiões bocígenas do País, na proporção de 10 mg (miligramas) de iodo por quilograma de sal, adicionado em forma de iodeto.

**1955** – Foi realizado o 1º inquérito nacional de prevalência do bócio conduzido pela Divisão de Organização Sanitária do Departamento Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, no qual foi constatado que o bócio era endêmico em alguns estados brasileiros. Foram avaliados 86.217 escolares e detectada a prevalência do bócio em 20,7% desses jovens.

**1956** – Decreto nº 39.814 de 17 de agosto da Presidência da República – Delimitou a área bocígena do País, dispondo sobre o uso do sal iodetado.

Para os efeitos da Lei nº 1944 de agosto de 1953, considerava-se como integrantes da zona bocígena no País, segundo os dados levantados pela Divisão de Organização Sanitária do Departamento Nacional de Saúde do Ministério da Saúde os seguintes **Estados**: Mato Grosso, Bahia, São Paulo, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Distrito Federal, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e Santa Catarina. E os **Territórios**: Acre e Guaporé (Roraima), como mostra a Figura 1.

O mesmo Decreto declarava, que a partir de 1º de janeiro de 1958 a obrigatoriedade da iodação do sal deveria ser aplicada nos Estados onde fossem constatados casos de Bócio Endêmico.

O Ministério da Saúde e o Instituto Nacional do Sal iniciaram a fiscalização aos estabelecimentos que preparavam o sal iodado colhendo amostras “in loco” para as devidas análises.

**1957** – A Resolução nº 25 de 19 de dezembro do Instituto Brasileiro do Sal, reitera a adição de iodo no sal na proporção de 10 mg de iodo elementar por quilo, com tolerância de 50% para mais.

A mesma Resolução estabelecia especificações para o sal refinado. Definia, classificava e estabelecia parâmetros para teor de cloreto de sódio (NaCl), insolúveis totais na água, substâncias orgânicas, umidade, turbidez e citava exame microscópico e microbiológico.



Figura 1: Área bocígena no País.

**1974** – Lei nº 6150 de 03 de dezembro da Presidência da República – Dispõe sobre a obrigatoriedade da iodação do sal refinado e moído para consumo humano em todo território Nacional e seu controle pelos órgãos sanitários.

Esta foi uma medida profilática confirmando o mesmo limite de 10 mg de iodo metalóide por quilograma de sal, e cita a adição do iodato de potássio ( $KIO_3$ ) o que vai simplificar muito o método de análise para determinação do iodo no sal.

Entretanto, esta Lei não estabelece parâmetros máximos e mínimos para a quantidade de iodo adicionada ao sal. O valor exato de 10 mg/Kg de iodo no sal é de difícil execução quando do processo de adição do iodo.

**1975** – Novo inquérito foi realizado pela SUCAM (Superintendência de Campanhas de Saúde Pública) do Ministério da Saúde com avaliação de 421.752 escolas, com idade entre 7 e 14 anos.

---

O resultado deste inquérito indicava que houve uma diminuição da prevalência de bócio de apenas 6,5% em 20 anos. De acordo com esse levantamento, estimava-se que cerca de 15 milhões de brasileiros eram portadores de bócio.

**1982** – O Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN) do Ministério da Saúde em conjunto com a SUCAM propõem uma enérgica ação profilática estabelecendo novas diretrizes para o combate ao Bócio Endêmico, depois de suspensos no País o controle de iodação no sal desde 1974.

Com o apoio do Ministério da Saúde, foram estabelecidas diretrizes para esta ação, destacando-se:

- estudo de uma faixa ideal do teor de iodo no sal, uma vez que a Organização Mundial da Saúde (OMS) havia prescrito como ideal para um programa de iodação, uma média de 40+/-10mg/Kg de iodo no sal.

- doação de equipamentos para iodação do sal, simples e eficiente para pequenos moageiros.

- fornecimento às indústrias salineiras do iodato necessário para sua produção.

Uma estreita colaboração entre INAN/SUCAM/EMPRESAS se encarregou de implementar todos os pontos desse programa, com as seguintes atuações:

- INAN – Coordenação de todo o programa, colheita mensal de dados analíticos de todo o Brasil, relatórios, controle da distribuição do iodato de potássio de acordo com a produção de cada usineiro, programação de reuniões necessárias e outras atribuições inerentes a Coordenação.

- SUCAM – Controle da adição de iodo através de análises do teor em amostras colhidas dentro das usinas.

- EMPRESAS – Efetiva participação em reuniões, total aceitação da importância da iodação e de todo trabalho da equipe, conscientização da necessidade de providenciar espaço para o analista da SUCAM trabalhar no controle do iodo em amostras do seu sal, apoiando-se no que fosse necessário.

**1984** – Foi editada a Portaria 03, de 23 de fevereiro da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, que passou a exigir de 10 a 30 mg/Kg de iodo no sal refinado ou moído, destinado ao consumo humano.

Depois de 1986 pode-se afirmar que 98% do sal consumido no Brasil era iodado, graças ao trabalho do INAN, SUCAM e apoio das Empresas (ABERSAL – Associação Brasileira de Extratores e Refinadores de Sal).

**1994** – Pela Portaria n° 2165, de 29 de dezembro do Ministério da Saúde, o denominado PCBE (Programa de Combate ao Bócio Endêmico) foi reestruturado e recebeu nova denominação: PNCCDI (Programa Nacional de Combate aos Distúrbios das Deficiências de Iodo).

Essa Portaria também estabeleceu linhas básicas para novas diretrizes no controle do bócio.

A SUCAM passou a pertencer à Fundação Nacional da Saúde, mas continuou com as mesmas atribuições dentro do PNCCDI. Também em 1994, foi publicada a Portaria n° 1806, de 24 de outubro do Ministério da Saúde, considerando somente próprio para o consumo o sal contendo 40 a 60 mg de iodo metalóide por quilo de sal.

**1996** – A Portaria n° 1298, de 27 de junho do Ministério da Saúde – Instituiu um Grupo Técnico-Executivo, sob coordenação do Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN) formado por representantes do INAN, da Fundação Nacional da Saúde (FNS) e da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS), com a finalidade de planejar, coordenar, supervisionar e controlar as atividades do Programa em nível nacional.

**1997** – A Portaria n° 2283, de 24 de julho da Presidência da República - dispõe sobre a extinção do Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição – INAN, não tendo sido proposta nova reestruturação para o programa. A coordenação do PNCCDI passou a ser responsabilidade do Centro Nacional de Epidemiologia da Fundação Nacional da Saúde com apoio da Secretaria de Políticas de Saúde e Vigilância Sanitária.

**1998** – Portaria n° 741, de 16 de setembro da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVS publicada para vigorar por 30 dias permitindo a produção e venda para o consumo humano do “sal marinho”, que não deveria conter aditivo, portanto não seria iodado e sem padrão de identidade e qualidade específico por ser considerado produto natural.

A Portaria n° 816 de outubro de 1998 da Secretaria da Vigilância Sanitária e depois a Resolução n° 112 de 20 de maio de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde, continuaram prorrogando o prazo para vigência desse tipo de sal por mais 60 dias. Após esse período a Portaria n° 741 teve sua vigência expirada, sendo que o sal marinho passou a obedecer a legislação que se refere a iodação do sal para consumo humano.

**1999** – Houve reuniões para retomada de um novo programa sobre a iodação do sal. O Governo providenciou a doação do iodato de potássio para adição ao sal por mais tempo até que se reorganize o Programa Nacional para iodação do sal. Entretanto, não foi instituída comissão governamental com atribuições definidas para o Combate aos Distúrbios das Deficiências de Iodo - CDDI, depois da extinção do INAN.

Também nesse mesmo ano foi publicada a Portaria n° 218, de 24 de março do Ministério da Saúde, a qual resolve que somente será considerado próprio para o consumo humano, o sal que

---

contiver teor igual ou superior a 40 miligramas até o limite máximo de 100 miligramas de iodo por quilograma do produto. A mesma Portaria revoga as disposições em contrário, especialmente a Portaria nº 1806 de 24 de Outubro de 1994 do Ministério da Saúde. Essa Portaria vem garantir um teor ideal de iodo no sal, contribuindo também para superar os problemas técnicos de homogeneização do iodato ao sal.

Em 11 de novembro desse ano, foi publicada a Portaria nº 1328 do Ministério da Saúde, e criou-se a comissão interinstitucional para o CDDI, composta por representantes: da Secretaria de Política de Saúde do Ministério da Saúde, da Secretaria Executiva do Ministério da Saúde, da Fundação Nacional da Saúde, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, da Secretaria de Desenvolvimento Rural do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, da Vigilância Sanitária do Rio Grande do Norte, da Vigilância Sanitária do Rio de Janeiro, da Associação Brasileira de Extratores e Refinadores de Sal, do Sindicato dos Moageiros e Refinadores de Sal do Rio Grande do Norte, do Sindicato da Indústria de Refino de Sal do Rio de Janeiro e do Sindicato da Indústria de Extração de Sal do Rio Grande do Norte.

As atribuições dos representantes do Governo estavam bem definidas e abrangentes no que se refere ao controle dos

distúrbios por deficiência de iodo.

Para os demais representantes, as atribuições foram conjuntas. Competia a eles o cumprimento da Portaria.

Foi assinado convênio entre o Serviço Brasileiro de Apoio a Micro Empresas (SEBRAE) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para implantar um programa intitulado de “Boas Práticas de Fabricação”.

**2000** – Pela Resolução nº 28, de 28 de março, a ANVISA aprovou o Regulamento Técnico de Procedimentos Básicos de Boas Práticas de Fabricação e Roteiro de Inspeção Sanitária em Estabelecimentos de Sal, onde se inclui a iodação do produto.

**2003** – Resolução RDC nº 130, de 26 de maio da ANVISA/MS – Dispõe sobre o teor de iodo que deve conter o sal destinado ao consumo humano. Considerando a necessidade do setor produtivo de que o limite máximo do teor de iodo exceda em três vezes o limite mínimo, face as características do beneficiamento do sal no que se refere à etapa de iodação, a Diretoria Colegiada adota como próprio para o consumo o sal que contiver teor igual ou superior a 20 mg (vinte miligramas) até o limite máximo 60 mg (sessenta miligramas) de iodo por quilo de produto. Esta Resolução entrou em vigor dentro do prazo de 90 dias a contar da data de publicação. Tempo para a adequação dos produtores.

---

# Determinação de cloretos em presença de fosfatos

Iracema A. KIMURA ; Janete ALABURDA; Maristela S. MARTINS

Instituto Adolfo Lutz – Divisão de Bromatologia e Química – Serviço de Química Aplicada

Misturas estabilizantes a base de fosfatos e cloretos, entre outras substâncias, são normalmente utilizadas na fabricação de produtos cárneos industrializados. O cloreto de sódio em altas concentrações inibe tanto o crescimento microbiano como a atividade das enzimas endógenas da carne, prolongando a sua vida útil. A adição de fosfatos aumenta a capacidade de retenção de água do produto, aumentando a produção e tornando-o mais seco e firme, além de reduzir o “encolhimento” de produtos defumados e a perda de suco de produtos enlatados. Ainda, o aumento da capacidade de retenção de água produz uma emulsão mais estável em temperaturas mais elevadas. Níveis muito altos de fosfatos podem causar o aparecimento de sabores desagradáveis, semelhante ao sabão. Normalmente são empregados os sais de sódio ou de potássio do tripolifosfato, hexametáfosfato e pirofosfato.

A técnica mais usual para a determinação de cloretos é a sua reação com íons prata; porém dependendo das condições do meio, estes íons também reagem com os fosfatos. O objetivo deste trabalho foi encontrar a metodologia mais adequada para a determinação de cloretos em presença de fosfatos. Desta forma foi realizado um estudo comparativo entre os métodos de Mohr, Volhard e potenciométrico com eletrodo íon-seletivo de prata.

Para a avaliação destes métodos foram preparadas misturas padrões de cloretos (cloreto de sódio) e fosfatos (pirofosfato de sódio, hexametáfosfato de sódio e tripolifosfato de sódio), respectivamente, nas proporções 80:20; 60:40; 40:60 e 20:80. Massas precisas destes padrões foram dissolvidas em água destilada e foram tituladas segundo os procedimentos descritos a seguir:

- a. Método de Mohr: titulação com solução de  $\text{AgNO}_3$  0,100 moles/L e indicador cromato de potássio a 10%;
- b. Método de Volhard: precipitação dos cloretos com volume conhecido de solução de  $\text{AgNO}_3$  0,100 moles/L em meio ácido com posterior filtração da solução. Titulação do excesso de íons prata com solução de  $\text{KSCN}$  0,100 moles/L e indicador sulfato férrico amoniacal a 40%;
- c. Método potenciométrico: titulação com solução de  $\text{AgNO}_3$  0,100 moles/L em meio ácido usando potenciômetro digital (Mettler Toledo 355) com eletrodo íon-seletivo de prata.

Foram analisadas em conjunto 5 amostras comerciais de misturas de estabilizantes para produtos cárneos previamente incineradas em mufla a  $550^\circ\text{C}$ , seguindo o mesmo procedimento utilizado para as misturas padrões.

Na Tabela 1 encontram-se os valores médios e os desvios padrão ( $n = 5$ ) referentes aos teores de cloretos (em porcentagem) para as amostras padrões e na Tabela 2 para as amostras comerciais obtidos pelos métodos de Volhard e potenciométrico.

A quantificação de cloretos pelo método de Mohr não apresentou resultados satisfatórios, pois em pH neutro os fosfatos também reagem com os íons prata, dificultando a visualização do ponto de viragem. No caso do método de Volhard e potenciométrico a titulação ocorre em meio ácido eliminando a interferência dos íons fosfatos. A partir dos resultados obtidos para as misturas padrões e as amostras comerciais, conclui-se que estes dois métodos são indicados para a análise destas misturas estabilizantes, uma vez que não houve variação significativa entre os resultados experimentais.

**Tabela 1.** Valores médios e desvios padrão (n = 5) referentes aos teores de cloretos (em porcentagem) para as amostras padrões obtidos pelos métodos de Volhard e potenciométrico.

% NaCl	Volhard			Potenciométrico		
	Pirofosfato de sódio	Hexametafosfato de sódio	Tripolifosfato de sódio	Pirofosfato de sódio	Hexametafosfato de sódio	Tripolifosfato de sódio
80	77,85 ± 0,22	80,85 ± 0,71	70,00 ± 1,51	79,66 ± 0,63	78,99 ± 0,60	80,01 ± 2,19
60	58,86 ± 0,35	61,39 ± 0,30	60,52 ± 0,67	59,74 ± 0,40	60,07 ± 0,51	61,21 ± 1,29
40	38,86 ± 0,10	40,80 ± 0,21	39,98 ± 0,61	39,73 ± 0,46	40,52 ± 0,38	39,82 ± 0,97
20	19,07 ± 0,14	20,42 ± 0,25	19,79 ± 0,52	19,90 ± 0,24	19,88 ± 0,21	20,44 ± 0,79

**Tabela 2.** Teores de cloretos (em porcentagem) para as amostras comerciais obtidos pelos métodos de Volhard e potenciométrico.

Método	Amostra				
	1	2	3	4	5
Volhard	31,55	17,13	38,20	31,50	13,30
Potenciométrico	31,57	17,36	38,55	32,03	13,67

---

# A influência da força iônica nas medidas de pH através de eletrodo de vidro combinado.

Jaim LICHTIG

Instituto Adolfo Lutz Central – Divisão de Bromatologia e Química

A clássica medida de pH de soluções com eletrodo de vidro pode apresentar problemas quanto à exatidão quando avaliamos a força iônica na solução. O efeito da força iônica nas soluções foi descoberto por Debye e Huckel<sup>1</sup> e consta do efeito eletrostático de íons inertes sobre os íons H<sup>+</sup>. Assim, em uma solução contendo, por exemplo, ácido clorídrico 0,01M, o pH da solução, ao ser medido, deve apresentar valor 2,0. Porém, se nessa solução houver também NaCl 0,1M, o pH medido não será 2,0, mas um valor relativamente menor. Outro exemplo: a água pura deve apresentar pH 7,0, mas, se tivermos na solução NaCl, o pH lido será abaixo de 7,0, dependendo da concentração deste sal. Ressalte-se que cloreto de sódio não sofre hidrólise, tratando-se apenas de forças de atração entre os íons, o que pode modificar as leituras junto ao eletrodo de vidro, devido às interações eletrostáticas entre moléculas de água, prótons e íons sódio e cloreto. Assim, se calibrarmos o pHmetro e, a seguir, formos ler o pH de uma solução desconhecida, nada sabemos da concentração de íons estranhos, isto é, nada sabemos da força iônica da solução. Em termos práticos, já constatamos que o efeito existe, mas não é tão significativo, isto é uma solução de NaCl 0,1M apresenta leitura de pH ao redor de 6,96 e uma solução de NaCl 0,2M apresenta pH 6,70. Como se percebe, o efeito não é tão pronunciado, mas interfere. Outros sais cujos íons não sofrem hidrólise, como sulfato de sódio e nitrato de sódio apresentam efeito análogo, mas não igual. Isto nos remete à simples equação de Debye-Huckel que indica a força iônica da solução, pela qual o valor da força iônica da solução seria a somatória do produto da concentração de cada íon multiplicado pela sua carga elevada ao quadrado.

Esta simples expressão pode ser vista abaixo.

$$\mu = 1/2 \sum C_i z_i^2$$

Assim, uma solução de NaCl 0,1M apresenta íon sódio 0,1M e íon cloreto 0,1M. Aplicando-se a expressão acima tem-se 0,1 + 0,1 = 0,2 na somatória que, divididos por 2, fornecem o valor de 0,1. Notar que a expressão é aplicada a cada íon. Uma solução de sulfato de sódio 0,04M deve apresentar força iônica 0,12, bastante próxima à da solução de cloreto de sódio mencionada acima. Assim, pelas informações sobre o uso da fórmula acima, os efeitos de ambas soluções acima mencionadas deveriam ser idênticos. Contudo, verificou-se que, apesar das duas soluções terem, praticamente, a mesma força iônica, os respectivos valores de pH de ambas são diferentes. Os estudos prosseguem no sentido de se abranger mais todos os tipos de sais neutros eventualmente presentes em solução cujo pH deseja-se medir. Com esse efeito presente em todas as soluções, torna-se questionável a necessidade de se ler o pH de uma solução com três dígitos após a vírgula, ficando evidente a precisão e exatidão na segunda casa após a vírgula.

## REFERÊNCIAS

1. Debye, P. and Huckel, H. in Meites, L. – **Handbook of Analytical Chemistry**, Mc.Graw Hill Ed., 1963.

# Hemoglobina Glicada - Sua importância no controle do Diabetes Mellitus

Fabiana Soares RAMOS; Regina Maria CATARINO; Jerenice Esdras FERREIRA; Rosângela Andréa BORIOLI  
Instituto Adolfo Lutz - Central - Divisão de Patologia - Seção de Análises Clínicas

A hemoglobina glicada (Hb Glic) é a adição não enzimática de resíduos de açúcar (ex. glicose) à amino agrupamentos de proteína.

A Hb Glic é praticamente irreversível, portanto, só desaparece do sangue com a morte da hemácia, podendo seus níveis médios glicêmicos serem detectados no período de 2 a 3 meses. O achado desses valores indica o controle metabólico do paciente nestas semanas precedentes ao teste, enquanto a glicose sanguínea reflete o controle somente das 24 horas antecedentes a coleta.

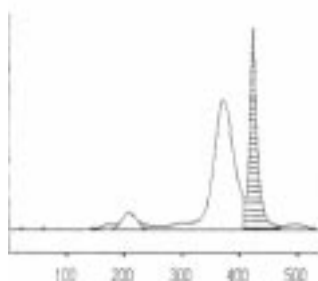
A interpretação da Hb Glic depende de alguns fatores que podem interferir na sua concentração, como, a meia-vida das hemácias, etilismo crônico, presença de componentes intermediários lábeis da Hb Glic e indivíduos portadores de hemoglobinopatias.

A Associação de Diabetes (ADA) publicou recentemente padrões de tratamento para pacientes com diabetes, onde os níveis de concentração de Hb Glic são de fundamental importância, sendo considerados como níveis normais valores inferiores a 6% e satisfatórios para pacientes diabéticos valores inferiores a 7%.

A Hb Glic não é recomendada para diagnóstico de Diabetes Mellitus, e sim para um controle a longo prazo dos níveis de glicemia.

A Seção de Bioquímica, do Instituto Adolfo Lutz,

Peak	RT	Result
HbA1ab		2,5% (% of HbA)
HbA1c	205	7,8% (% of HbA)
HbA1		10,1% (% of HbA)
HbA0	371	
HbS	424	31,9% Hb Variant



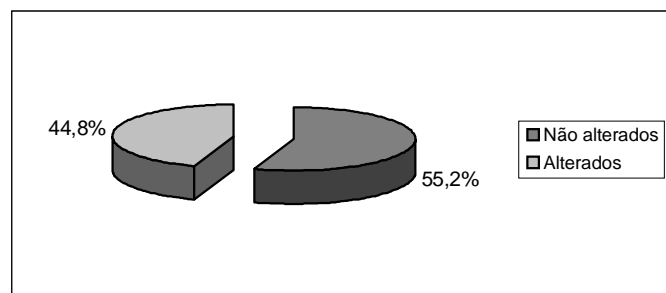
**Figura 1.** Resultado de Hb Glic pela técnica de HPLC, indicando a presença de Hb S

emprega atualmente como rotina a metodologia padronizada segundo as normas do NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program), utilizando um aparelho automatizado, que emprega a técnica de cromatografia de baixa performance (LPLC) em coluna de troca iônica, que tem uma vantagem sobre as demais referindo-se às interferências decorrentes da presença de hemoglobinas variantes, como por exemplo a HbS, inclusive indicando a presença das mesmas. (figura 1)

Estudos realizados pelo “Diabetes Control and Complications Trial” (DCCT) e do “United Kingdom Prospective Diabetes Study” (UKPDS) mostraram que quanto mais baixo os valores de Hb Glic, maior as chances de se prevenir o desenvolvimento de complicações decorrentes de Diabetes, como alterações vasculares ou neurológicas decorrentes do descontrole glicêmico, como por exemplo a retinopatia diabética, hipertensão arterial, nefropatia diabética, entre outras.

Foram realizadas em 2002, na Seção de Bioquímica, do Instituto Adolfo Lutz, 1703 dosagens de hemoglobina glicosilada, sendo que 44,8% destas apresentaram concentrações acima dos valores de referência. (figura 2)

Foi observado que cerca de 50% das amostras analisadas apresentaram valores superiores aos valores de referência, o que nos mostra a importância da análise, na prevenção e controle das complicações do DM na população.



**Figura 2.** Porcentagem de Hb Glic alterada no ano de 2002

---

# Anticorpos antitireoidianos – auxílio diagnóstico nas tireoidites autoimunes

Fabiana Soares RAMOS; Rosângela Andréa BORIOLI  
Instituto Adolfo Lutz-Central – Divisão de Patologia – Seção de Análises Clínicas

A doença autoimune da tireóide é a principal causa do hipotireoidismo e hipertireoidismo. Geralmente ocorre em populações geneticamente predispostas devido ao desenvolvimento de autoanticorpos pelo sistema imunológico contra uma ou mais proteínas das células tireoidianas. Dentre as doenças autoimunes tireoidianas a tireoidite de Hashimoto é a causa mais freqüente de hipotireoidismo, afetando cerca de 5% da população adulta, com maior incidência no sexo feminino e a doença de Graves, a causa mais freqüente de hipertireoidismo.

O auxílio diagnóstico para o acompanhamento clínico das doenças autoimunes tireoidianas pode ser efetuado através

da determinação dos autoanticorpos tireoidianos. Atualmente os mais pesquisados são: antitireoperoxidase (anti-TPO), antitireoglobulina (anti-Tg) e anticorpos anti-receptores de TSH (TRAb). As metodologias mais empregadas são: fluorimetria por tempo resolvido, imunofluorescência e quimioluminescência. Estas metodologias tem como princípio a utilização de anticorpos marcados. Tendo em vista que pacientes portadores de outras desordens autoimunes como Síndrome de Sjögren, Lúpus Eritematoso Sistêmico, Artrite Reumatóide e Anemia Perniciosa, também podem apresentar anticorpos anti-Tg positivos, recomenda-se para a investigação diagnóstica a pesquisa associada desses autoanticorpos.

---

# Viabilidade das cepas de micobactérias conservadas à temperatura ambiente e à $-70^{\circ}\text{C}$

Adriana H. WATANABE, Roseli A. CREDIDIO, Carmen Maria S. GIAMPAGLIA, Maria Conceição MARTINS, Lucilaine FERRAZOLI, Suely Y.M. UEKI.  
Instituto Adolfo Lutz – Divisão de Biologia Médica - Setor de Micobactérias

O desenvolvimento de métodos para a manutenção de cepas de microrganismos tem sido muito valorizado nesta última década, pois desta dependem as pesquisas genéticas e o conhecimento da biodiversidade. Além disso, o laboratório clínico que utiliza cepas em suas análises deve manter uma coleção de culturas para eventuais esclarecimentos de diagnóstico ou epidemiologia. O método de manutenção deve ser escolhido conforme a necessidade e as condições disponíveis no local. Existem diversos métodos já padronizados para manutenção de cepas bacterianas, entre eles: subcultivo em meios de culturas apropriados, secagem a vácuo, liofilização e congelamento entre  $-20^{\circ}\text{C}$  e  $-196^{\circ}\text{C}$  <sup>1,2</sup>.

O objetivo deste estudo foi verificar a viabilidade das cepas de micobactérias do Setor de Micobactérias do Instituto Adolfo Lutz-Laboratório Central, mantidas por um ano, em meio de Lowenstein-Jensen (LJ) à temperatura ambiente (TA) e em miçangas de vidro à  $-70^{\circ}\text{C}$  umedecidas com meio de Sauton acrescido de 10% de glicerol.

Rotineiramente, as cepas de micobactérias submetidas ao teste de suscetibilidade às drogas e identificação das espécies são repicadas em 2 ml de meio de LJ contido em frascos de vidro de 5 ml com tampa de rosca e mantidos à TA. Concomitantemente, estas cepas são congeladas à  $-70^{\circ}\text{C}$  em tubos tipo eppendorf contendo miçangas de vidro umedecidas com meio de Sauton com 10% de glicerol.

Este estudo foi realizado em duas etapas:

1<sup>a</sup>) Foram subcultivadas 375 cepas da rotina laboratorial do setor, mantidas em LJ à TA. Antes de realizar os subcultivos, as culturas foram classificadas de acordo com o aspecto macroscópico como: Boa(B)= LJ íntegro, com a sua cor característica e as colônias confluentes e íntegras; Ruim+(R+)= LJ parcialmente ressecado nas bordas, coloração parcialmente alterada e colônias parcialmente conservadas; Ruim++(R++)=LJ totalmente ressecado, com a cor alterada e as colônias parcialmente conservadas; Ruim +++(R+++)= LJ totalmente ressecado, com a cor totalmente alterada e as colônias totalmente ressecadas e aderidas às paredes do vidro. Para a reativação das culturas em meio de LJ, preparou-se uma suspensão com adição de 1 ml de água destilada estéril em cada frasco e

homogeneização com um swab. Duas gotas dessa suspensão foram semeadas em tubos de 15x150mm com meio de LJ, incubados a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 30 dias.

Das 375 cepas, 4 contaminaram e 243 (65,5%) foram recuperadas. Entre as 128 cepas que não cresceram, 109 (85,2%) apresentavam meios com aspecto R+++ (Tabela 1).

2<sup>a</sup>) Para o estudo comparativo da viabilidade com os dois métodos, dentre as 375 cepas acima citadas, foram subcultivadas 184, também mantidas à  $-70^{\circ}\text{C}$ . Com auxílio de uma alça descartável, foram retiradas duas miçangas de vidro de cada eppendorf, passadas sobre a superfície do meio de LJ contidos em tubos de 15x150mm e incubados à  $37^{\circ}\text{C}$ , por 30 dias.

Das 184 cepas congeladas, 181 (98,4%) foram recuperadas. Comparando os resultados dos subcultivos das 184 cepas conservadas com os dois métodos, 101 (55,0%) foram recuperadas apenas das miçangas (Tabela 2).

A maioria dos laboratórios da Saúde Pública encontra dificuldades para manutenção das cepas em razão do limitado espaço físico ou pela falta de equipamentos sofisticados como liofilizador ou freezer  $-70^{\circ}\text{C}$ . Os resultados desse estudo demonstraram que a manutenção das cepas congeladas a  $-70^{\circ}\text{C}$  em miçangas se mostrou mais eficiente, uma vez que 98,4% delas puderam ser recuperadas. Por outro lado, analisando os repiques das cepas conservadas à TA, obteve-se uma recuperação de 65,5%. Os laboratórios que não dispõem de um freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  poderiam implantar este sistema (LJ à TA), mas utilizando 4 ml de meio ao invés de 2 ml, com objetivo de evitar o ressecamento dos mesmos e fazer pelo menos um repique a cada seis meses.

## REFERÊNCIAS

1. Kirsop, B.E; Doyle, A. **Maintenance of Microorganisms and Cultured Cells. A Manual of Laboratory Methods.** Second Edition. Academic Press Limited, London, 1991, 308 p.
2. **Guidelines for the establishment and operation of collections of cultures of microorganisms.** World federation for culture collection. 2<sup>nd</sup> edition, June 1999, 24 p.

**Tabela 1.** Frequência de recuperação das cepas mantidas à temperatura ambiente segundo qualidade da cultura inicial

Aspecto da cultura	N° Total (n=371*)	N° (%) cepas	
		Cresceram n=243 (65,5)	Não cresceram n=128 (34,5)
<b>B</b>	137	127 (52,3)	10 (7,8)
<b>R+</b>	28	24 (9,9)	4 (3,1)
<b>R++</b>	36	31 (12,7)	5 (3,9)
<b>R+++</b>	170	61 (25,1)	109 (85,2)

\* 4 culturas das 375 iniciais contaminaram.

Boa(B)= quando o meio de LJ estava íntegro, com a sua cor característica e as colônias confluentes e íntegras.

Ruim+(R+)= quando o meio de LJ estava parcialmente ressecado nas bordas, a coloração do meio parcialmente alterada, as colônias parcialmente conservadas.

Ruim++(R++)=quando o meio estava totalmente ressecado, sua cor alterada e as colônias parcialmente conservadas.

Ruim +++(R+++)= quando o meio se apresentava totalmente ressecado, sua cor totalmente alterada e as colônias totalmente ressecadas e aderidas às paredes do vidro.

**Tabela 2.** Crescimento dos repiques das cepas congeladas à -70°C em miçangas com relação às mantidas em meio de Lowenstein Jensen, à temperatura ambiente.

Lowenstein-Jensen à Temperatura ambiente	Miçangas à - 70°C		N° Total (%)
	Cresceram N° (%)	Não cresceram N° (%)	
Cresceram	80 (43,5)	2 (1,0)	82 (44,5)
Não cresceram	101 (55,0)	1 (0,5)	102 (55,4)
Total	181 (98,4)	3 (1,6)	184 (100,0)





# Instrução para Publicação

- 1 - A matéria para publicação deverá apresentar a seguinte estrutura:
  - ✓ Título
  - ✓ Nome do(s) autor(es) completo por extenso, último sobrenome em caixa alta
  - ✓ Filiação científica completa
  - ✓ Texto: deve ser apresentado em um único texto, podendo conter introdução, métodos, dados experimentais e outros
  - ✓ Referências: quando necessária e no máximo 6
- 2 - O texto deverá ser digitado em fonte Times New Roman, tamanho 12 e com espaço duplo, ocupando no máximo 3 (três) laudas de tamanho A4;
- 3 - Deverá ser redigido em língua portuguesa;
- 4 - Uso de tabelas e figuras somente quando necessárias devendo ser auto explicativas e numeradas, tabela com o título acima e figura com o título abaixo;
- 5 - A referência bibliográfica, quando necessária, deverá ser citada no texto por meio de número índice, sobrescrito sem espaçamento, correspondente ao da lista de referência.
  - ✓ Para um autor: "Taunay<sup>31</sup> verificou..."
  - ✓ Até dois autores deverá ser mencionado: "Pereira e Maia<sup>19</sup>, pesquisando..."
  - ✓ Mais de dois autores usar a expressão **et al**: "Tsunoda et al.<sup>6</sup> verificaram..."
- 6 - A relação da lista de referência deverá ser numerada e colocada em ordem alfabética dos sobrenomes dos autores. Para até três autores, todos deverão ser mencionados. Para mais de três autores usar a expressão **et al** após o primeiro autor.
  - ✓ Artigo: Sobrenome do autor (ou dos autores) seguido das iniciais; Título do artigo; Título do periódico em negrito; Volume; Nº do volume; Nº página inicial; Nº da página final; Ano da publicação.  
Ex.: Morley, A. et al - A primary stem-cell lesion in experimental chronic hypoplastic marrow failure. **Blood**, 45:681-8, 1975. Yamada, K. & Tsuji, M. - Transport of vitamin B6 in human erythrocytes. **J.Vitam.**, 14:282-94, 1978.
  - ✓ Livro no Todo: Sobrenome do autor (ou dos autores) seguido das iniciais; Título do livro(negrito); Edição; Local de publicação; Editora: Ano; Nº de páginas ou volumes.  
Ex.: Naoum, P.C. - **Hemoglobinopatias e Talassemias**. 1º Ed., São Paulo : Sarvier; 1997, 171p.
  - ✓ Capítulo de Livro: Sobrenome do autor ( ou dos autores) do capítulo, seguido das iniciais; Título do capítulo; sobrenome do autor (ou autores) do Livro (precedido por In) seguido das iniciais; Título do livro (negrito); Edição; Local de publicação; Editora: Ano; Página inicial e final do capítulo e ou volume.  
Ex.: Mansfield,J.M. - Non pathogenic trypanosomes of mammals. In: Kreir, J.P. - **Parasitic protozoa taxonomy , kinetoplastids and flagellates of fish**. New York: Academic Press; 1977, p.297-327.
- 7 - A matéria deverá ser enviada em uma cópia impressa e em disquete 3 1/2.
- 8 - Toda informação contida na matéria é de total responsabilidade do(s) autor(es).
- 9 - A publicação de qualquer matéria estará condicionada à aprovação da Comissão de Redação de Publicações Oficiais do Instituto Adolfo Lutz.
- 10 - Enviar o material ao Coordenadores das respectivas áreas:
  - ✓ Área de Vigilância Epidemiológica  
Marilena Oshiro - maoshiro@ial.sp.gov.br - Ramal 2878  
Therezinha Travassos C. de Almeida - ttravassos@ial.sp.gov.br - Ramal 2889
  - ✓ Área de Vigilância Sanitária  
Márcia Regina P. do Amaral Mello - mrmello@ial.sp.gov.br - Ramal 2936  
Márcia Bittar Atuí - marcatui@hotmail.com - Ramal 2934
  - ✓ Área de ações Básicas de Saúde  
Daisy Nakamura Sato - satodn@netsite.com.br - Tel.(xx16) 625-5046

**Fica autorizada a reprodução das matérias publicadas neste Boletim, desde que citada a fonte.**

## Finalidade

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

## Carta ao Editor

Av. Dr. Arnaldo, 355 - Cerqueira César - CEP 01246-902  
E-mail: [bial@ial.sp.gov.br](mailto:bial@ial.sp.gov.br)  
Caixa Postal 1783 - CEP 01059-970  
São Paulo, SP - Brasil  
Telefone: (0XX11) 3068-2800 - Telex 1136327  
Fax: (11) 3082-9939 (Biblioteca)

## Regulamento

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

- 1- Relatos sucintos de investigação com ênfase a aspectos relativos ao apoio laboratorial.
- 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.