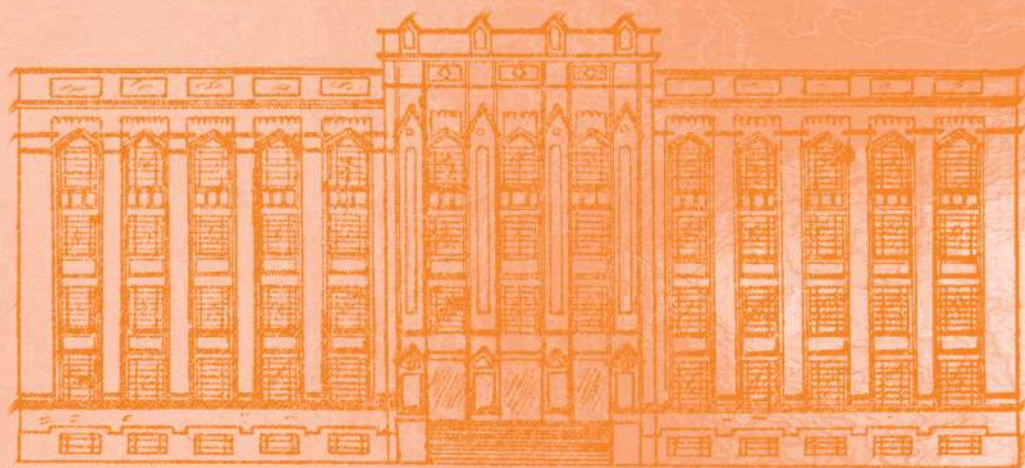


REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

ISSN 0073-9855
RIALA6



Volume 61 número 1, 2002



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

INSTITUTO ADOLFO LUTZ

DIRETOR RESPONSÁVEL

DR. CRISTIANO CORRÊA DE AZEVEDO MARQUES
Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz

COMISSÃO DE REDAÇÃO

PEDRO LUIZ SILVA PINTO - Presidente
MARIA ALICE DA SILVA TELLES - Secretária
CRISTINA ADELAIDE FIGUEIREDO
ELIANI DE ARAÚJO
JANETE ALABURDA
LUZ MARINA TRUJILLO
MARINA YOSHIÊ SAKAMOTO MAEDA
RAIMUNDA TELMA DE MACEDO SANTOS
THAÏS VALÉRIA MILANEZ
CLAYDES DE QUADROS ZAMBONI - Membro Emérito
MARIA LUISA BARBOSA - Membro Convidado

SETOR DE PUBLICAÇÕES

ROCELY APARECIDA DE SOUZA BUENO

ENDEREÇO/ ADDRESS

Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz
Av. Dr. Arnaldo, 355
01246-902 – São Paulo – SP – Brasil
Caixa Postal 1783 – CEP 01059-970
Tel/Fax: 3082-9939

E-mail: biblioteca@ial.sp.gov.br
riala@ial.sp.gov.br
rial@ial.sp.gov.br

Publicação semestral/ Bi-annual publication
Solicita-se permuta/ Exchange desired

Ano 2002

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Secretaria de Estado de Saúde)
São Paulo, SP - Brasil, 1941

1941 - 2002,
2002, 61 (1)

ISSN 0073-9855
RIALA 6

CDD₁₈ 614.07205

(*) ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE BIBLIOTECÁRIOS. Grupo de Bibliotecários Biomédicos.
Normas para catalogação de publicações seriadas nas bibliotecas especializadas. São Paulo: Ed. Polígono; 1072.

Os artigos publicados na REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ são indexados por Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, AGRINDEX., Analytical Abstracts, Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinária e Zootécnica, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Food Science and Technology Abstracts, Index Medicus Latino-americano, LILACS, SP: Saúde Pública, Microbiology Abstracts, Sumários Correntes Brasileiros, Toxicology Abstracts, Tropical Diseases Bulletin, Virology Abstracts e outro

Acesso on line/ on line access
Texto integral/ full text
www.ial.sp.gov.br

AOS COLABORADORES

A REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ tem por finalidade a divulgação de trabalhos relacionados com as atividades laboratoriais em Saúde Pública.

Os artigos destinados à REVISTA somente serão recebidos se redigidos de acordo com as seguintes normas:

NORMAS PARA A PUBLICAÇÃO

O trabalho submetido à publicação deve ser inédito, não sendo permitida a sua apresentação simultânea em outro periódico, conforme declaração a ser assinada pelos autores. Serão aceitos manuscritos em forma de artigos científicos, de revisões, de atualizações, relatórios técnicos, relatos de casos, comunicações científicas e resumos de teses e dissertações. Os autores devem escrever na carta de encaminhamento qual a natureza do trabalho. Os originais serão publicados em língua portuguesa ou inglesa preferencialmente. Deverão ser encaminhados em três vias, sendo uma completa e as outras duas omitindo os nomes dos autores e respectivas instituições, tanto na página de rosto quanto nos resumos em português e inglês. O trabalho, após aprovado, deve ser encaminhado ao Setor de Publicações, em uma cópia impressa e em disquete 3 1/2 conforme instruções que serão enviadas após a aprovação.

O **artigo científico** deve ser elaborado com a seguinte estrutura: **Página de rosto:** a) título do artigo; b) nome do(s) autor(es); c) filiação científica indicando o autor e endereço a quem deverá ser encaminhada a correspondência.

Texto: a) título: deve ser curto e específico em inglês e português, indicando precisamente o conteúdo; em título longo, recorrer a subtítulo; b) autores: nome e último sobrenome por extenso, e o último sobrenome em caixa alta (Ana Maria C. D. da SILVA); c) filiação científica indicada por número sobrescrito, e o autor e endereço a quem deverá ser encaminhada a correspondência indicada por asterisco (*); d) resumo: deve ser claro e conciso num único parágrafo, contendo objetivo, metodologias, resultados e conclusões. Não exceder 200 palavras; e) palavras-chave: podem ser utilizados até seis descritores que identifiquem o conteúdo do artigo; f) introdução: deve conter os objetivos da pesquisa, justificativa de sua importância, apresentação das principais variáveis da pesquisa, definições, se necessárias, e discussão do problema à luz de bibliografia pertinente; g) material e métodos: claramente descritos e validados, de modo a possibilitar a sua reprodução. Qualquer modificação, em métodos já publicados, deve ser devidamente explicitada; h) resultados: devem ser claros e concisos, tabelas e figuras devem ser usadas somente quando necessárias e devem ser auto-explicativas; i) discussão: pode ser apresentada conjuntamente aos resultados; j) conclusões: em alguns casos podem ser incluídas no item discussão, sendo assim, não há necessidade de repeti-las em item à parte; k) agradecimentos: (se for o caso); l) title, abstract e key words: em inglês antecedendo as referências; m) referências.

Os **artigos de revisão, atualização e relatórios técnicos** devem apresentar:

Página de rosto: como no artigo científico. **Texto:** a) título, b) autores, c) resumo, d) palavras-chave. Deve ser dividido em seções

com títulos e subtítulos apropriados. Incluir title, abstract e key words antecedendo as referências.

O **relato de caso** deve ser elaborado com a seguinte estrutura:

Página de rosto: como no artigo científico. **Texto:** a) título, b) autores, c) resumo, d) palavras-chave. Deve ser dividido em introdução, relato de caso e discussão. Incluir title, abstract e key words antecedendo as referências.

A **comunicação científica** deve ser elaborada com a seguinte estrutura:

Página de rosto: como no artigo científico. **Texto:** a) título, b) autores, c) resumo, d) palavras-chave. Não deve dividi-lo, ou seja, introdução, métodos, dados experimentais e outros devem compor de único texto. Incluir no máximo duas tabelas ou figuras ou uma tabela e uma figura, title, abstract e key words antecedendo as referências.

Os **resumos de teses e dissertações** deverão conter o nome do autor, título da obra, nome da Instituição para a qual foi apresentado o trabalho e ano da defesa.

IMPORTANTE: os textos devem ser redigidos com processador de texto WORD for WINDOWS 6.0 ou compatível, no formato A4, espaço duplo, letra Times New Roman e tamanho de letra 12. Se usar versão superior, enviar o arquivo em Rich Text Format (.rtf). Não serão aceitos arquivos compactados por ZIP, ARJ etc.

ABREVIATURAS – Devem ser evitadas ou usadas apenas as oficiais.

UNIDADES DE MEDIDA E SEUS SÍMBOLOS - Utilizar as legais do Sistema Internacional de Metrologia.

TABELAS – As Tabelas devem ser encaminhadas em folhas separadas. A localização aproximada destas deve ser indicada no texto. Serão numeradas consecutivamente, com números arábicos e encabeçadas pelos respectivos títulos, que devem ser breves e indicar claramente o conteúdo. Os dados apresentados em tabela não devem ser repetidos em gráficos.

Na ausência de um dado numérico, empregar os seguintes sinais convencionais:

- (-) Quando pela natureza do fenômeno, não puder existir o dado;
- (z) Quando o dado for rigorosamente zero;
- (...) Quando não se dispuser de dado;
- (0,0) Quando a aplicação dos critérios de arredondamento não conseguir alcançar respectivamente, os valores 1; 0,1; 0,01, etc.;
- (x) Quando o dado for omitido para evitar a individualização da informação.

ILUSTRAÇÕES (fotografias, gráficos, desenhos, mapas etc.) – Serão designadas no texto como “Figuras”: terão numeração única e seguida, em algarismos arábicos.

Todas as ilustrações devem ser identificadas com número, nome do autor, título do artigo e número da página do texto onde serão inseridas; devem ser tão claras que permitam sua reprodução com redução de 6,5 cm no sentido da largura, sem perda de nitidez ou legibilidade; as respectivas legendas devem estar escritas fora

da área de reprodução. As ilustrações coloridas estão sujeitas à confirmação. Se as ilustrações enviadas já tiverem sido publicadas, mencionar a fonte e a permissão para a reprodução.

REFERÊNCIAS – Devem ser mencionadas somente as de trabalhos consultados diretamente ligados ao assunto.

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

No texto – As referências serão citadas por meio de número índice correspondente ao da lista de referências, escritas em versal. Assim, para um autor: “Taunay³¹ verificou”; para até dois autores todos deverão ser mencionados, separados pela letra **e**: “Pereira e Maia¹⁹, pesquisando...”. para mais de dois autores usar a expressão **et al.** : “no trabalho de Tsunoda **et al.**⁶⁹”; ou ainda... “Segundo vários autores^{1,3,7,89}”.

Observação: nomes científicos somente em itálico.

As referências – terão numeração crescente e ordenadas alfabeticamente pelo último sobrenome do autor (regra geral). Quando existirem mais de três autores, indicar o primeiro seguido da expressão **et al.**

Para artigos periódicos

Último sobrenome do(s) autor(s) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título do artigo, título do periódico em negrito e abreviado conforme estilo usado na Lista de Periódicos Indexados no Index Medicus, nº do volume, páginas inicial e final, ano da publicação.

Exemplo:

Morley, A.; Trainor, K.; Blake, M.A. A primary stem-cell lesion in experimental chronic hypoplastic marrow failure. **Blood**, 45: 681-8, 1975.

Livro no todo

Último sobrenome do (s) autor (s) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título da obra, edição, imprensa (local de publicação, editora e ano de publicação), descrição física (nºs páginas ou volumes), notas especiais.

Exemplo:

Naoum, P. C. **Hemoglobinopatias e talassemias**. São Paulo: Sarvier; 1997. 171 p.

Capítulo de Livro

Último sobrenome do (s) autor (s) da parte referenciada, seguido das iniciais dos outros componentes do nome título da parte referenciada, último sobrenome do (s) autor (s) da publicação (precedido por **In:**), título da publicação, número da edição, local de publicação, editor, ano de publicação, página inicial e final da parte referenciada e/ou volume.

Exemplo:

Mansfield, J.M. Non pathogenic trypanosomes of mammals. In: Kreier, J.P., editor. **Parasitic protozoa I Taxonomy, kinetoplastids, and flagellates of fish**. New York: Academic Press; 1977. p.297-327.

Gomes, S. Informática e soberania. In: Benakouche, R.(org.). **A questão da informática no Brasil**. São Paulo: Brasiliense; 1985. p.30-36.

Dissertações e Teses

Silva, R.M. **ELISA-IgG em Estudos Epidemiológicos da Esquistossomose Mansônica em Área de Baixa Endemicidade: Comparação com RIF-IgM e o Método Parasitológico Kato-Katz**. São Paulo, 1998. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo].

Referência da Internet: último sobrenome do(s) autor(es) do “site” seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título do artigo, título do periódico (se for o caso), (em negrito e abreviado), nome do “site” entre colchetes. Data da consulta.

Exemplo:

Trucksess, M.W.; Chou, J. P.; Young, K.; Page, S. W. Determination and survey of ochratoxin A in barley, green coffee and roasted coffee. **FDA Science Forum Poster Abstract**, [http://Vm.cfsan.fda.gov/~frf/forum97/97A30.html]. 5 maio 1997.

DA PUBLICAÇÃO

1. Os trabalhos destinados à publicação na **Revista do Instituto Adolfo Lutz** deverão ser encaminhados à Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz, Setor de Publicações.

2. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação da Comissão de Redação de Publicações Oficiais do Instituto Adolfo Lutz, que poderá sugerir ao autor alterações no original. Este original só será aceito quando tiver o visto desta comissão.

3. Todo trabalho entregue para publicação deverá ser assinado pelo autor e trazer endereço para correspondência ou endereço eletrônico. No caso de mais de um autor, deverá ser expressamente indicado o responsável pela publicação.

4. Os trabalhos serão publicados em ordem cronológica de aprovação, salvo o caso especial de nota prévia, que terá prioridade.

5. A data de recebimento e a de aprovação do artigo constarão obrigatoriamente no final do mesmo.

6. As provas tipográficas serão revisadas pela Comissão de Redação de Publicações Oficiais do Instituto Adolfo Lutz. Essa Comissão se reserva o direito de introduzir alterações nos originais, visando a manutenção da homogeneidade e a qualidade da publicação, respeitando, porém, o estilo e as opiniões dos autores.

7. É permitida a reprodução, no todo ou em parte, de artigos publicados na Revista do Instituto Adolfo Lutz, desde que sejam indicados a origem e o nome do autor, de conformidade com a legislação sobre direitos autorais.

DA DISTRIBUIÇÃO

A Revista Adolfo Lutz é distribuída gratuitamente a entidades governamentais, culturais, ou em permuta de periódicos nacionais ou estrangeiros.

SUMÁRIO/CONTENTS

Artigo/Article

- 910 **Incidência de Aflatoxinas, Desoxinivalenol e Zearalenona em produtos comercializados em cidades do estado de Minas Gerais no período de 1998 – 2000.**
Incidence of Aflatoxins, Deoxynivalenol and Zearalenone in products commercialized in the cities of Minas Gerais state in 1998 – 2000.
Marize S. de OLIVEIRA, Guilherme PRADO, Fabiana M. ABRANTES, Luciana G. dos SANTOS e Thaís VELOSO 1-6
- 911 **Evaluation of Brazilian terrestrial *Aspergillus* strains for Mycotoxin production.**
Avaliação de linhagens terrestres brasileiras de *Aspergillus* para produção de micotoxinas.
Thais V. MILANEZ, Iracema H. SCHOENLEIN-CRUSIUS e Luci K. OKINO 7-11
- 912 **Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangue *Crassostrea brasiliana* do estuário de Cananéia-SP, Brasil.**
Pb, Cd, Hg, Cu and Zn in mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* Cananéia estuary, São Paulo – Brazil
Ingrid C. MACHADO, Franca D. de MAIO, Carmen S. KIRA e Maria de Fátima H. CARVALHO 13-18
- 913 **Determinação dos teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em moluscos (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* e *Mytella falcata*)**
Determination of Pb, Cd, Hg, Cu and Zn levels in molluscs (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* and *Mytella falcata*)
Orlando M. PEREIRA, Marcelo B. HENRIQUES, Odair ZENEBO, Alice SAKUMA e Carmen S. KIRA 19-25
- 914 **Avaliação da rotulagem e dos teores de minerais e contaminantes inorgânicos em águas minerais nacionais e importadas.**
Evaluation of the labelling, the minerals and inorganic contaminants in domestic and imported mineral water
Franca D. de MAIO, Isaura A. OKADA, Maria de Fátima H. CARVALHO, Carmen S. KIRA, Maria Cristina DURAN e Odair ZENEBO 27-32
- 915 **Busca ativa de teníase e de outras enteroparasitoses em manipuladores de alimentos no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil.**
Active surveillance of taeniasis and other enteroparasitoses among food handlers in Ribeirão Preto, SP, Brazil.
Divani M. CAPUANO, Madalena H. T. OKINO, Maria José do C. B. BETTINI, Osvaldo M. TAKAYANAGUI, Mônica P. T. LAZZARINI, Ana Alice M. C. CASTRO E SILVA, Flávio L. F. FERREIRA e Ângela M. M. TAKAYANAGUI 33-38

- 916 **Correção da interferência dos triglicerídeos na dosagem da hemoglobina e na determinação dos índices hematimétricos.**
Correction of the interference of the triglycerides in the dosage of hemoglobin and hematimetric indexes.
Denilson A.VIEIRA, Raimundo A. G. OLIVEIRA, Maria do Socorro G. OLIVEIRA, Orlando C. de O. BARRETTO 39-43
- 917 **Contribuição de amostras de sangue no diagnóstico laboratorial da doença meningocócica.**
Contribution of blood samples in laboratorial diagnosis of meningococcal disease
Maria Lopes e Sandra I. S. dos SANTOS 45-49

Artigo Técnico/ Technical Article

- 918 **Padrão físico-químico da água de abastecimento público da região de Campinas.**
Physical – chemical standards of the drinking water in the Campinas area
Valéria P.S.FREITAS, Berenice M. BRÍGIDO, Maria Irene C. BADOLATO e Janete ALABURDA 51-58

Comunicação Científica/ Brief Communication

- 919 **Pesquisa de *Cryptosporidium sp* em águas de fontes naturais e comparação com análises bacteriológicas.**
Research on *Cryptosporidium sp* in water from natural springs and comparison with bacteriological analysis.
Aparecida H. de S. GOMES, Marina A. S. R. PACHECO, Yara S. K. FONSECA, Noemi . P. A. CESAR, Heloisa G. G. DIAS e Rosana P. da SILVA 59-63

RESUMOS DE TESES E DISSERTAÇÕES

- Estudo comparativo da concentração de laminina no soro e na ascite de pacientes com carcinomatose peritoneal, cirrose hepática e hepatocarcinoma.**
Catarino, R. M. 65
- Saturação “in vivo” da glutatona redutase e da aspartato aminotransferase por suas coenzimas.**
Oshiro, M. 65-66
- Depuração de ostra (*Crassostrea brasiliana*) contaminada artificialmente com *Vibrio cholerae* O1, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *Salmonella* Enteritidis.**
Lopes, G. I. S. L. 66
- Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Polygonum persicaria* L.**
Yano, H.M. 66-67

Incidência de Aflatoxinas, Desoxinivalenol e Zearalenona em produtos comercializados em cidades do estado de Minas Gerais no período de 1998 - 2000

Incidence of Aflatoxins, Deoxynivalenol and Zearalenone in products commercialized in the cities of Minas Gerais state in 1998 - 2000

Marize Silva de OLIVEIRA¹
Guilherme PRADO
Fabiana Moreira ABRANTES
Luciana Gonçalves dos SANTOS
Thaís VELOSO

RIALA6/910

Oliveira, Marize S. de et al Incidência de Aflatoxinas, Desoxinivalenol e Zearalenona em produtos comercializados em cidades do estado de Minas Gerais no período de 1998 - 2000. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):1-6, 2002.

RESUMO. A incidência de micotoxinas foi verificada em amostras de amendoim e produtos derivados de amendoim (aflatoxinas), fubá, cereais em flocos e aveia em flocos (zearalenona), farinha de trigo, farelo de trigo e produtos de panificação (desoxinivalenol). As amostras foram coletadas em supermercados de cidades de Minas Gerais, Brasil. O método de cromatografia em camada delgada foi utilizado para quantificar as aflatoxinas e desoxinivalenol e a cromatografia líquida de alta eficiência para zearalenona. As aflatoxinas foram detectadas em 66 das 120 amostras analisadas. Do total de amostras analisadas, 56 apresentaram níveis de aflatoxina total ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) acima do limite estabelecido pela Legislação do Ministério da Agricultura e 54 amostras apresentaram níveis de aflatoxina $B_1 + G_1$ acima do limite estabelecido pela Legislação do Ministério da Saúde. A faixa de contaminação para aflatoxina total encontrada foi de 3 a 2714 $\mu\text{g/Kg}$, com uma contaminação média de 960 $\mu\text{g/Kg}$. Desoxinivalenol (DON) foi detectado em 32 das 47 amostras analisadas, em uma faixa de concentração de 40 a 1205 $\mu\text{g/Kg}$. Somente uma amostra de aveia em flocos estava contaminada com zearalenona (8,5 $\mu\text{g/Kg}$), dentre as 34 amostras de produtos de cereais analisadas.

PALAVRAS-CHAVE. Aflatoxinas; Desoxinivalenol; Zearalenona; Ocorrência, Cereais.

¹ Fundação Ezequiel Dias – Instituto Octávio Magalhães – Núcleo de Micologia e Micotoxinas. Rua Conde Pereira Carneiro, 80. Gameleira, Belo Horizonte - Minas Gerais, CEP 30510-010.Tel. (31) 3371 9462.
e-mail:mar@funed.mg.gov.br.

INTRODUÇÃO

As micotoxinas, como as aflatoxinas, zearalenona e desoxinivalenol, são compostos tóxicos produzidos por fungos, que podem causar danos à saúde de homens e animais²², bem como, ocasionar grandes perdas econômicas²⁰.

As aflatoxinas são produtos do metabolismo secundário de fungos, predominantemente de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*. Quimicamente são derivados do bisfuranoisocumarina, sendo que as aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ são as mais conhecidas⁶. As aflatoxinas têm sido letais para animais, bem como para cultura de células animais quando administradas a curto prazo, sendo que exposições por um longo período induzem tumores em diversos seres vivos²⁵. Existem relatos de que a aflatoxina B₁ pode causar danos significativos no fígado de primatas⁵.

Zearalenona é produzida por várias espécies de *Fusarium*, com ocorrência em milho, cevada, trigo e aveia. Esta micotoxina tem demonstrado atividade anabólica e estrogênica em várias espécies animais, como hiperestrogenismo em suínos. Existem também registros de puberdade precoce em crianças¹².

Desoxinivalenol (DON) é um tricoteceno produzido por fungos do gênero *Fusarium* podendo causar recusa alimentar, redução do ganho de peso, e alteração da função imunológica de alguns animais^{14,23}.

Visto que a contaminação dos alimentos com fungos toxigênicos e produção de micotoxinas, geralmente está relacionada com condições ambientais de cultivo e armazenamento⁶, investigações contínuas de sua ocorrência tornam-se necessárias.

Os trabalhos de ocorrência de micotoxinas em alimentos consumidos no Brasil, têm contribuído para avaliação e estudos de medidas a serem tomadas para a prevenção de contaminação. Incidência de aflatoxinas em amendoim e derivados de milho, zearalenona em milho, bem como, aflatoxinas, ocratoxina e zearalenona em produtos de arroz, milho e trigo, desoxinivalenol e toxina T-2 em milho e tricotecenos em farinhas têm sido relatadas^{4, 8, 9, 13, 15, 16, 17}.

O objetivo deste estudo foi verificar a incidência de aflatoxinas em amendoim e derivados, zearalenona em arroz, aveia, milho e derivados, e desoxinivalenol em farinhas de trigo e produtos de panificação que foram comercializados em algumas cidades do Estado de Minas Gerais no período de 1998 a 2000.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Material

Um total de 120 amostras de amendoim e produtos derivados, foram coletadas pelos Serviços de Fiscalização das cidades de Belo Horizonte, Contagem, Nova Lima, Sete Lagoas, Patrocínio, João Monlevade, Santa Luzia, Divinópolis, Pedro Leopoldo, Patos de Minas, Betim, Viçosa e Nova Serrana e analisadas para verificar a ocorrência de aflatoxinas.

Em 24 amostras de produtos derivados de milho e 10 de arroz em grão tipo I, de diferentes marcas, foi verificada a ocorrência de zearalenona, enquanto em 47 amostras de produtos de panificação, farinha e farelo de trigo, verificou-se a presença de desoxinivalenol. As amostras foram coletadas pela Vigilância Sanitária de Belo Horizonte e Contagem.

As amostras em grão foram previamente moídas, homogeneizadas e passadas em tamiz 20 mesh (0,84 mm). Após quarteamento foram acondicionadas em frascos plásticos e guardadas sob refrigeração (+4°C) até o momento da análise.

2. Métodos

2.1. Extração e quantificação de aflatoxinas

A extração e purificação das aflatoxinas foi feita segundo o método descrito por Soares e Rodriguez Amaya¹⁹. As aflatoxinas foram identificadas e quantificadas por cromatografia em camada delgada, em placas prontas de silicagel 60 G Merck, utilizando-se como fase móvel tolueno: acetato de etila: clorofórmio: ácido fórmico, (70:50:50:20 v/v/v/v), descrita por Gimeno¹⁰. As leituras das fluorescências de amostras e padrões foram feitas em densitômetro Shimadzu modelo CS9301PC, a 366 nm e o cálculo das concentrações foi obtido através das curvas de calibração.

A confirmação da identidade das aflatoxinas foi feita pelo método descrito por Przybylski¹⁸.

2.2. Extração e quantificação de zearalenona

A zearalenona foi extraída de 25 g das amostras moídas, com 125 mL de metanol - água (75:25, v/v) e agitação por 20 minutos em agitador mecânico¹. Após filtração à vácuo em papel de filtro Whatman GF/β de microfibras de 55 mm de diâmetro, o extrato foi diluído com água (5:25, v/v), sendo posteriormente transferido para coluna de imunoafinidade Zearalatest da Vicam (EUA). A coluna foi lavada com 10 mL de água e a zearalenona eluída com 4 mL de metanol. Este eluato foi recolhido em frasco âmbar e evaporado até secar sob corrente de nitrogênio. O resíduo foi ressuspenso em 1 mL de fase móvel água:metanol:acetonitrila (40:10:50 v/v/v)²⁴. A quantificação foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de fluorescência marca Shimadzu modelo LC 10AD (excitação λ = 276 nm e emissão λ = 460 nm), coluna C18 (5 μm, 250 x 4,6 mm), pré-coluna C18 (5 μm x 25 mm x 4,6 mm), com fluxo de 1 mL/minuto¹.

A zearalenona foi quantificada utilizando para o cálculo, uma curva de calibração analítica de 0,05, 0,025, 0,0125 e 0,00625 ng/μL.

A eficiência do método foi avaliada pelo estudo de recuperação feito em amostras de produtos derivados de milho em que zearalenona não foi detectada. As amostras em triplicata, foram contaminadas artificialmente pela adição de padrão, obtendo-se níveis de contaminação de 5, 10, 50, 100 e 200 μg/Kg. Também avaliou-se a recuperação em amostras de arroz, artificialmente contaminadas com níveis de 20 e 40 μg/Kg de zearalenona, em triplicata.

1.3. Extração e quantificação de desoxinivalenol

O método usado foi descrito por Trucksses *et al.*²¹, onde DON foi extraído com acetonitrila:água (84:16 v/v) e o extrato purificado em coluna cromatográfica empacotada com carvão ativado, celite e alumina. Para separação e quantificação foi utilizada cromatografia em camada delgada de alta eficiência, onde a placa foi previamente embebida em solução de cloreto de alumínio a 20 % e o desenvolvimento realizado em clorofórmio:acetona: isopropanol (8:1:1 v/v/v) em tanque não equilibrado. A placa foi aquecida por exatamente 7 minutos à 120°C e a fluorescência azul observada em luz ultra violeta a 366 nm por comparação com padrões. A recuperação foi avaliada em amostras de farinha de trigo artificialmente contaminada com 48,2 µg/Kg de DON.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A faixa e a média de contaminação, bem como a incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados

de amendoim estão demonstrados na Tabela 1 e Figura 1. Do total de 120 amostras analisadas, 66 (55%) apresentaram resultados positivos. As médias de contaminação encontradas para aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ foram de 334, 82,

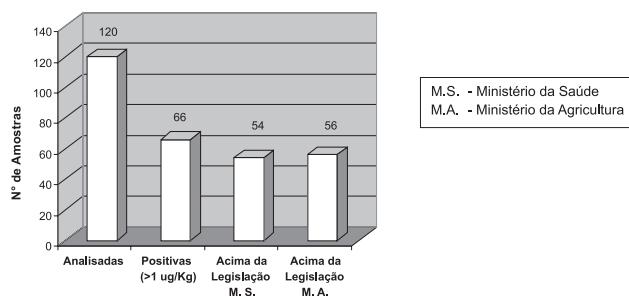


Figura 1. Incidência de aflatoxinas em amendoim e derivados comercializados em cidades do estado de Minas Gerais.

Tabela 1. Média e faixa de contaminação com aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ em 66 amostras positivas de amendoim em grão e produtos derivados de amendoim comercializados em cidades do estado de Minas Gerais.

AFLATOXINAS (µg/Kg)							
B ₁		B ₂		G ₁		G ₂	
Média	Faixa	Média	Faixa	Média	Faixa	Média	Faixa
334	3 - 2231	82	1 - 427	64	20 - 492	21	1 - 154

Tabela 2 . Valores de recuperação e coeficientes de variação para zearalenona adicionada em produtos derivados de milho, determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Nível de contaminação (µg/Kg)	Valores encontrados (µg/Kg)	Média (µg/Kg)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (%)
4,9	4,3	4,6	94,0	6,5
	4,9			
9,7	4,6	7,2	74,0	7,0
	7,7			
	7,2			
48,6	6,7	47,5	98,0	2,6
	48,5			
	46,1			
97,2	47,9	81,1	83,0	5,9
	79,4			
	77,4			
194,4	86,5	195,2	100,0	1,0
	197,2			
	193,9			
	194,4			

Tabela 3 . Valores de recuperação e coeficientes de variação para zearalenona adicionada em amostras de arroz determinados por CLAE.

Nível de contaminação ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	Valores encontrados ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	Média ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (%)
20,0	18,5 24,0	21,2	106,0	18,3
40,0	41,2 38,7	39,9	100,0	4,4

Tabela 4 . Incidência de zearalenona em amostras de arroz e produtos derivados de milho comercializados em cidades de Minas Gerais determinados por CLAE.

Amostra	Número de amostras analisadas	Resultados ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
Flocos de cereais	1	<LQ ²
Aveia em flocos	2	ND ¹ - 8,5
Creme de milho	1	ND
Fubá	2	<LQ
Fubá	3	ND
Farinha de aveia	1	<LQ
Farinha láctea	1	<LQ
Farinha enriquecida	13	ND
Arroz	10	ND
Total	34	

1 Não detectado.

2 LQ- Limite de quantificação: 5,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

LD- Limite de detecção: 1,6 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

64 e 21 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, respectivamente. A faixa de contaminação para aflatoxina total encontrada foi de 3 a 2714 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e a média foi de 960 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. A aflatoxina B₁ além de apresentar maior toxicidade⁶, foi encontrada em todas amostras com resultados positivos e com níveis de contaminação acima dos encontrados para B₂, G₁ e G₂. Considerando-se as legislações brasileiras^{2,3}, 54 amostras apresentaram resultados acima de 30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ para somatória de B₁ e G₁ (Resolução n° 34/76 da CNNPA do Ministério da Saúde) e 56 amostras resultados acima de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ para somatória de B₁, B₂, G₁ e G₂ (Portaria n° 183 de 21/03/96 do Ministério da Agricultura). O limite de quantificação do método empregado para aflatoxinas foi de 1 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Prado *et al.*¹⁷ analisaram 52 amostras de amendoim cru, comercializadas em 1997 e encontraram 44 amostras com resultados positivos para aflatoxina. As médias de contaminação foram de 434 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ para B₁ e 154 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ para G₁. Em um outro estudo em que foram analisadas amostras de amendoim, De-Oliveira *et al.*⁴ encontraram 34,6% de contaminação para a soma das aflatoxinas B₁ e G₁ (37,3 à 522,0

$\mu\text{g}/\text{Kg}$). Um total de 40 amostras de milho do ano agrícola de 1992/93 foram analisadas por Nicásio *et al.*¹³, e não foram encontradas aflatoxinas em nenhuma das amostras. Pich¹⁵ ao analisar 213 produtos derivados de milho comercializados, encontraram 37 (17,37%) amostras com resultados positivos (acima de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de B₁ + B₂ + G₁ + G₂), com uma faixa de contaminação de 3,18 a 25,6 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Comparando-se os resultados encontrados nesses estudos, verifica-se que os níveis de contaminação continuam elevados para aflatoxinas em amendoim.

Os resultados de avaliação da recuperação de zearalenona em produtos derivados de milho estão apresentados na Tabela 2. Para a faixa de contaminação empregada (4,9 – 194,4 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), a recuperação entre 74,0 - 100,0% e o coeficiente de variação menor que 7,0 %, demonstraram a eficiência do método empregado. A Tabela 3 apresenta os resultados de recuperação das amostras de arroz artificialmente contaminadas com padrão. Foram encontrados valores para recuperação de 106,0 e 100,0% e coeficiente de variação de 18,3 e 4,4% para níveis de contaminação de 20,0 e

Tabela 5. Incidência de desoxinivalenol (DON) em farinhas e produtos de panificação comercializados em cidades de Minas Gerais.

Amostras	Número de amostras analisadas	Número de amostras positivas	Faixa de contaminação ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
Farinha de trigo	14	8	40 – 1205
Farinha de trigo enriquecida	8	6	136 – 152
Farelo de trigo cru	2	2	125 – 610
Farelo de trigo torrado	1	1	542
Pão de sal	16	13	78 – 780
Panettone	3	0	ND
Pão de forma	3	2	113 - 289
Total	47	32	

Limite de quantificação : 40 $\mu\text{g}/\text{Kg}$

Limite de detecção : 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$

ND – Não detectado

40,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, respectivamente. Nas condições utilizadas para a cromatografia líquida, o tempo de retenção médio foi de 11,0 minutos. O limite de quantificação encontrado foi de 5,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e o limite de detecção de 1,6 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, obtido pelo sinal do menor nível de fortificação que é 3 vezes o desvio padrão a 95% de confiança¹¹.

Das 34 amostras analisadas, apenas uma amostra de aveia em flocos apresentou-se contaminada com zearalenona (8,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), como demonstrado na Tabela 4. O Brasil não tem legislação para zearalenona, entretanto, o valor encontrado pode ser considerado muito baixo, quando comparado com os limites permitidos pelas legislações de países como França (200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) e Rússia (1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$)⁷. Em uma amostra de flocos de cereais e uma de fubá, os níveis determinados estavam próximos ao limite de quantificação (5,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$). Três amostras apresentaram picos com área menor que o limite de quantificação. Furlong *et al.*⁹, ao analisarem produtos derivados de trigo e milho, encontraram contaminações de zearalenona bem mais elevadas, como 105 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em amostra de farelo de trigo, 97 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em farinha integral e 163 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em milho para canjica.

A recuperação média obtida pela metodologia empregada na análise de desoxinivalenol em amostras de farinha de trigo artificialmente contaminadas com 48,2 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ foi de 109%.

Os resultados da incidência de contaminação por DON nas amostras analisadas estão apresentados na Tabela 5. Do total de 47 amostras analisadas, 32 (68%) apresentaram resultados positivos. A faixa de contaminação foi de 40 a 1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, o limite de quantificação de 40 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e o limite de detecção de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Furlong *et al.*⁸ analisaram 18 amostras de trigo, provenientes da colheita do Brasil, Argentina e Uruguai

no período de 1988 à 1990 que ficaram armazenadas. Somente uma amostra estava contaminada com DON (0,40 $\mu\text{g}/\text{g}$). Prado *et al.*⁶ encontraram DON (78 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) em 2 das 60 amostras de milho em grão analisadas. O Brasil não tem legislação específica para desoxinivalenol, entretanto, países como EUA e Rússia apresentam o limite máximo de tolerância de 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e Canadá de 2000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Neste estudo, apesar de 68% das amostras terem apresentado contaminação com desoxinivalenol, apenas uma amostra apresentava valor acima de 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), demonstrando um baixo nível de contaminação nas amostras analisadas.

CONCLUSÕES

Os resultados da incidência de aflatoxinas em amendoim e seus derivados demonstram que estes produtos apresentam alta porcentagem de amostras contaminadas (55%), sendo que os níveis encontrados estão acima dos permitidos pela legislação nacional, tanto do Ministério da Saúde quanto da Agricultura. Estes dados sugerem que os estudos e os procedimentos relativos a prevenção devem ser continuados. A contaminação encontrada de desoxinivalenol em 68% das amostras de farinhas e produtos de panificação analisadas estava na faixa de 40 a 1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Somente uma amostra apresentou resultado elevado (> 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), quando o valor encontrado é comparado com o permitido pela legislação de outros países. Somente uma amostra do total de 24 produtos analisados, estava contaminada com zearalenona (8,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) em um nível bem abaixo do permitido pela legislação de outros países (200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$). Entretanto, mesmo não existindo nível máximo permitido pela legislação brasileira, outros levantamentos devem ser realizados.

Oliveira, Marize S. de et al Incidence of aflatoxins, deoxynivalenol and zearalenone in products commercialized in the cities of Minas Gerais state in 1998 - 2000. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):1-6,2002.

ABSTRACT. The presence of mycotoxins was verified in samples of peanut and peanut products (aflatoxins), corn meal, cereal flakes and oats flakes (zearalenone), wheat flour, bran and bakery products (deoxynivalenol). The samples were acquired in supermarkets, in the cities of state of Minas Gerais, Brazil. Thin layer chromatography methods were employed to quantify aflatoxins and deoxynivalenol, and a high performance liquid chromatography method was used for zearalenone. Aflatoxins were detected in 66 of the 120 samples tested. Fifty six samples had total aflatoxins levels ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) above those established by Brazilian regulations (Ministry of Agriculture) and 54 samples showed aflatoxins levels ($B_1 + G_1$) above those established by Ministry of Health. The concentration of total aflatoxins ranged from 3 to 2714 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ and the mean concentration was 960 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Deoxynivalenol (DON) was detected in 32 out of 47 samples analysed. The concentration of DON ranged from 40 to 1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Only one sample of oat flakes was found to be contaminated with zearalenone (8.5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) out of 34 samples of cereal products examined.

KEYWORDS: Aflatoxin; Deoxynivalenol; Zearalenone; Occurrence; Cereals.

REFERÊNCIAS

1. AOAC- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16 ed. Arlington: AOAC, 1995. v. 2, p. 4-5. Revisão em março de 1998.
2. Brasil. Leis, decretos, etc. – Portaria nº 183 do Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Diário Oficial**, Brasília, 25 mar. 1996. Art. I Adotar Regulamento Técnico do MERCOSUL sobre Limites Máximos de Aflatoxinas Admissíveis no Leite, Amendoim e Milho, aprovado pela resolução nº 56/94 do Grupo Mercado Comum do Sul de 01 de janeiro de 1995.
3. Brasil. Leis, decretos, etc. - Resolução n. 34/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial**, Brasília, 19 jan., 1977. Seção I. pt. I. p.710. Fixa padrões de tolerância para as aflatoxinas em alimentos.
4. De-Oliveira, V. et al. Ocorrência de aflatoxina B_1 e G_1 em amendoim comercializado em Goiânia - Brasil. **Rev. Microbiol.**, 22 : 319-322, 1991.
5. Dvorackova, I. **Aflatoxins and human health**. Boca Raton: CRC Press, Mycotoxins and human diseases, p. 1-19, 1990. 151 p.
6. Ellis, W. O. et al. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, 30 : 403-439, 1991.
7. Food and Agriculture Organization Of The United Nations. **FAO Worldwide regulations for mycotoxins**, 1995. A compendium, n. 64, 45 p. Rome, 1997.
8. Furlong, E. B. et al. Micotoxinas and fungi in wheat stored in elevators in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Add. Contam.**, 12 : 683-688, 1995.
9. Furlong, E. B. et al. Aflatoxinas, ocratoxina e zearalenona em alimentos da região sul do Rio Grande do Sul. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 58 : 105 - 111, 1999.
10. Gimeno, A. Thin layer chromatographic determination of aflatoxins, ochratoxins, sterigmatocystin, zearalenone, citrinin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, penicillic acid, patulin and penitrem A. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 62 : 579-585, 1979.
11. Kirchmer, C. F. Estimation of detection limits. In: **Environmental Analytical Procedures**. Washington: American Chemical Society, 1988. Cap. 4. p. 78-93.
12. Kuiper- Goodman, T.; Scott, P. M.; Watanabe, H. Risk Assessment of the mycotoxin zearalenone. **Rev. Toxicol. Pharmacol.**, 7: 253-306, 1987.
13. Nicácio, M. A. S.; Prado, G.; Linardi, V. R. Determinação de aflatoxina e identificação da microbiota fúngica em milho (*Zea mays* L.) pós colheita. **Arq. Biol. Tecnol.**, 38 : 851-857, 1995.
14. Pestka, J. J.; Bondy, G. S. Alteration of immune function following dietary vomitoxin exposure. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 68: 1009-1016, 1990.
15. Pich, P. H. **Deteção de aflatoxinas em produtos derivados de milho comercializados na região de Porto Alegre**. Porto Alegre, 1998. [Dissertação de mestrado – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul].
16. Prado, G.; et al. Ocorrência natural de desoxinivalenol e toxina T-2 em milho pós-colheita. Safra 1996. In: **XVI Congresso Brasileiro De Ciência e Tecnologia De Alimentos**, 15-17 julho, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998, CD-ROM, cbcta 107.
17. Prado, G.; Oliveira, M. S.; Ferreira, S. O. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim comercializado na região metropolitana de Belo Horizonte – MG. In: **XVI Congresso Brasileiro De Ciência e Tecnologia De Alimentos**, 15-17 julho, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998, CD-ROM, cbcta 108.
18. Przybylski, W. Formation of aflatoxin derivatives on thin layer chromatographic plates. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 58 : 163-164, 1975.
19. Soares, L. M. V.; Rodriguez-Amaya, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in Brazilian foods by using multi-toxin thin layer chromatographic methods. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 73 : 22-26, 1989.
20. Torres, D. Z. Micotoxinas: un problema sanitario y económico. Revision bibliografica. **Rev. Cubana Hig. Epidemiol.**, 25 : 341-356, 1987.
21. Trucksess, M. W.; Nesheim, S.; Eppley, R. M. Thin layer chromatographic determination of deoxynivalenol in wheat and corn. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 67 : 40-45, 1984
22. Ueno, Y. The Toxicology of mycotoxins. **CRC Crit. Rev. Toxicol.**, 14 : 99-132, 1985.
23. Ueno, Y. Trichothecenes in food. In: Krogh, P. (ed.). **Mycotoxins in food**. New York: Academic Press, 1987. p. 123-147.
24. Visconti, A.; Pascale, M. Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **J. Chromatogr. A.**; 815:133-140, 1998.
25. Wogan, G. N. Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. **Bacteriol. Rev.**, 30 : 460-470, 1966.

Recebido em 19/06/2001/ aprovado em 10/04/2002

Evaluation of Brazilian terrestrial *Aspergillus* strains for Mycotoxin production

Avaliação de linhagens terrestres brasileiras de *Aspergillus* para produção de micotoxinas

Thais V. MILANEZ^{1*}
Iracema H. SCHOENLEIN-CRUSIUS²
Luci K. OKINO²

RIALA6/911

Milanez, Thais V. ; Schoenlein-Crusius, Iracema H.; Okino, Luci K. Evaluation of Brazilian terrestrial *Aspergillus* strains for Mycotoxin production. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):7-11,2002

ABSTRACT. Screening tests for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂, ochratoxin A and sterigmatocystin production were performed in 13 strains of *Aspergillus* spp, isolated from the terrestrial environment in the Brazilian Atlantic Rainforest (São Paulo State/Brazil). Coconut agar medium and moistened corn were employed as substrates. The fungal extracts obtained from both media were submitted to thin-layer chromatography and the toxins were estimated according to the intensity of their fluorescence observed under UV light. None of the tested strains presented any of the mentioned mycotoxins. Because many unknown fluorescent spots were present, it was necessary to proceed a confirmation step using multiple chromatography, two dimensional chromatography and derivatization. In view of the accuracy of the employed methods and the presence of many unknown fluorescent spots, the need of further studies on the production of others mycotoxins of fungi isolated under tropical conditions is justified.

KEY WORDS. *Aspergillus* spp, toxigenic fungi, aflatoxins, ochratoxin A, coconut agar medium, corn medium.

INTRODUCTION

A great majority of the species of mycotoxin-producing fungi mentioned in the literature were isolated from food and feedstuffs.^{1,9,13,17,21,22} Reports of mycotoxin-producing fungi isolated from non-edible materials or producing mycotoxins when inoculated on non-edible materials are also found. Land and

Hult¹³ analysed twenty five strains of *Penicillium* spp. isolated from discoloured mould-infected outdoor softwood for mycotoxin production and found patulin being produced by one strain of *Penicillium expansum*. They have also found in some strains the ability to produce mycotoxins on synthetic and natural (wood) substrates. One strain of *P. nordicum* (not wood-associated) produced ochratoxin A when cultured on

*¹ Corresponding author. Mailing address: Instituto Adolfo Lutz, Divisão de Bromatologia e Química, Seção de Química Biológica - Av. Dr. Arnaldo, 355, CEP 01246-902, São Paulo, SP, Brasil.

² Instituto de Botânica, Seção de Micologia e Liquenologia . CINP/SMA.

wood chips and one strain of *P. expansum* produced patulin both on wood chips and on wood blocks.

Ruiz et al.¹⁷ studied the fungal contamination in a green house used for the production of cucumbers. They analyzed 158 samples of water, sand, air, leaves and fruits, isolating 25 different genera, among them *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. Twenty one strains of *A. flavus* were identified and only eight of them produced aflatoxins on aflatoxin production agar medium, one sample of sand and seven samples of leaves.

Whether mycotoxins are also produced on other natural substrates is not well known. The knowledge about the presence of micotoxigenic fungi in the Brazilian soils has been restricted to the results of some tests using fungi isolated from soil samples, randomly taken from the north and northeast regions of the country by Prof. Dr. Chaves Batista according to Schoenlein-Crusius¹⁹.

Several methods have been proposed to screen fungal isolates for mycotoxins and other secondary metabolites, most of them using a simple method to detect and another for confirmation. Arseculeratne et al.³ used freshly grated coconut as a medium for aflatoxin production and recommended it as a useful substrate in the preparation of aflatoxins on a large scale. Lin and Dianese¹⁴ developed a coconut–agar medium for fast detection of aflatoxigenic fungi and in the same line. Bastos⁴ established a method for detection of ochratoxins and sterigmatocystin production by *Aspergillus* sp. Sara et al.¹⁸ reported a method based on ultraviolet detection of aflatoxin on agar medium, even though identification by thin-layer chromatographic should be required for positive identification of aflatoxin as the fluorescing substance. In 1987, Krivobok et al.¹² developed a rapid and sensitive method to identify mycotoxin production (aflatoxins, sterigmatocystin, ochratoxin A, patulin and penicillic acid) from the liquid medium where the fungi were cultivated. Filtenborg and Frisvad⁷ developed a simple screening-method for extracellular mycotoxins taking a small plug from the agar substrate that may be applied to the TLC plate. Filtenborg et al.⁸ developed a method similar to the agar plug⁷ but to detect the intracellular mycotoxins. These methods are fast, simple and the sensitivity may be sufficient to detect the most important toxigenic isolates.

According to the literature, all taxa of fungi tested here may had the ability to produce mycotoxins. For instance, strains of *A. flavus*, one of the tested fungi, have been known to produce aflatoxins B₁ and B₂^{6,14} and also sterigmatocystin²⁵. The most important producer of sterigmatocystin is *A. versicolor* and it may also be produced by *A. sydowii* and *A. ustus*²⁵. *A. versicolor* was also found to be an OTA producer by Abarca et al.¹, in corn culture but not in YES broth (yeast extract sacarose). Bastos⁴ tested 92 isolates of *Aspergillus* from seeds. Only one isolate of the *A. niger*, for the first time, was characterized as an OTA producer. Ueno et al.²³ analyzing some *Aspergillus* isolates, verified that two *A. foetidus* isolates, one variety of *A. niger* used in the production of a local alcoholic beverage, produced OTA. Abarca et al.² found among 19 isolates of *A. niger* var.

niger two OTA producers, not only in liquid medium (yeast and sacarose) but also in moistened corn. Ueno et al.²⁴ examined 100 fungal isolates and they verified that 26 were OTA producers. Among the *Aspergillus* species producers were: *A. sydowii*, *A. terreus*, *A. ustus* and *A. foetidus*.

Having in mind that species of toxigenic fungi may also be found in natural terrestrial environments such as soil, leaf litter, wood and humus. The screening of *Aspergillus* isolated from the Atlantic rainforest soil at the “Reserva Biológica de Paranapiacaba”, Santo André Municipality, São Paulo State, Brazil was undertaken to evaluate their ability to produce aflatoxins, ochratoxin A and sterigmatocystin. The aim was to detect as much as possible all toxigenic isolates, irrelevant of the amount of mycotoxin produced. To guarantee the results two substrates, agar coconut and moistened corn, were tested, since one of them could fail, as reported by Abarca et al.¹.

MATERIAL AND METHODS

The strains of *Aspergillus* spp. tested were obtained from the Fungi Culture Collection of the “Instituto de Botânica”, in São Paulo (Table 1). The group of fungi was composed by cultures originally isolated from the terrestrial environment of the Brazilian Atlantic Rainforest. The isolation and identification methods used were described by Schoenlein-Crusius¹⁹.

Table 1. *Aspergillus* strains from Brazilian native Atlantic Rainforest.

<i>Aspergillus ustus</i> (1074 e 1110)	<i>A. sydowii</i> (1072 e 1073)
<i>A. wentii</i> (MLB 439)	<i>A. flavus</i> (MLB 459 e 1112)
<i>A. fumigatus</i> (1082)	<i>A. clavatus</i> (1077)
<i>A. niger</i> (1078)	<i>A. versicolor</i> (1079)
<i>Aspergillus</i> sp. (1071)	<i>Aspergillus</i> sp. (1076)

The ochratoxigenic strain *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174¹⁰ and the aflatoxins B₁ and B₂ producer *Aspergillus flavus* NRRL 5940, were donated by Prof. Dr. Benedito Correa (Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo) to help in testing the analytical procedures.

The aflatoxins standards B₁, B₂, G₁, G₂ were acquired from SIGMA, ochratoxin A were obtained from Dr. Peter Scott, of the Health Protection Branch, Health Welfare of Canada and sterigmatocystin was obtained from Dr. Lucia Valente Soares, FEA/UNICAMP.

All fungal cultures were purified transferring them from the old plates to new ones, five times successively, until no other microorganism were present on the culture media. Then they were plated on potato dextrose agar (PDA) and incubated at 20 to 22°C. After seven days the colonies were transferred to specific media to enhance the toxin production.

METHODS

Method 1: coconut agar medium¹⁴ modified by Bastos⁴ was used as a specific media for toxin production. The reverse side of the colony was observed daily, during six days, under ultra-violet light, to verify the presence of a blue fluorescent ring, an indication of the presence of aflatoxin or OTA, thus characterizing it as a toxigenic strain. Fluorescent colors in specific media may indicate the presence of mycotoxins. Blue colors refer to aflatoxin; blue-green indicates the presence of ochratoxin A, while orange or red may indicate the presence of sterigmatocystin⁴. In the present study the fungal extracts presented many fluorescent spots making it necessary to use different solvent systems, co-chromatography and two-dimensional chromatography to identify the mycotoxins present

The fluorescent spots in this medium were cut off, transferred to a mortar, macerated with chloroform and defatted with hexane. The chloroform phase was concentrated (fungus extract) and then thin-layer chromatography was performed.

Method 2: corn moistened (20g of corn plus 10 ml of distilled water, sterilized at 121°C for 1 h) was used as the second media for toxin production. The incubation period ranged from 10 to 20 days. Mycotoxins were extracted using the method developed by Soares and Rodriguez-Amaya²⁰ as modified by Milanez and Sabino¹⁵.

Aflatoxins and OTA identification were conducted on thin-layer chromatography by visual comparison with standards. Confirmation for aflatoxins and OTA were according to Przybylski¹⁶ and Hunt et al.¹¹, respectively.

The presence of many fluorescent spots justified the

use of two dimensional thin-layer chromatography and multiple-chromatography, in addition to the unidimensional thin-layer chromatography, and the use of specially chosen solvents. For the two dimensional thin-layer chromatography the following solvents were used: (1st) toluene + ethyl acetate+ formic acid, (60+30+10); (2nd) chloroform+ acetone (90+10); or (1st) chloroform+hexane+acetone (85+20+15) and (2nd) toluene+ethyl acetate +formic acid (50+40+10); or (1st) chloroform+methanol (98+2) and (2nd) toluene+ethyl acetate +formic acid (60+30+10).

For chromatography with multiple developments the following solvents were used: (1st) chloroform+acetone+hexane (85+15+20) and (2nd) benzene+acetic acid (90+10); or (1st) benzene+hexane (75+24) and (2nd) benzene+acetic acid (90+10) or chloroform+hexane+acetone (85+15+20) for the identification of the aflatoxins, ochratoxin A and sterigmatocystin.

Toluene + ethyl acetate + formic acid (50+40+10) idem (60+40+0,5); benzene+metanol+acetic acid (96+8+4) and chloroform+acetone+hexane (85+15+20) were employed for the unidimensional chromatography.

RESULTS AND DISCUSSION

The chemical analysis of the fungal extracts of moistened corn and of coconut agar required an extra clean-up, in order to improve the observation, resolution and identification of the fluorescents spots on the TLC plates. So a defatting step with hexane has been introduced.

The results presented on Table 2 were all confirmed by

Table 2. Tested strains of *Aspergillus* spp, fluorescence and detection of mycotoxins

STRAIN	Fluorescences and reverse color on agar coconut medium	Detected Mycotoxin by TLC
<i>A. flavus</i> NRRL 5940 *	P-LB	AFB1, AFB2
<i>A. ochraceus</i> NRRL 3174 *	P-GB	OTA
<i>A. fumigatus</i> (1082)	N-BO	Nd
<i>A. wentii</i> (MLB 439)	P-PY	Nd
<i>A. ustus</i> (1110)	P-PY	Nd
<i>A. ustus</i> (1074)	P-PY	Nd
<i>A. clavatus</i> (1077)	N	Nd
<i>A. niger</i> (1078)	P-PY	Nd
<i>A. sydowii</i> (1072)	N	Nd
<i>A. sydowii</i> (1073)	P-GB	Nd
<i>A. versicolor</i> (1079)	N	Nd
<i>A. flavus</i> (1112)	P-B/BG	Nd
<i>A. flavus</i> (MLB 459)	N	Nd
<i>Aspergillus</i> sp (1071)	P-GB	Nd
<i>Aspergillus</i> sp (1076)	N	Nd

Legend: * standard strains, P- positive; N - negative; Color: LB - light blue; B - blue; BG - blue green; GB - greenish blue; PY - pale yellow; BO - orange brown; nd - not detected.

chemical analysis, in addition to the observation of the fluorescence on the reverse side of the colony of the "standard strains", for which toxin production is well-known. The use of agar coconut medium seems to be an easy and fast way to verify the aflatoxigenicity or ochratoxigenicity of suspected isolates. However, it was found necessary to analyze the coconut agar using thin-layer chromatography to get reliable results and to confirm the identities of the toxins by thin-layer chromatography. Although none of the isolates examined produced aflatoxins, OTA or sterigmatocystin (Table 2), the TLC plates revealed many fluorescent spots. There is still a possibility of the presence of other toxigenic metabolites, whose standards were not available at the time, such as ochratoxin B, penicilic acid and citrinin^{5,10}.

Among the species mentioned in Table 2, *A. clavatus* (1077) and *A. fumigatus* (1082) are considered possible producers of sterigmatocystin¹, but these findings were not confirmed by two dimensional TLC.

Besides producing OTA, *A. clavatus* may produce patulin²⁵. According to Bastos⁴, the coconut agar media may not be an appropriate media to verify the presence of citrinin and patulin.

The methodology tested in this study, including the substrates used, is considered adequate to the objectives, but further research must be carried out to enhance the knowledge about the metabolites produced by tropical Brazilian terrestrial fungi.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Prof. Dr. Benedito Correa of the Universidade de São Paulo for the standard strains, Dr Peter Scott of The Health Protection Branch, Health Canada for the ochratoxin A standard and also to Prof. Lúcia V. Soares of University of Campinas for the standard of sterigmatocystin.

RIALA6/911

Milanez, T.V. et al. Avaliação de linhagens terrestres brasileiras de *Aspergillus* para produção de micotoxinas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):7-11, 2002.

RESUMO. Testes de triagem para verificar a produção de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, ocratoxina A e esterigmatocistina foram conduzidos em 13 linhagens de *Aspergillus* spp, isoladas do ambiente terrestre da Mata Atlântica Brasileira (SP/Brasil). Os meios de agar côco e milho umidificado foram os substratos testados neste estudo. Os extratos dos fungos obtidos a partir dos dois substratos foram submetidos à cromatografia em camada delgada e as micotoxinas estimadas de acordo com as fluorescências apresentadas sob luz ultravioleta. Nenhuma das linhagens testadas apresentou produção das micotoxinas mencionadas. Foi necessário acrescentar uma etapa de confirmação, usando múltipla cromatografia, cromatografia bidimensional e derivação. Tendo em vista a eficiência da metodologia aqui empregada e da presença de muitos pontos fluorescentes desconhecidos, justifica-se a necessidade da ampliação dos estudos sobre a produção de outras micotoxinas em fungos isolados de ambientes tropicais.

PALAVRAS-CHAVE. *Aspergillus*, fungo toxigênico, aflatoxinas, ocratoxina A, meio agar coco, milho umidificado.

REFERENCES

1. Abarca, M.L. et al. New ochratoxigenic species in the genus *Aspergillus*. **J. Food Prot.**, 60 (12): 1580-1582, 1997.
2. Abarca, M.L. et al. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. **Appl. Environ. Microbiol.**, 60: 2650-2652, 1994.
3. Arseculeratne, S.N. et al. Coconut as medium for the experimental production of aflatoxin. **Appl. Microbiol.**, 18(1): 88-94, 1969.
4. Bastos, S.T.G. **Método rápido para detecção de produção de ocratoxina A e esterigmatocistina por *Aspergillus* spp em meios de ágar.** Brasília, 1979, 77p. [Master's dissertation - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília].
5. Ciegler, A. Bioproduction of ochratoxin A and penicilic acid by members of the *Aspergillus ochraceus* group. **Can. J. Microbiol.**, 18: 631-636, 1972.
6. Detroy, R.W.; Lillehoj, E.B.; Ciegler, A. Aflatoxin and related compounds. In: Lin, M.T.; Dianese, J.C. A coconut-agar medium for rapid detections of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. **Phytopathology**, 66: 1466-1469, 1976.
7. Filtenborg, O.; Frisvad, J.C. A simple screening-method for toxigenic moulds in pure cultures. **Lebensm. -Wiss. u.-Technol.**, 13: 128-130, 1980.
8. Filtenborg, O.; Frisvad, J.C.; Svendsen, J.A. Simple screening method for molds producing intracellular mycotoxins in pure cultures. **Appl. Environ. Microbiol.** 45(2): 581-585, 1983.
9. Frisvad, J.C. Taxonomic approaches to mycotoxin identification (Taxonomic Indication of Mycotoxins Content in Foods). In: Cole, R.J. (Ed) **Modern Methods in the Analysis and Structural Elucidation and Mycotoxins.** Academic Press, New York, 1986. p.415-457.

10. Hesseltine, C.W. et al. *Aspergilli* as ochratoxin producers. **Mycologia**, 64: 539-550, 1972.
11. Hunt, D.C.; McConnie, B.R.; Crosby, N.T.; Confirmation of ochratoxin A by chemical derivatisation and high performance liquid chromatography. **Analyst**, 105: 91-92, 1980.
12. Krivobok, S. et al. Screening methods to detect toxigenic fungi in liquid medium. **J. Microbiol. Meth.**, 7:23-36, 1987.
13. Land, C.J.; Hult, K. Mycotoxin production by some wood-associated *Penicillium* spp. **Lett. Appl. Microbiol.**, 4: 41-44, 1987.
14. Lin, M.T.; Dianese, J.C. A coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. **Phytopathology**. 66:1466-1469, 1976.
15. Milanez, T.V.; Sabino, M. Ochratoxina A em feijão comercializado no Estado de São Paulo e sua estabilidade no cozimento. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 49:131-135, 1989.
16. Przybylski, W. Formation of aflatoxin derivatives on thin-layer chromatographic plates. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 58: 163-164, 1975.
17. Ruiz, J.A. et al. Aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* in the mould flora of different greenhouse substrates for the cultivation of cucumber (*Cucumis sativus*, L.). **Int. J. Food Microbiol.**, 29: 193-199, 1996.
18. Sara, S.; Fennell, D.I.; Hesseltine, C.W. Aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* detected by fluorescence of agar medium under ultraviolet light. **Appl. Microbiol.**, 27:1118-1123, 1974.
19. Schoenlein-Crusius, I. H. **Sucessão fúngica em folhas de *Alchornea triplinervia* (Spreng.) M. Arg. em ambientes aquático e terrestre, na mata atlântica, Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP.** Rio Claro, 1993. 398 p. [Doctor's Thesis – Faculdade de Biologia, Universidade do Estado de São Paulo].
20. Soares, L.M.V.; Rodriguez-Amaya, D.B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 72:22-26, 1989.
21. Stack, M.E. et al. Mycotoxins produced by isolates of *Aspergillus ochraceus* found in coffee. Proceedings of V International IUPAC **Symposium on mycotoxins and phycotoxins** - Vienna/Technical University/Austria - 1-3/09/82. p.196-199.
22. Trenk, H.L.; Butz, M.E.; Chu, F.S. Production of ochratoxins in different cereal products by *Aspergillus ochraceus*. **Appl. Microbiol.**, 21: 1032-1035, 1971.
23. Ueno, Y. et al. Use of monoclonal antibodies, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoaffinity column chromatography to determine ochratoxin A in porcine sera, coffee products and toxin-producing fungi. In: Castegnaro, M.; Plèstina, R.; Dirheimer, G.; Chiernozemsky, I.N.; Bartsch, H. (eds). **Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours**. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, 1991. p.71-75.
24. Ueno, Y. et al. **Application of Mab-based ELISA and affinity chromatography for surveys of ochratoxin A in swine sera, coffee products and toxin producing fungi.** Meeting on Mycotoxins, Nephropathy and Urinary Tract Tumours, Lyon, France, 1991. p.47.
25. Wilson, D.M.; Abramson, D. Mycotoxins. In: Sauer, D.B. (ed) **Storage of cereal grains and their products**. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, 1992. p. 341-391.

Recebido em 07/05/2002; Aprovado em 02/09/2002

Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangue *Crassostrea brasiliana* do estuário de Cananéia-SP, Brasil

Pb, Cd, Hg, Cu and Zn in mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* Cananéia estuary , São Paulo – Brazil

Ingrid C. MACHADO¹ *

Franca D. de MAIO²

Carmen S. KIRA²

Maria de Fátima H. CARVALHO²

RIALA6/912

Machado, I. C. et al. Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangue *Crassostrea brasiliana* do estuário de Cananéia-SP, Brasil **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):13-18, 2002

RESUMO. Foram avaliados os níveis de contaminação pelos metais pesados Cd, Hg, Pb, Cu e Zn da ostra *Crassostrea brasiliana* do estuário de Cananéia-SP. Foram feitas amostragens do molusco no período de dezembro de 1996 a setembro de 1997, a partir de lotes destinados à venda, perfazendo um total de 69 amostras. As medianas obtidas para o mercúrio, chumbo, cádmio, cobre e zinco, na base úmida, respectivamente: 0,02; 0,08; 0,11; 2,6 e 393 mg/kg, encontram-se abaixo dos limites máximos preconizados pela legislação brasileira, exceto para o zinco. Constatou-se que o consumo do produto em questão não apresenta riscos aparentes à saúde, no tocante a este parâmetro específico de qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: moluscos; ostra de mangue; *Crassostrea brasiliana*; metais pesados; Cananéia.

INTRODUÇÃO

Os metais pesados estão dentre as várias substâncias que podem provocar problemas de intoxicação humana pela ingestão de alimentos contaminados. De acordo com Mantovani¹⁹, os contaminantes metálicos contidos em certos alimentos, principalmente em pescados, estão muitas vezes

diretamente relacionados com a descarga de efluentes industriais dentro de rios, lagos e oceanos.

No estuário de Cananéia, a contaminação por metais pesados está relacionada com a atividade extrativista mineral exercida na bacia do Rio Ribeira de Iguape, referente às extrações de calcáreo, fosfato, argila, dolomita, chumbo, calcita, prata, ouro, etc³⁰. Inúmeros problemas foram causados pela

* Endereço para correspondência:¹ Instituto de Pesca/Sec. da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo Centro de Aquicultura, Núcleo de Pesquisa de Cananéia – Av. Prof. Besnard, s/n^o, Cananéia-SP, CEP 11990-000, Fone/fax-(0XX13)8511555, e-mail – cananeia@rgt.matrix.com.br

² Instituto Adolfo Lutz/Sec. de Estado da Saúde-SP – Seção de Equipamentos Especializados. Av. Dr. Arnaldo, n^o 355, B. Cerqueira César, CEP01246-902, Fone (0XX11)3068 2923; Fax (0XX11)3085 3505

introdução de rejeitos minerais nos rios, particularmente metais pesados, destacando-se as suas repercussões negativas na fauna aquática.

A bioacumulação de metais pesados em peixes é evidente, mesmo quando estes contaminantes se encontram na água em concentrações quase não detectáveis. No caso de moluscos bivalves, sendo estes organismos filtradores (que se alimentam através de um processo de filtração da água e retenção das partículas em suspensão, principalmente plâncton e microrganismos presentes na água), sofrem de maneira intensa a bioacumulação destes contaminantes, tornando-se muitas vezes impróprios para o consumo humano.

No Brasil existem vários relatos de contaminação da água e organismos aquáticos por metais. Em alguns deles foi evidenciada a ocorrência de bioacumulação em moluscos, como a contaminação da Baía de Todos os Santos-BA por Cd, Hg, Pb e Zn, provocada pelo despejo de esgoto urbano e rejeitos da indústria petroquímica e metalúrgica; da Baía de Guanabara-RJ, por Cr, Cu, Mn e Zn, também devida ao despejo de esgoto urbano e rejeitos da indústria petroquímica e metalúrgica; da Barra da Tijuca-RJ, por Cu, Mn e Zn, sem causa definida; da Baía de Sepetiba-RJ, por Cd, Cr e Zn, provocada pelo despejo de rejeitos da indústria metalúrgica e a contaminação do Complexo Estuarino-lagunar de Iguape-Cananéia por Pb, oriunda da atividade mineradora no leito do Rio Ribeira de Iguape (Eysink⁸; Pfeiffer²⁵; Rezende citado por José¹⁵).

A ostra de mangue *Crassostrea brasiliana* consiste em uma espécie estuarina de ocorrência em quase toda a costa brasileira, desde o Estado de Santa Catarina até o Maranhão. No Estado de São Paulo é muito apreciada pelo seu sabor, sendo explorada comercialmente no litoral sul, há várias décadas, principalmente pela população local. A espécie vem sendo estudada e descrita na literatura por diversos autores, sendo salientada a possibilidade de cultivo e manejo da espécie^{6,11,12,21,22,23,24,29}.

Atualmente, cerca de 47 produtores de ostras da região de Cananéia atuam em conjunto, por meio da COOPEROSTRA-Cooperativa dos Produtores de Ostras de Cananéia, concentrando suas atividades no extrativismo combinado com o manejo de bancos naturais, através da engorda de ostras em viveiros tipo tabuleiro. O grupo inicia, ainda, com o apoio do Instituto de Pesca/SAA-SP, as primeiras tentativas de captação de sementes em substratos artificiais, visando a adoção da tecnologia de cultivo integral da espécie, além de estar realizando experimentos com sistemas de criação em “lanternas” (Francisco de Sales Coutinho– Presidente da COOPEROSTRA – com. pessoal, dez 2000). Além disso, o grupo construiu uma estação depuradora, a qual garante a qualidade sanitária da ostra comercializada, no tocante à contaminação orgânica^{7,18}.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o nível de ocorrência dos metais pesados: mercúrio, cádmio, chumbo, zinco e cobre na ostra de mangue *Crassostrea brasiliana* do estuário de Cananéia, com vistas ao ordenamento e viabilização da produção comercial deste molusco obtido por extrativismo, manejo

(engorda) ou cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de ostras foram coletadas no período de dezembro de 1996 a setembro de 1997, a partir de lotes destinados à venda, extraídos nos manguezais do estuário de Cananéia por extratores tradicionais das comunidades de Porto Cubatão, Mandira, Retiro e Itapitangui. As amostras foram coletadas com frequência quinzenal, consistindo de duas dúzias de ostras adultas, com idade acima de 1 ano e de tamanho comercial (entre 5 e 10 cm). Em cada dia de amostragem obtinha-se, desta forma, até 4 amostras, de acordo com a procedência dos lotes. Coletou-se, em todo o período, um total de 69 amostras de ostras.

As amostras foram coletadas por água, na comunidade de Retiro, utilizando-se uma embarcação de alumínio de 6m, tipo “voadeira”, e um motor de 25hp e por terra, nas comunidades de Porto Cubatão, Mandira e Itapitangui. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos de malha plástica vazada, os quais foram lacrados com presilhas plásticas numeradas, identificados, colocados em caixas de papelão seladas com fita crepe e transportados até o laboratório, onde chegavam vivas e com as valvas firmemente fechadas.

No laboratório, as ostras foram lavadas com água corrente e abertas utilizando-se uma pequena faca. Os tecidos moles das ostras foram cuidadosamente separados da concha, utilizando-se uma espátula plástica, triturados em multiprocessador e imediatamente analisados ou congelados em freezer doméstico para análise posterior.

Para análise de Pb, Cd, Cu e Zn, as amostras foram mineralizadas por via seca, segundo método da AOAC². O chumbo e o cádmio foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama², sendo que o Cd foi lido diretamente, enquanto o Pb foi pré-concentrado por meio de complexação com pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) e posterior extração em metilisobutil cetona. As determinações foram realizadas utilizando-se curvas de calibração nas seguintes concentrações: 0,10 a 1,0 mg/L para Pb e 0,050 a 1,0 mg/L para Cd.

As determinações de cobre e zinco foram efetuadas por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio acoplado indutivamente², nos seguintes comprimentos de onda: 324,756 nm e 213,853 nm, respectivamente. Para cobre e zinco foram utilizadas curvas de calibração nas faixas de 1,0 a 10,0 mg/L e 2,5 a 10,0 mg/L, respectivamente.

O mercúrio foi determinado por espectrometria de absorção atômica com gerador de vapor frio, utilizando sistema de injeção em fluxo, nas amostras previamente digeridas com H₂SO₄ / H₂O₂ / KMnO₄³¹, sendo a curva de calibração construída utilizando-se padrões na faixa de concentração de 1,0 a 10,0 µg/L.

Como não possuímos material de referência certificado de ostra, para a verificação da exatidão do método foi empregado

o método de adição de padrão para cobre, zinco, cádmio e chumbo, utilizando-se adições correspondentes a 1, 2 e 4 vezes a concentração do menor padrão, de tal maneira que as adições estivessem dentro da faixa de calibração. As porcentagens médias de recuperação foram respectivamente de 95%, 93%, 97% e 109%.

Quanto ao Hg, foi utilizado material de referência certificado “fish flesh homogenate”, sendo a recuperação de 99%.

Os limites de quantificação para Hg, Cu, Cd, Pb e Zn foram, respectivamente, 0,002; 0,02; 0,05; 0,10 e 0,14 mg/kg.

Para a avaliação estatística dos resultados, foi aplicada a análise de variância (ANOVA one-way) utilizando programa Graph Pad Instat 1990-1993 versão 2.01.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Calculou-se a média, desvio-padrão, mediana, valor mínimo e máximo de ocorrência, em mg/kg, para cada metal pesquisado, considerando-se todas as amostragens realizadas. Os resultados encontrados estão apresentados na TABELA 1.

Tabela 1 – Avaliação estatística dos resultados obtidos na determinação de cádmio, chumbo, mercúrio, cobre e zinco em ostras de mangue *C. brasiliana*, em mg/kg, na base úmida.

Parâmetro	cádmio	chumbo	mercúrio	cobre	zinco
Média	0,11	0,08	0,02	2,8	402
Desvio Padrão	0,036	0,026	0,006	0,96	188
Mediana	0,11	0,08	0,02	2,6	383
Valor Mínimo	0,02	0,04	ND*	1,5	145
Valor Máximo	0,22	0,17	0,03	7,7	844

nº de amostras - 69

* ND – não detectado

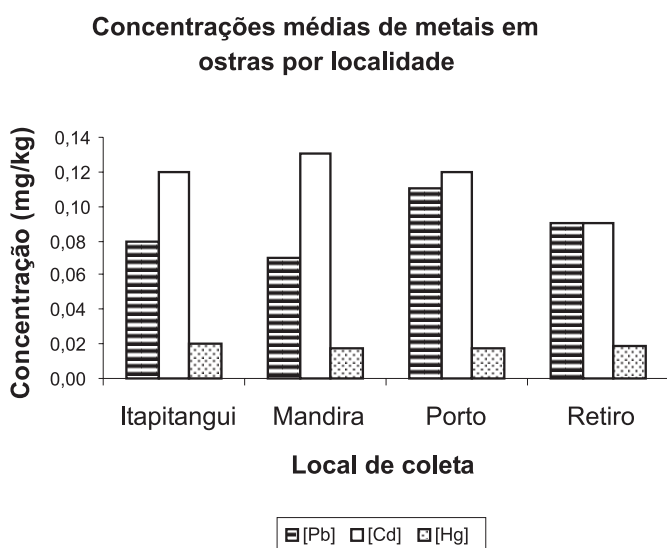


Figura 1: Concentrações médias de Pb, Cd e Hg em ostras, por local de coleta

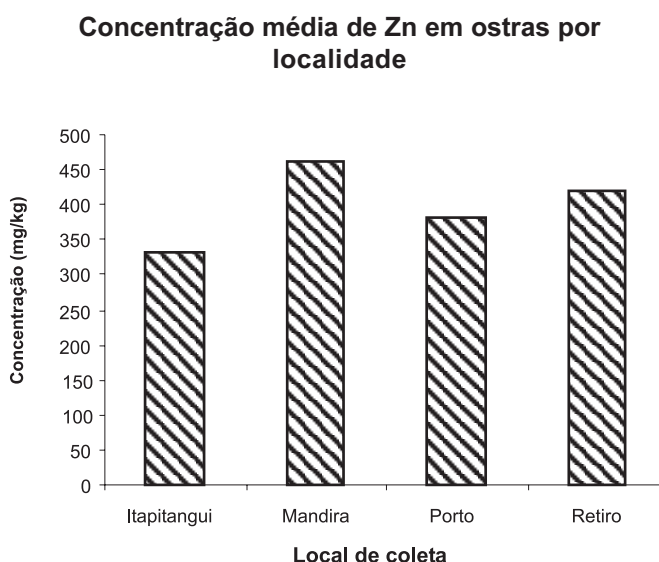


Figura 2: Concentração média de Zn em ostras por local de coleta

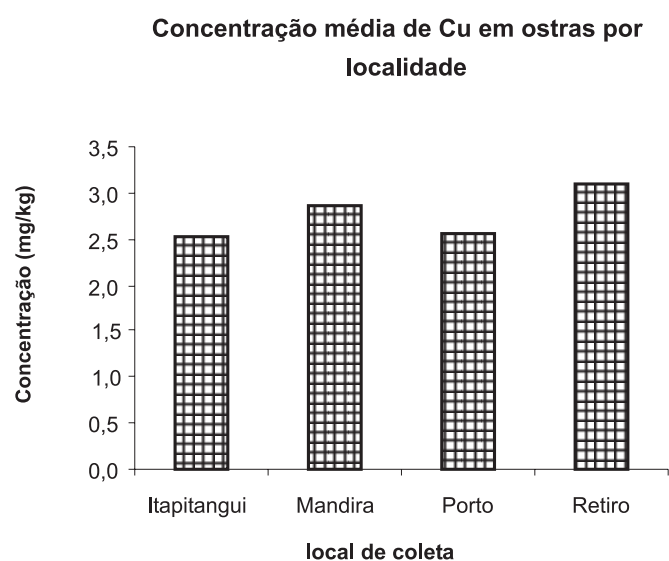


Figura 3: Concentração média de Cu obtida por local de coleta

Os valores médios, bem como os valores máximos de ocorrência de Cd, Pb e Hg nas ostras analisadas encontram-se abaixo dos limites máximos preconizados pela legislação brasileira (Portaria N°685/98)⁵, respectivamente 1,0; 2,0 e 0,5 mg/kg. Com relação ao cobre todas as amostras apresentaram resultados satisfatórios e de acordo com o Decreto 55871/65⁴ que estabelece o limite de 30,0 mg/kg.

Para o zinco, tanto a média quanto o valor mínimo encontram-se acima do limite estabelecido pela legislação brasileira em vigor (Decreto 55871/65)⁴, que é 50,0 mg/kg, para qualquer tipo de alimento, exceto bebidas alcoólicas e sucos. Na Austrália o limite máximo permitido para ostras é de 1000 mg/kg¹³, sendo que o JECFA ainda não estabeleceu avaliação toxicológica para o zinco.

Na figura 1 estão representadas as concentrações médias de Pb, Cd e Hg em função das diferentes localidades de coleta. As concentrações médias de Zn e Cu em ostras das diferentes localidades estão representadas nas figuras 2 e 3, respectivamente.

A análise de variância (ANOVA one-way) foi aplicada a fim de verificar se havia diferenças estatisticamente significantes entre os teores de metais encontrados nas ostras das diferentes regiões. No caso do Cu, Zn e Hg não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre as concentrações encontradas nos diferentes locais de coleta.

Para o Pb foram verificadas diferenças entre os níveis encontrados nas localidades de Mandira e Porto e Mandira e

Retiro e, para o Cd, os teores encontrados nas localidades de Mandira e Retiro foram considerados estatisticamente diferentes.

Não foram encontradas citações na literatura nacional e internacional sobre contaminantes metálicos na espécie de ostra estudada; portanto, a discussão foi feita em relação aos valores encontrados por outros autores que estudaram espécies diferentes de ostras, em vários países.

Em alguns trabalhos os resultados encontrados são expressos na base seca. Para efeito de comparação, as concentrações médias dos metais analisados foram também calculadas na base seca, sendo o valor médio da umidade encontrado de 80%.

Os teores médios elevados de zinco por nós obtidos (402 ± 188 mg/kg, base úmida e 2010 ± 940 mg/kg, base seca) são comparáveis aos encontrados por Presley²⁷, na espécie *C. virginica*, no Golfo do México (2150 ppm, base seca); Lopez-Artíguez¹⁷, em *C. angulata*, na Espanha (476 µg/g, base úmida); Al-Sayed¹ em *P. radiata*, no Golfo da Arábia (334 ± 96 µg/g, base úmida) e Sadig²⁸, *P. radiata*, no Golfo da Arábia ($55-1189$ µg/g, na base úmida) e estão de acordo com McCulloch²⁰ que afirma que as ostras têm a característica natural de acumular zinco. Este acúmulo está relacionado com as funções reprodutivas do animal e com o seu estágio de maturação gonadal, que não foram objetos deste estudo.

Nesse sentido, as ostras são boas fontes de zinco¹⁶ e, de acordo com os resultados encontrados, a ingestão de cerca de 40g supre a ingestão diária recomendada pelo Ministério da Saúde, 1998⁵ que é de 15 mg para adultos.

Estudos realizados por Lytle (citado por Bou-Olayan³) e Lopez-Artíguez¹⁷, calculados na base úmida, em áreas não contaminadas, apresentaram teores de chumbo, respectivamente de 0,50 µg/g, na espécie *R. cuneata*, na Baía de St. Louis, Estados Unidos e 0,25 µg/g, em *C. angulata*, na Espanha, teores estes que são superiores aos encontrados neste trabalho (0,08 mg/kg, base úmida; 0,40 mg/kg, base seca).

Com relação ao cádmio, as concentrações descritas, em regiões livres de contaminação, por Hunter¹⁴, na espécie *C. gigas*, no Havaí (0,54 - 0,69 µg/g, base seca) e Favretto¹⁰, *O. edulis* L., Itália (0,29 - 1,01 µg/g, base seca) são semelhantes aos encontrados neste estudo ($0,11 \pm 0,036$, base úmida e $0,55 \pm 0,18$, base seca).

Os teores de mercúrio por nós encontrados ($0,02 \pm 0,006$ mg/kg, base úmida e $0,10 \pm 0,03$, base seca) são comparáveis aos relatados por Favretto¹⁰, na espécie *O. edulis* L., na Itália ($0,091 - 0,586$ µg/g, base seca); Phillips²⁶, *C. commercialis*, Tailândia ($< 0,10$ µg/g, base seca) e Presley²⁷, *C. virginica*, no Golfo do México (0,127 ppm, base seca).

Para o cobre, os níveis encontrados neste estudo ($2,8 \pm 0,96$ mg/kg, base úmida e $14,0 \pm 4,8$ mg/kg, base seca), são muito menores que os relatados por Presley²⁷ (146 ppm, base seca) e Lopez-Artíguez¹⁷ (6,42 µg/g, base úmida) e são comparáveis aos relatados por Al-Sayed¹ ($1,63 \pm 0,25$ µg/g, base úmida).

Estudos realizados por Eysink⁹, em 1988, no Complexo

Estuarino-lagunar de Iguape e Cananéia, mostraram que a região não apresentava teores de zinco, cobre e chumbo acima dos limites recomendados, tanto para a preservação da vida aquática quanto para o sedimento, embora em vários pontos do Vale do Ribeira tivesse sido detectada a presença de níveis elevados de Pb, Cu e Zn.

Os resultados encontrados no presente trabalho confirmam os estudos de Eysink⁹, quanto à não ocorrência de contaminação no estuário de Cananéia por Cu, Hg, Zn e Pb.

CONCLUSÃO

Concluiu-se, por meio do estudo realizado, que a ostra *Crassostrea brasiliana* proveniente do estuário de Cananéia apresenta concentrações de Cd, Pb, Cu e Hg abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, não oferecendo, por conseguinte, riscos aparentes ao consumo humano, no tocante a este parâmetro específico de qualidade, o que torna viável a sua exploração e produção comercial.

RIALA6/912

MACHADO, I. C. et al. Pb, Cd, Hg, Cu and Zn in mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* from Cananéia estuary, São Paulo – Brazil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1): 13-18, 2002

ABSTRACT. Samples of Mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* from Cananéia estuary, São Paulo-Brazil, were analyzed for heavy metal contamination by flame atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP OES). 69 samples were collected, from commercial plots, from December of 1996 to September of 1997. The values of the medians, wet weight basis, obtained for mercury, lead, cadmium, copper and zinc were respectively: 0.02; 0.08; 0.11; 2.6 and 393 mg/kg. No samples analyzed were found in violation of the limits recommended by the Brazilian Food Regulations for fishery products, except for zinc. The consumption of this product can't offer risks to human health, relating to the quality parameter analyzed.

KEY WORDS. molluscs; mangrove oyster; *Crassostrea brasiliana*; heavy metals, Cananéia.

Podemos dizer que as ostras são boas fontes de zinco. Sugerimos que os órgãos competentes do Ministério da Saúde estabeleçam um limite máximo específico para Zn em ostras, tendo em vista o acúmulo natural desse mineral nesse alimento.

REFERÊNCIAS

1. Al-Sayed H. A.; Mahasneh, A. M.; Al-Saad J. Variations of trace metal concentrations in seawater and pearl oyster *Pinctada radiata* from Bahrain (Arabian Gulf). **Mar. Pollut. Bull.**, 28(6): 370-374, 1994.
2. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, 16th ed. Gaithersburg, Maryland, USA, 1995, ch. 9, p.16-18.
3. Bou-Olayan, A-H. et al. Accumulation of lead, cadmium, copper and nickel by pearl oyster, *Pinctada radiata*, from Kuwait Marine environment. **Mar. Pollut. Bull.**, 30(3): 211-214, 1995.
4. BRASIL, Decreto 55.871 de 26 de março de 1965. Dispõe sobre normas regulamentadoras do emprego de aditivos para alimentos. **Diário Oficial**, Brasília, DF, 9 abr. 1965, Sç. 1.
5. BRASIL, Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998. **Diário Oficial**, Brasília, DF, 24 set. 1998, Sç. 1.
6. Campolim, M.B ; Machado I.C. **Manejo de Bancos Naturais de Ostras, Depuração e Comercialização**. Projeto aprovado e financiado pelo Programa de Execução Descentralizada/PNMA/Min. Meio Ambiente, Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, 1995.
7. Campolim, M. B.; Machado I.C. Proposta de ordenamento da exploração comercial da ostra do mangue *Crassostrea brasiliana* na região estuarino-lagunar de Cananéia-SP. **Artigos Científicos do Seminário Ciência e Desenvolvimento Sustentado**. Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo, São Paulo, p 275-287, julho de 1997.
8. Eysink, G. G. J.; Pádua, H. B. de; Piva-Bertoletti, S. A. E. Considerações preliminares sobre os níveis de contaminação por metais pesados e pesticidas organoclorados no Complexo Estuarino-lagunar Iguape-Cananéia e Vale do Ribeira. **Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira**. Cananéia, São Paulo, abr. 3:258-66, 1987.
9. Eysink, G. G. J. et al. Metais pesados no Vale do Ribeira e em Iguape-Cananéia. **Revista CETESB de Tecnologia Ambiente**, 2(1): 6-13, 1988.
10. Favretto, L et al. Differentiation of wild oysters from three sites by chemometric procedures. **Anal. Chim. Acta**, 248: 51-58, 1991.
11. FIPERJ/Instituto de Pesca. **Apoio ao Desenvolvimento do Cultivo de Moluscos Bivalves no Brasil** (Relatório para a FAO), 1989, 181p.
12. Galvão, M. S. N. et al. Aspectos reprodutivos da ostra *Crassostrea brasiliana* de manguezais do estuário de Cananéia (25° S; 48° W). **Bol. Inst. Pesca**, 26(2): 27-42, 2000.
13. Hungspreugs, M.; Yaunghthong, C. The present levels of heavy metals in some mollusks of the upper Gulf of Thailand. **Water, Air and Soil Poll.**, 22: 395-402, 1984.
14. Hunter, C.L. et al. Contaminants in oysters in Kaneohe Bay, Hawaii. **Mar. Pollut. Bull.**, 30(10): 646-654, 1995.
15. José, V. F. em **Bivalves e a Segurança do Consumidor**. São Paulo, 1997 (Dissertação de Mestrado.Ciência Ambiental, USP.)

16. King, I. et al. Shellfish: Proximate composition minerals, fatty acids, and sterols. **J. Am. Diet. Assoc.**, 90(5): 677-685, 1990.
17. López-Artíguez, M.; Soria, M.L.; Repetto, M. Heavy metals in bivalve molluscs in the Huelva Estuary. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 42: 634-642, 1989.
18. Machado, I. C.; Campolin M. B. Implantação de uma estação depuradora comunitária no município de Cananéia-SP, visando a certificação sanitária da produção da ostra do mangue *Crassostrea brasiliana*. **Higiene Alimentar**, 13 (61): 60-61, 1999.
19. Mantovani, D. M. B. Contaminantes Metálicos em Pescado. - **Seminário sobre Controle de Qualidade na Indústria de Pescado. Instituto de Tecnologia de Alimentos** - Universidade Católica de Santos, Santos, jul.1988, 303 p..
20. McCulloch, W. et al. Zinc from oyster tissue as causative factor in mouse death in official bioassay for paralytic shellfish poison. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 72(2):84-86, 1989.
21. Pereira, O. M. Evolução da Tecnologia de Cultivo de Ostra *Crassostrea brasiliana* em Cananéia, São Paulo, Brasil. In: **Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira**, Academia de Ciências do Estado de São Paulo, 1987.
22. Pereira, O.M. A imersão Prévia de Coletores de Larvas de ostras como fator de aumento da fixação de *Crassostrea rhizophorae*. In: **6º Congresso Latino Americano de Aquicultura, 5ª Congresso Brasileiro de Aquicultura**, Florianópolis-SC, 1988.
23. Pereira, O. M. et al. Avaliação do estoque da ostra *Crassostrea brasiliana* (LAMARCK, 1819) em bosques de manguezal da região estuário-lagunar de Cananéia (025°S; 048°W). **Bol. Inst. Pesca**, 26(1):17-31, 2000 a.
24. Pereira, O. M. et al. **Programa de desenvolvimento da criação ordenada de moluscos bivalves no Estado de São Paulo**. São Paulo, Instituto de Pesca, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria da Agricultura e Abastecimento. Série Relatórios Técnicos 02, 2000 b, 27p.
25. Pfeiffer, W.C. et al. Metais pesados no pescado da Baía de Sepetiba, Estado do Rio de Janeiro, RJ. **Ciência e Cultura**, São Paulo, 37(2): 297-302, 1985.
26. Phillips, D.J.H. Trace metals in bivalve molluscs from Thailand. **Mar. Environ. Res.**, 15:215-234, 1985.
27. Presley, B. J.; Taylor, R. J.; Boothe, P. N. Trace metals in Gulf of Mexico oysters. **Sci. Total Environ.**, 97/98: 551-593, 1990.
28. Sadig, M.; Alam, I. Metal Concentrations in pearl oyster, *Pinctada radiata*, collected from Saudi Arabian Coast of the Arabian Gulf. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 42: 111-118, 1989.
29. Secretaria de Estado do Meio Ambiente de São Paulo. **Projeto Manejo Sustentável de Recursos Naturais do Complexo Estuarino Lagunar de Iguape e Cananéia**. Fundação Florestal-SMA/SP, 1993.
30. Setti, A. A. **A necessidade do uso sustentável dos recursos hídricos** - MMA / IBAMA, Brasília-DF, 1994. 344 p.
31. Zenebon, O. **Determinação de mercúrio: uso de H₂O₂ / H₂SO₄ na preparação de amostras de alimentos e estudo sistemático de oxidantes na preparação de amostras de urina**. São Paulo, 1995 - Tese de doutorado, Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

Recebido em 20/08/2001; Aprovado em 09/05/2002

Determinação dos teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em moluscos (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* e *Mytella falcata*)

Determination of Pb, Cd, Hg, Cu and Zn levels in molluscs (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* and *Mytella falcata*)

Orlando M. PEREIRA¹
Marcelo B. HENRIQUES¹
Odair ZENEBON²
Alice SAKUMA^{2*}
Carmen S. KIRA²

RIALA6/913

Pereira, O. M. et al. Determinação dos teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em MOLUSCOS (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* e *Mytella falcata*). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):19-25, 2002

RESUMO. Os moluscos bivalves quando ingeridos podem oferecer risco à saúde pública por serem organismos filtradores e bioacumuladores de resíduos químicos e biológicos. O objetivo deste trabalho foi determinar os teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn nos bivalves *C. brasiliana*, *P. perna* e *M. falcata* coletados em vários bancos naturais do litoral da Baixada Santista. No período de setembro de 1996 a fevereiro de 1997, foram coletadas e analisadas 70 amostras provenientes de doze bancos naturais. As determinações analíticas de Hg no tecido mole dos bivalves foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com gerador de vapor frio, enquanto que o Pb, Cd, Zn e Cu foram analisados por ICP OES. Os resultados revelaram que as amostras apresentaram níveis de concentração permitidas pelas normas legais vigentes com relação aos teores de Pb, Cd, Hg e Cu analisados. Todas as amostras de mexilhão e sururu analisadas apresentaram teores de zinco abaixo do valor estabelecido pela legislação brasileira, que é de 50,0 mg/kg, exceto todas as amostras de ostras *C. brasiliana*.

PALAVRAS-CHAVE. Bivalve, Hg, Pb, Cd, Cu, Zn, espectrometria de absorção atômica por vapor frio, CV/AAS, ICP OES

¹ Instituto de Pesca – Av. Bartolomeu de Gusmão, 192 – Santos – SP, CEP 11045-401

² Instituto Adolfo Lutz – Av. Dr. Arnaldo, 355 – São Paulo – SP, CEP 01246-902

* Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz, Divisão BQ – Av. Dr. Arnaldo, 355 – São Paulo – SP, CEP 01246-902. E – mail: alice@ial.sp.gov.br

INTRODUÇÃO

Na década de 70, a Baixada Santista foi um dos alvos de maior contaminação ambiental devido à crescente industrialização²⁵ e despejos indiscriminados de rejeitos químicos sem prévio tratamento, acarretando a poluição do ar, solo e água. Os riscos ao homem e ao meio ambiente causados pela presença de metais pesados têm despertado a atenção das autoridades ambientais para o controle da emissão de poluentes e monitoração.

As concentrações de metais para as diferentes espécies da biota e para o homem podem tornar-se altamente tóxicas com os processos de bioacumulação e biomagnificação³⁰.

Alguns metais são classificados como elementos-traço indispensáveis à vida animal, mas quando ocorrem em elevadas taxas, tornam-se prejudiciais⁹, como é o caso dos elementos Cu e Zn. Metais pesados como o mercúrio, cádmio e o chumbo são considerados não-essenciais devido à sua elevada toxicidade^{17, 23}, além de apresentarem efeitos cumulativos. Esses metais estão presentes naturalmente no ambiente em baixas concentrações, porém as indústrias muitas vezes lançam resíduos químicos sem prévio tratamento da água contaminando os organismos marinhos.

Os estuários e baías da Baixada Santista, no passado, foram afetados pela poluição química, mas mesmo com a presença de contaminantes, as pescarias de crustáceos, peixes e extração de moluscos bivalves, destinados ao consumo humano sempre ocorreram, tornando-se necessária a monitorização contínua daquelas regiões. Os mexilhões e ostras, por serem filtradores e concentrarem poluentes presentes na água onde vivem, são utilizados mundialmente como indicadores de poluição marinha^{21, 22, 29} e, para este programa de monitorização houve o cuidado de coletar amostras desses bivalves nos mesmos locais de onde, rotineiramente, são retirados para a comercialização. Este procedimento preventivo deveria ser feito para evitar episódios de efeitos retardados com poluentes industriais, como foi o caso de Minamata, no Japão, onde durante muitos anos lançou-se no mar, efluente industrial contendo mercúrio, na época considerado inofensivo. Como consequência, morreram muitas pessoas contaminadas por ingestão de moluscos bivalves e peixes contaminados por Hg. Na década de 1950 surgiram casos de doenças neurológicas, que levavam à paralisia e até a morte¹⁵.

Outro episódio de extrema gravidade ocorrido no mesmo país foi a intoxicação por Cd, responsável por muitos óbitos causados por atrofia do esqueleto (doença do itai-itai)^{10, 26, 27}.

Assim, o ambiente marinho da Baixada Santista torna-se motivo de preocupação quanto ao aspecto de saúde pública, pois crustáceos e moluscos bivalves produzidos na região são comercializados e consumidos pela população local. Diante desses fatos, verificou-se a necessidade de analisar os bivalves consumidos a fim de avaliar se os mesmos estavam contaminados.

O bivalve mais abundante na região é o mexilhão *Perna*

perna, seguido do sururu *Mytella falcata* e da ostra *Crassostrea brasiliana* e por isso eles foram escolhidos para o presente estudo. De acordo com Kang et al.¹⁸, nos programas de monitorização, as espécies representativas são aquelas que se apresentam em maior abundância e distribuição. Observamos que os bancos naturais dos mexilhões dos municípios de Peruíbe, Itanhaém e Mongaguá são pequenos (inferiores a 600m de extensão) e de fácil acesso, quando comparados aos demais bancos naturais de outros municípios, que apresentam alguns quilômetros de extensão e de difícil acesso.

O objetivo desse trabalho foi determinar os níveis de Pb, Cd, Hg, Cu e Zn no tecido mole dos bivalves provenientes de vários locais da Baixada Santista e mais consumidos pela população local, a fim de avaliar os riscos à saúde pública.

MATERIAL E MÉTODO

Amostragem:

No período de setembro de 1996 a fevereiro de 1997 foi coletado um total de 70 amostras de bivalves adultos, provenientes de doze bancos naturais dos municípios de Bertioga, Guarujá, Santos, São Vicente, Praia Grande, Mongaguá, Itanhaém e Peruíbe, cujas localidades estão identificadas na figura 1 com a seguinte numeração: 1 (Guaraú), 2 (Prainha), 3 (Plataforma), 4 (Ponta do Forte), 5 (Paranapuã), 6 (Urubuqueçaba), 7 (Palmas), 8 (Pompeva), 9 (Guaiúba), 10 (Candinho), 11 (Ponta Selada), 12 (Itaguareé). Os sururus *M. falcata* e as ostras *C. Brasiliana* foram extraídos somente nos bancos nos 10 e 12, respectivamente e os mexilhões *P. Perna* nas demais localidades. Foram efetuadas 5 a 6 coletas em cada local.

Os bivalves foram lavados com água do mar no seu local de origem, posteriormente acondicionados em caixas isotérmicas e a seguir transportados para o laboratório, onde foram

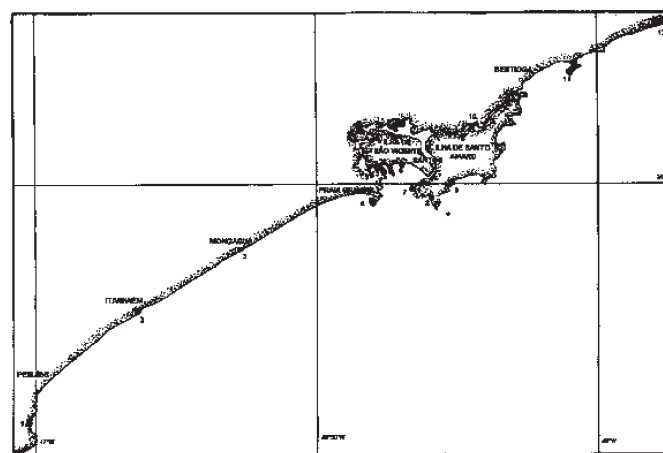


Figura 1. Locais das coletas dos moluscos bivalves no litoral da Baixada Santista.

removidas a carne do molusco. As partes comestíveis foram homogeneizadas em multiprocessador e acondicionadas em sacos de polietileno. Em seguida foi procedida à análise dos metais.

Reagentes:

- H_2SO_4 isento de Hg;
- $KMnO_4$ isento de Hg;
- HCl P. A. com baixo teor de metais;
- HNO_3 P. A.;
- $SnCl_2$ P. A.;
- H_2O_2 50% P. A.;
- Padrões de Pb, Cd, Hg, Cu e Zn de 1000 mg/L marca Merck com certificado de análise e rastreado com padrões NIST;

Método analítico:

As análises de Pb, Cd, Cu e Zn foram feitas em duplicata, segundo o método da AOAC². Foram pesadas 25,0000 g de amostra em cápsulas de porcelana e após a secagem em estufa, foram transferidas para mufla com aumento gradativo de temperatura até 450°C. Para a obtenção de cinzas isentas de carvão foi utilizado como “ashing-aid” ácido nítrico. As cinzas obtidas foram dissolvidas em HCl 10% (v/v) e as concentrações foram determinadas por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente, utilizando o espectrômetro Optima 3000 DV, Perkin Elmer, nas seguintes condições: rádio-frequência de 1350 W, fluxo de plasma de 15 L/min, fluxo de nebulização de 0,85 L/min, fluxo de argônio auxiliar de 0,5 L/min e fluxo de amostra de 1,5 mL/min. A leitura dos elementos foi feita nos seguintes comprimentos de onda (λ) em nm: $\lambda_{Cd} = 226,503$; $\lambda_{Cu} = 324,756$; $\lambda_{Pb} = 261,418$; $\lambda_{Zn} = 213,853$, através de curvas analíticas, elaboradas com soluções de trabalho multi-elementares com concentrações entre 0,02 e 0,5 mg/L para o cádmio; 1,0 e 5,0 mg/L para o cobre; 0,1 e 0,5 mg/L para o chumbo; 0,1 e 1,0 mg/L para o zinco, em meio de água régia a 4%, preparadas por diluição de soluções-estoque.

O método para a determinação de Hg usado foi desenvolvido neste laboratório por Zenebon et al³³.

Foram pesados 1,0000 g de amostra em erlemmeyer de 125 mL e digeridas com uma mistura de H_2SO_4 ; H_2O_2 ; $KMnO_4$ e aquecidas a 90°C em banho maria.

O mercúrio foi determinado pela técnica de espectrometria de absorção atômica com gerador de vapor frio e injeção em fluxo (AAS modelo 3110, Perkin Elmer acoplado a sistema de injeção em fluxo contínuo, modelo FIAS 200, Perkin Elmer), nas seguintes condições: lâmpada de cátodo oco de mercúrio (corrente da lâmpada de 4 mA), fenda do monocromador de 0,7 nm, comprimento de onda de 253,6 nm, lâmpada de deutério, como corretor de background, HCl 3% (v/v) como solução carregadora, solução $SnCl_2$ 10% (m/v) em HCl 5% (v/v) como redutor, fluxo de N_2 de 60 mL/min como gás de arraste. Utilizou-se uma curva de calibração para

mercúrio com concentrações variando entre 1 e 10 $\mu g/L$ em meio de H_2SO_4 2% (v/v) e HNO_3 2% (v/v), preparadas por diluição de solução-estoque.

Validação do método:

Como foi utilizado método oficial da AOAC² foram feitas somente verificações de alguns parâmetros da validação.

Para a determinação da exatidão do método foram feitas 3 réplicas e para o cálculo do limite de detecção e quantificação foram usados os critérios adotados pela IUPAC. Para o estudo da exatidão para Pb, Cd, Cu e Zn foi usado o método da adição de padrão e a recuperação foi de 90% para chumbo, 94% para cádmio e cobre e 95% para zinco; os limites de detecção e quantificação do método foram 0,01 e 0,03 mg/kg para chumbo, 0,001 e 0,013 mg/kg para cádmio, 0,001 e 0,01 mg/kg para cobre e 0,003 e 0,01 mg/kg para zinco respectivamente.

No caso do mercúrio, o estudo de exatidão foi feito com material de referência certificado “fish flesh homogenate”, cujo valor certificado é de $460 \pm 20 \mu g/kg$ e o valor obtido foi de $467 \pm 12 \mu g/kg$, com uma % de recuperação de 102%. O limite de detecção do método para mercúrio foi de 0,26 $\mu g/kg$ e o limite de quantificação foi de 0,87 $\mu g/kg$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios obtidos para chumbo, cádmio, mercúrio, cobre e zinco foram comparados usando análise de variância (one-way analysis of variance) (ANOVA; Programa GraphPad Instat, versão 2, 1990-1993).

Para as 70 amostras dos bivalves analisados foram calculadas as médias, medianas, valores mínimos e máximos (mg/kg) para o Pb, Cd, Hg, Cu e Zn e encontram-se na TABELA 1. Pode-se observar que os valores obtidos para os metais analisados, exceto zinco, todos estão de acordo com a legislação brasileira e do MERCOSUL em vigor^{4, 5} que estabelecem os limites de 2,0 mg/kg, 1,0 mg/kg, 0,5 mg/kg, 30,00 ppm e 50,00 ppm para Pb, Cd, Hg, Cu e Zn, respectivamente e também abaixo dos limites máximos estabelecidos pelo Codex Alimentarius¹¹ que, no caso do Pb, indica o valor de 0,5 mg/kg, isto é, quatro vezes menor que o limite da legislação brasileira e do MERCOSUL.

Nas figuras 2, 3 e 4 onde estão representadas as concentrações médias de cada elemento, calculadas na base úmida, em relação à localidade de coleta das amostras, evidencia-se que a estação Itaguapé, local onde foram coletadas as ostras, apresentou níveis mais elevados de Cd, apesar dos valores estarem dentro dos limites permitidos pela Legislação Brasileira. Pela análise de variância não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) entre os valores médios de Pb, Cd, Hg e Zn nos mexilhões em função das localidades estudadas. Enquanto que os valores médios de Zn apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre ostras e

Tabela 1: Concentrações médias, medianas, valores mínimos e máximos de Pb, Cd, Hg, Cu e Zn dos bivalves nas diferentes localidades, em mg/kg

Localidade	[Pb]	[Cd]	[Hg]	[Cu]	[Zn]
Guaraú	0,20-0,19-	0,12-0,13-	0,025-0,025-	1,48-1,47-	20,0-20,7-
	0,15-0,29	0,08-0,13	0,020-0,030	1,26-1,90	16,9-21,8
Prainha	0,20-0,18-	0,08-0,08-	0,018-0,020-	1,37-1,24-	18,8-19,2-
	0,11-0,30	0,06-0,11	0,010-0,020	1,22-1,61	13,7-23,8
Plataforma	0,19-0,15-	0,11-0,11-	0,027-0,030-	1,47-1,49-	16,9-15,9-
	0,15-0,25	0,08-0,13	0,020-0,030	1,31-1,60	14,3-20,0
Pta do Forte	0,18-0,17-	0,08-0,08-	0,029-0,030-	1,59-1,55-	19,1-19,3-
	0,10-0,30	0,06-0,09	0,020-0,040	1,51-1,81	16,2-21,9
Paranapuã	0,15-0,15-	0,06-0,06-	0,028-0,030-	2,08-1,95-	19,4-19,1-
	0,09-0,18	0,05-0,07	0,020-0,040	1,79-2,78	16,0-23,0
Urubuqueçaba	0,15-0,15-	0,05-0,05-	0,023-0,020-	1,78-1,75-	17,8-18,6-
	0,10-0,20	0,04-0,07	0,020-0,030	1,49-2,08	12,7-23,4
Ilha Palmas	0,14-0,13-	0,06-0,06-	0,023-0,020-	1,93-1,92-	21,2-20,7-
	0,10-0,20	0,05-0,07	0,020-0,030	1,53-2,29	20,2-22,4
Pompeva	0,13-0,12-	0,09-0,09-	0,020-0,020-	1,52-1,54-	21,8-22,8-
	0,12-0,16	0,07-0,11	0,020-0,020	1,34-1,63	19,2-24,1
Guaiuba	0,15-0,16-	0,10-0,10-	0,022-0,020-	1,49-1,48-	20,7-20,3-
	0,11-0,20	0,09-0,11	0,010-0,030	1,44-1,55	16,7-25,0
Candinho	0,20-0,20-	0,02-0,02-	0,020-0,020-	3,22-3,08-	13,0-12,4-
	0,15-0,26	0,01-0,02	0,010-0,030	2,17-4,09	10,0-15,4
Pta Selada	0,12-0,12-	0,09-0,10-	0,023-0,025-	1,65-1,70-	20,9-20,6-
	0,07-0,17	0,08-0,11	0,010-0,030	1,26-2,08	19,0-25,2
Itaguapé	0,07-0,07-	0,24-0,30-	0,020-0,020-	3,40-3,73-	245-232-
	0,04-0,09	0,06-0,43	0,020-0,020	2,04-4,08	180-318

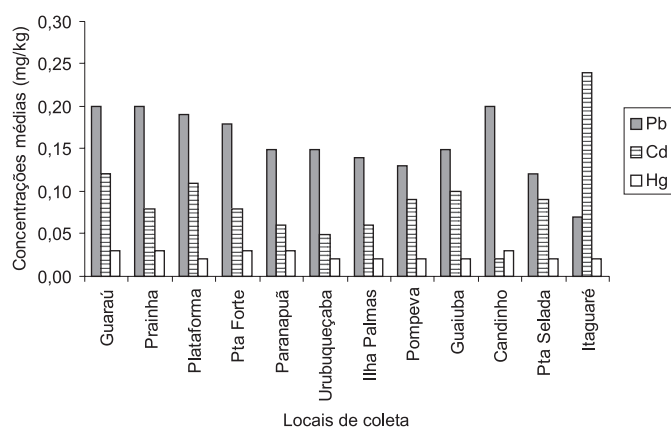


Figura 2. Concentrações médias de Pb, Cd e Hg na base úmida em *P. perna*, *M. falcata*, *C. brasiliana* em função das localidades de coleta

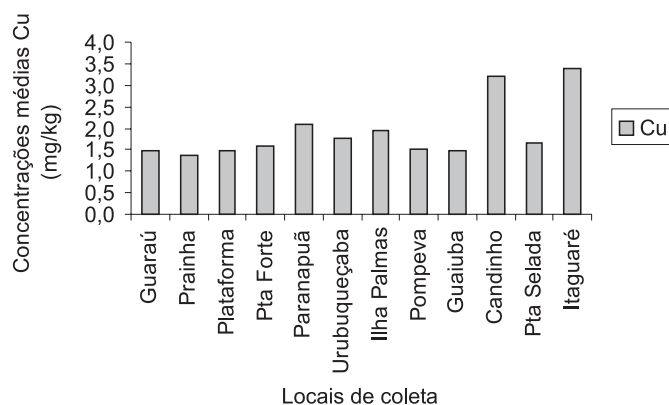


Figura 3. Concentração média de Cu na base úmida em *P. perna*, *M. falcata*, *C. brasiliana* em função das localidades de coleta

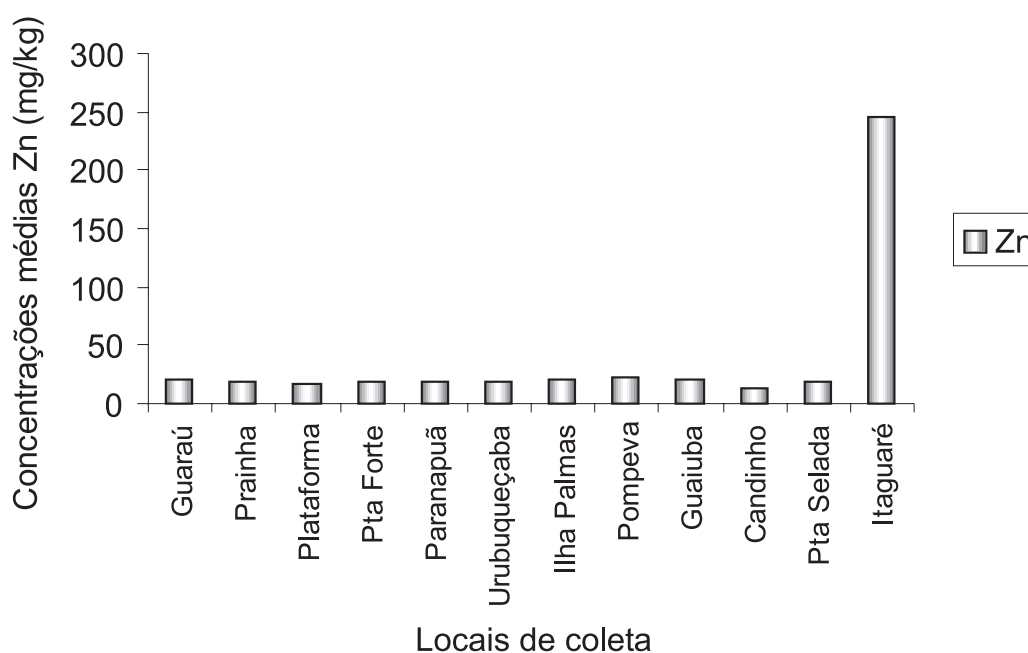


Figura 4. Concentração média de Zn na base úmida em *P. perna*, *M. falcata*, *C. brasiliana* em função das localidades de coleta

mexilhões. As ostras acumulam naturalmente o zinco e esta concentração está diretamente relacionada com as funções reprodutivas e o seu estágio de maturação¹⁹.

A média para a concentração de cobre nos mexilhões da localidade de Paranapuã é bem maior em relação às outras localidades apresentando diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), enquanto que em Candinho (sururu) e Itaguapé (ostras) não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$).

Damato et al.⁸ analisaram mexilhões *P. Perna* da Baixada Fluminense e encontraram níveis médios de mercúrio que variaram de 0,03 a 0,06 mg/kg, valores superiores aos encontrados neste trabalho.

Dada a complexidade da região metropolitana da Baixada Santista, Silva et al.²⁸ coletaram mexilhões nas Baías de Santos e São Vicente, e ostras no complexo estuarino da Baixada Santista, registrando níveis de mercúrio menores que 0,05 $\mu\text{g/g}$ nos bivalves. As concentrações de Hg obtidas neste estudo são comparáveis aos encontrados por Gregori¹⁴.

As ostras coletadas no Rio Itaguapé, Município de Bertioga, um dos últimos redutos desse bivalve nessa região, apresentaram-se dentro dos padrões de consumo. A CETESB⁶ analisando algumas amostras de bivalves da mesma região em estudo, também encontrou baixos teores dos elementos Pb, Cd e Hg, confirmando os resultados obtidos no presente trabalho.

Pode-se dizer que a contaminação ambiental da região estudada é baixa, se comparada aos estudos realizados por outros autores^{1, 3, 12, 13, 14, 16, 20, 24, 31, 32} em diversas regiões cujos teores de Pb, Cd, Cu e Zn em mexilhões e/ou ostras foram bem mais

elevados que os valores encontrados neste estudo.

Nestas últimas décadas, órgãos como a CETESB, organizações não governamentais, ambientalistas, vigilância sanitária e Promotoria Pública exerceram várias ações fiscalizadoras junto ao pólo industrial de Cubatão e da Baixada Santista; provavelmente, essas ações serviram para inibir o lançamento de poluição excessiva na região, assim os mexilhões, sururus e ostras analisados nesse trabalho apresentaram níveis de Pb, Cd e Hg considerados aceitáveis para o consumo humano.

Monitorizações realizadas pela CETESB⁷, no sistema estuarino de Santos e São Vicente, indicaram níveis elevados de Pb, principalmente para o estuário de São Vicente com concentrações de 36 $\mu\text{g.g}^{-1}$ na água e 35 $\mu\text{g.g}^{-1}$ no sedimento, porém as concentrações desses metais nos bivalves estudados nessas mesmas regiões não mostravam valores que indicassem contaminação. Assim, sugerimos aos órgãos competentes a alteração da legislação brasileira para a avaliação da qualidade dos moluscos, conforme as normas utilizadas pela Comunidade Européia. Atualmente no Brasil, a qualidade dos moluscos é determinada pela análise das águas provenientes da região de exploração, o que nem sempre indica a realidade.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que no período estudado os bivalves provenientes dos bancos naturais dos Municípios estudados encontravam-se em condições adequadas para o consumo humano, quanto às análises efetuadas, pois todas as

amostras analisadas apresentaram níveis de chumbo, cádmio, mercúrio e cobre inferiores ao estabelecido pela legislação brasileira e do MERCOSUL em vigor.

Em virtude das altas concentrações de zinco naturalmente encontradas em ostras, sugerimos às autoridades competentes

o estabelecimento de uma legislação específica para esse elemento em ostras.

Deve-se salientar a importância da continuidade dos programas de monitorização dos bivalves para avaliação da sua qualidade e também do meio ambiente.

RIALA6/913

PEREIRA, O. M. et al.. Determination of Pb, Cd, Hg, Cu and Zn levels in molluscs (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* and *Mytella falcata*) **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):19-25, 2002

ABSTRACT. Bivalves as filter-feeders and bioaccumulators of chemical and biological residues can offer risk to public health when consumed by the population. This study aims at determining Pb, Cd, Hg, Cu and Zn levels in bivalves *C. brasiliana*, *P. perna* and *Mytella falcata* collected in several natural sandbanks in the coastal Baixada Santista, São Paulo. Seventy samples from twelve natural sandbanks were collected and analyzed from September 1996 to February 1997. Mercury concentration in soft tissues of bivalves was determined by continuous flow injection – flameless atomic absorption spectrometry. Pb, Cd, Zn and Cu were determined by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). The results showed that Pb, Cd, Hg and Cu levels in samples were according to Brazilian legislation. The concentration of Zn for all samples of oyster *C. brasiliana* was higher than those indicated by legal limits for foods in Brazil, that is 50 mg/kg; for other samples the Zn levels were below the levels established for Brazilian legislation.

KEY WORDS. Bivalve, Hg, Pb, Cd, Cu, Zn, cold vapor atomic absorption spectrometry, CV/AAS, ICP OES.

REFERÊNCIAS

1. Abbe, G. R.; Riedel, G. F.; Sanders, J. G. Factors that influence the accumulation of copper and cadmium by transplanted eastern oysters (*Crassostrea virginica*) in the Patuxent River, Maryland. **Mar. Environ. Research**, 49: 377-396, 2000.
2. AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed., Washington, D. C., 1995. p. 19 (Tecn. 9.2.19).
3. Balogh, K. V. Heavy metal pollution from a point source demonstrated by mussel (*Unio pictorum* L.) at Lake Balation, Hungary. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 41: 910-914, 1988.
4. Brasil, Leis, Decretos, etc. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos – DINAL – Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998 fixa limites máximos de tolerância de contaminantes químicos em alimentos. **Diário Oficial** de 24/09/98.
5. Brasil, Leis, Decretos, etc. Decreto nº55871 de 26 mar. 1965. Modifica o decreto nº 50040, de 24 jan. 1961 referente a normas regulamentadoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº691, de 13 de mar.1962. **Diário Oficial**. Brasília, 9 abr. 1965. Seç. 1, pt.1, p. 3611.
6. CETESB. **Rio Itagaré – Resolução SMA – 63, de 16/12/96 – Relatório Final**. Governo do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – CETESB, 1997. 15 p.
7. CETESB. **Sistema Estuarino de Santos e São Vicente – Relatório Final**. Governo do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – CETESB, 2001. 177p.
8. Damato, C. et al. Levantamento sobre os índices de mercúrio presentes em mexilhões (*Perna perna* L.) oriundos da Praia de Piratininga, e Baías de Guanabara e Sepetiba. **Higiene Alimentar**, 11(50): 30-35, 1997.
9. EPA. **Water Quality Criteria**. Ecological. Environmental Protection Agency. Washington, D. C., 1972. 594 p.
10. Eysink, G.; de Pádua, H.B.; Martins, M.C. Presença do mercúrio no ambiente. **Rev. CETESB Tecnol.**, 2(1): 43-49, 1988.
11. FAO/WHO. **Codex Alimentarius Commission**. Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 1995. CX/FAC 96/17.
12. Ferreira, J. R. Mercury in Water and fish from the São Vicente Estuary near Santos, Brazil. In: **Anais/Resumo Seminário Sobre Uma Síntese Do Conhecimento Sobre A Baixada Santista**. São Paulo, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1983. v.1, p. 140-143.
13. Goldberg, E. D. et al. Mussel Watch: 1977-1978 Results on Trace Metals and Radionuclides. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 16: 69-93, 1983.
14. De Gregori, I. et al.. Cadmium, lead, copper and mercury levels in fresh and canned bivalve mussels *Tagelus dombeii* (Navajuela) and *Semelle sólida* (Almeja) from the Chilean coast. **Sci. Total Environ.**, 148: 1-10, 1994.

15. Harada, M. Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. **Critical Reviews in Toxicology**, 25(1): 1-24, 1995.
16. Jeng, Ming-Shiou et al. Mussel Watch: a review of Cu and other metals in various marine organisms in Taiwan, 1991-98. **Environ. Pollution**, 110: 207-215, 2000.
17. Joiris, C. R.; Holsbeek, L.; Otchere, F. A. Mercury in the Bivalves *Crassostrea tulipa* and *Perna perna* from Ghana. **Mar. Poll. Bull.**, 40(5): 457-460, 2000.
18. Kang, Seong-Gil; Wright, D. A.; Koh, Chul-Hwan Baseline metal concentration in the Asian periwinkle *Littorina brevicula* employed as a biomonitor to assess metal pollution in Korean coastal water. **Sci. Total Environ.**, 263: 143-153, 2000.
19. McCulloch, K. W. et al. Zinc from oyster tissue as causative factor in mouse deaths in official biassay for paralytic shellfish poison. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 72(2) :84-86, 1989.
20. Meeus-Verdinne, K.; Canter, R. V.; Borger, R. The Trace Metal Content in Belgian Coastal Mussels. **Mar. Poll. Bull.**, 14 (5): 198-200, 1983.
21. Miller, B. S. Mussels as biomonitors of point and diffuse sources of trace metals in the clyde sea area, Scotland. **Wat. Sci. Tech.**, 39(12): 233-240, 1999.
22. Ostapczuk, P. et al. Mussels and algae as bioindicators for long-term tendencies of element pollution in marine ecosystems. **Chemosphere**, 34(9/10): 2049-2058, 1997.
23. Parson, T. R.; Takarashi, M.; Hagrave, B. **Biological oceanographic processes**. Pergamon Press, 1997. 332 p.
24. Pempkowiak, J.; Sikora, A.; Biernacka, E. Speciation of heavy metals in marine sediments vs their bioaccumulation by mussels. **Chemosphere**, 39(2): 313-321, 1999.
25. Pfeiffer, W. C. Heavy metals surveys in Brazilian coastal environments. In: Seeliger, U.; Lacerda, L.D.; Patchineelam, S.R. eds. **Metals in Coastal Environments of Latin America**. Berlin, Springer-Verlag, 1988. p. 3-8.
26. Rocha, A. A. Efeitos dos poluentes encontrados nos afluentes de uma galvanoplastia. **Rev. DAE**, 42 (130): 89-93, 1982.
27. Rocha, A. A.; Pereira, D.N. 1985 Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da Represa Billings, São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, 19: 401-10, 1985.
28. Silva, C. C. do Amaral et al. Metais pesados na Baía de Santos e estuários de Santos e São Vicente. Relatório final para o projeto "Metais Pesados" da SEMA. In: **Seminário Sobre Uma Síntese Do Conhecimento Sobre A Baixada Santista**. São Paulo, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1983. *Anais/Resumos*. V. 1, p. 69-72.
29. Szefer, P. et al. Mercury and other trace metals (Ag, Cr, Co and Ni) in soft tissue and byssus of *Mytillus edulis* from the east coast of Kyushu Island, Japan. **Sci. Total Environ.**, 229: 227-234, 1999.
30. Tavares, T. M.; Carvalho, F.M. Avaliação de exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do recôncavo baiano. **Rev. Quim. Nova**, 15 (2): 147-154, 1992.
31. Toledo, M.; Sakuma, A. M.; Pregolato, W. Aspectos da contaminação por cádmio em produtos do mar coletados no Estuário de Santos, Baía da Guanabara e Baía de Todos os Santos. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 43 (1/2): 15-24, 1983.
32. Tommasi, R. L. **Considerações ecológicas sobre o sistema estuarino de Santos**. 1980. [Tese de Livre - Docência, Depto. Oceanografia Biológica - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo].
33. Zenebon, O. et al. Rapid food decomposition by H₂O₂-H₂SO₄ for determination of total mercury by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry. **J. AOAC Intern.**, 85(1): 149-152, 2002.

Recebido em 22/01/2002; Aprovado em 06/06/2002

Avaliação da rotulagem e dos teores de minerais e contaminantes inorgânicos em águas minerais nacionais e importadas

Evaluation of the labelling, the minerals and inorganic contaminants in domestic and imported mineral water

Franca D. de MAIO^{1*}
Isaura A. OKADA¹
Maria de Fátima H. CARVALHO¹
Carmen S. KIRA¹
Maria Cristina DURAN¹
Odair ZENEBON¹

RIALA6/914

Maio, F. D. de et al. Avaliação da rotulagem e dos teores de minerais e contaminantes inorgânicos em águas minerais nacionais e importadas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):27-32, 2002

RESUMO. O consumo de água mineral no Brasil tem crescido nos últimos anos. Devido à escassez de dados na literatura nacional, este trabalho visou estudar a composição de minerais e a presença de contaminantes metálicos, nas águas minerais nacionais e importadas, incluindo uma avaliação da rotulagem. Foram analisadas 69 amostras quanto aos teores de Pb, Cd, Al, Cr, Hg, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn e P. Os níveis de Hg, Pb, Cd, Cu, Fe e P, encontrados em todas as amostras de águas minerais nacionais e importadas, estavam abaixo dos limites de quantificação dos métodos. 17% das marcas de águas minerais sem gás e 20% com gás, nacionais, apresentaram os teores de todos os metais determinados de acordo com a declaração na rotulagem, enquanto que todas as amostras importadas analisadas apresentaram-se de acordo com a rotulagem. Todas as amostras analisadas apresentaram-se próprias para o consumo, com relação à presença dos elementos tóxicos analisados. Das águas minerais nacionais, 63 % não atendiam à nova legislação, até maio de 2001, com relação à declaração na rotulagem do teor de minerais na forma de íons.

PALAVRAS-CHAVE. Água mineral; minerais; contaminantes metálicos; rotulagem.

* Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz – Secretaria de Estado da Saúde – SP – Divisão de Bromatologia e Química – Seção de Equipamentos Especializados. Av. Dr. Arnaldo, 355 Bairro Cerqueira César – CEP: 01246-902 – São Paulo – SP – Brasil - Fone (0XX11) 3068-2923 - FAX: (0XX11) 3085-3505 - e-mail: franmaio@ial.sp.gov.br

INTRODUÇÃO

O consumo de água mineral engarrafada tem crescido no Brasil, nos últimos anos. De acordo com o Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM)⁴, em 2000, o consumo nacional foi da ordem de 3200 milhões de litros, o que representou um crescimento de 7% em relação a 1999, sendo as regiões Norte e Sul as que apresentaram maior índice de crescimento nesse ano. O Estado de São Paulo é, segundo o DNPM, o maior engarrafador de água mineral e potável de mesa. Com relação à importação de águas minerais, no ano de 2000 houve uma queda de 6% em relação ao ano anterior⁴.

Água mineral natural, de acordo com a Resolução – RDC nº 54 de 2000 do Ministério da Saúde⁷, é a água obtida diretamente de fontes naturais ou artificialmente captadas, de origem subterrânea, caracterizada pelo conteúdo definido e constante de sais minerais (composição iônica) e pela presença de oligoelementos e outros constituintes.

De acordo com a Portaria nº 470 sobre Rotulagem de Águas Minerais⁶, o produto engarrafado deve conter no seu rótulo a classificação da água, a composição do seu conteúdo, a qual é determinada através de análise físico-química em órgão competente, concessão de lavra, além de outras informações referentes à fonte e à empresa.

Segundo *Albu*, 1997¹ e *Ghersetich*, 2001¹³, as águas minerais foram inicialmente consumidas com finalidades medicinais e por suas ações terapêuticas.

Nos últimos 20 anos, foram relatados diversos casos de contaminação química em água potável, devido à formação de compostos orgânicos halogenados durante o tratamento da água^{3, 15}, além de problemas com encanamentos antigos²⁵, levando alguns consumidores a utilizar águas engarrafadas como alternativa^{12, 15}.

A utilização de águas minerais vai desde o consumo “in natura”, até o preparo de alimentos e bebidas. Dessa maneira, torna-se importante verificar a qualidade desse produto, quanto à presença de minerais e também quanto à possível presença de metais pesados, que podem ser provenientes de contaminação dos mananciais, proveniente de emissões industriais^{9, 10, 24}, ou do processo de engarrafamento.

Os minerais exercem papéis importantes nos processos bioquímicos e fisiológicos, além de fazerem parte da composição da estrutura óssea¹⁷, enquanto que os contaminantes inorgânicos caracterizam-se principalmente por seus efeitos tóxicos. Por exemplo, o chumbo interfere no metabolismo e nas funções celulares; provoca danos nos sistemas hematopoiético, renal, reprodutivo, gastrointestinal e também no sistema nervoso central^{14, 20, 21, 23}.

No caso do cádmio, a acumulação deste metal no organismo está ligada a problemas de hipertensão e danos nos ossos, rins e fígado²². O mercúrio e seus derivados se distribuem em todo o organismo e se acumulam no sistema nervoso central, sendo que a intoxicação por este metal pode ocasionar problemas pulmonares, gastrointestinais, renais e principalmente

neuroológicos^{17, 24}.

Na literatura nacional há poucos trabalhos sobre águas minerais, especialmente sobre sua composição química. Os trabalhos publicados sobre o assunto se referem a águas minerais da região de Campinas¹⁸ e da Grande São Paulo¹⁶.

Desta forma, devido à importância do tema em termos de saúde pública e à escassez de dados, o presente trabalho visou estudar a composição das águas minerais nacionais e importadas, incluindo uma avaliação da rotulagem e comparação das concentrações dos íons encontrados com os valores declarados, além da verificação da presença de contaminantes metálicos.

MATERIAL E MÉTODO

Material

Reagentes:

- Ácido nítrico suprapur
- Persulfato de potássio P. A.
- Permanganato de potássio, isento de Hg
- Cloridrato de hidroxilamina, isento de Hg
- Cloreto estano P.A.
- Cloreto de sódio P.A.
- Nitrato de magnésio para uso em forno de grafite
- Fosfato di-ácido de amônio para uso em forno de grafite
- Ácido sulfúrico, isento de Hg
- Ácido nítrico, isento de Hg

Vidraria:

Para a análise de Al, foram utilizados materiais de polimetilpenteno, para evitar a contaminação da amostra por meio da vidraria.

Descontaminação química da vidraria: Toda a vidraria utilizada nas análises, após ter sido lavada com água e detergente neutro, foi enxaguada e mergulhada em HNO₃ a 20% durante 48 horas. Depois foi enxaguada com água desmineralizada e seca em estufa.

Equipamentos:

- Espectrômetro de absorção atômica simultâneo com forno de grafite e corretor Zeeman, modelo SIMAA 6000, Marca Perkin Elmer, equipado com tubo de grafite pirolítico, lâmpadas de catodo de Cd, Cr e Al e lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL) para Pb.
- Espectrômetro de emissão atômica com plasma de argônio acoplado indutivamente, com modos de

leitura axial e radial, modelo OPTIMA 3000 DV, marca Perkin Elmer.

- Espectrômetro de absorção atômica Analyst 100 com gerador de hidretos (FIAS 400) e amalgamador, Marca Perkin Elmer.
- Sala Limpa classe 1000 com ilhas de classe 100.

Todos os equipamentos são periodicamente calibrados pela assistência técnica do fabricante e foram otimizados de acordo com as recomendações do manual.

Amostras:

Foram analisadas 69 amostras de águas minerais engarrafadas com capacidade de 300 a 1500 mL, comercializadas na cidade de São Paulo, sendo 58 de origem nacional e 11 importadas. Dentre as águas minerais nacionais, 50 eram sem gás (23 diferentes marcas) e 8 eram gasosas (5 marcas diferentes). Das 11 amostras importadas, de 6 diferentes marcas, 9 eram gasosas e 2 sem gás.

Das marcas importadas, 2 eram francesas, 2 italianas, 1 portuguesa e 1 húngara.

MÉTODO

Tratamento da amostra

As amostras de água mineral com gás foram colocadas no aparelho de ultra-som por 15 minutos, a fim de eliminar os gases dissolvidos e, após esse procedimento, todas as amostras de águas minerais (com e sem gás) foram acidificadas com HNO₃ concentrado suprapur, de tal maneira que a concentração final do ácido fosse 0,2 %.

Para a análise de mercúrio, as amostras de água foram tratadas por via úmida utilizando KMnO₄/H₂SO₄ e K₂S₂O₈, de acordo com o Standard Methods². A determinação dos demais elementos foi realizada diretamente nas amostras acidificadas, sem tratamento, utilizando o método do Standard Methods².

Determinação

A determinação dos minerais e contaminantes inorgânicos foi realizada utilizando as seguintes técnicas analíticas:

- Pb, Cd, Al, Cr – espectrometria de absorção atômica com forno de grafite simultâneo, com um programa térmico para o Pb e Cd e outro para Al e Cr. Os modificadores químicos usados foram:
- Pb e Cd: NH₄H₂PO₄ 0,5% + Mg(NO₃)₂·6H₂O 0,03 %
- Al e Cr: Mg(NO₃)₂·6H₂O 0,15 %
- Ba, Ca, Mn, Zn, Fe e Cu – espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio indutivamente acoplado, com modo de leitura axial.

- K, Mg, Na, K e P – espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio indutivamente acoplado, com modo de leitura radial.
- Hg – Espectrometria de absorção atômica com gerador de vapor frio e amalgamador.

OBS: Como o Al é um metal disseminado no ambiente, a determinação desse elemento, bem como de Pb, Cd e Cr, foi realizada em equipamento instalado em ilha de classe 100 dentro de uma sala limpa de classe 1000.

Antes de efetuar as análises das amostras, foram estabelecidos os LD e LQ e determinados a exatidão e precisão dos métodos.

Exatidão do método

Para avaliar a exatidão do método foi usado um material de referência certificado NIST 1643 C (Trace elements in water). No caso do mercúrio e do fósforo, devido à falta de material de referência certificado, foi empregado o método de adição de padrão, utilizando padrões com certificado de qualidade.

As porcentagens de recuperação obtidas encontram-se na Tabela 1.

A precisão dos métodos foi determinada pelo cálculo do coeficiente de variação (CV) (tabela 1).

Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados usando a recomendação da IUPAC (11) e encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de limites de detecção e quantificação e % de recuperação dos métodos para os diferentes elementos

Elemento	LD (mg/L)	LQ (mg/L)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (CV) (%)
Pb*	0,15*	0,5*	96	9,9
Cd*	0,06*	0,2*	107	6,4
Al*	0,36*	1,2*	97	5,8
Cr*	0,24*	0,8*	103	2,4
Ba	0,003	0,01	100	5,2
Ca	0,009	0,3	105	2,3
Cu	0,003	0,01	92	4,3
Fe	0,006	0,02	94	6,2
K	0,12	0,4	91	0,12
Mg	0,06	0,2	104	0,59
Mn*	0,1*	0,3*	94	2,2
Na	0,35	1,2	100	0,97
Zn	0,003	0,01	91	0,40
Hg*	0,03*	0,1*	100	8,3
P	0,09	0,3	94	2,5

* Valores em µg/L

Tabela 2 – Valor mínimo, valor máximo, média e mediana, em mg/L, para as concentrações de Ba, Ca, K, Mg, Mn e Na, em águas minerais nacionais sem gás (N) e gasosas (G) e em águas minerais gasosas importadas (I)

Elemento	Mínimo			Máximo			Média			Mediana		
	N	G	I	N	G	I	N	G	I	N	G	I
Ba	0,01	0,02	0,01	0,13	0,4	0,38	0,04	0,21	0,18	0,02	0,21	0,14
Ca	0,26	2,7	151	32,4	89,2	233	11,2	33,7	200	11,9	23,0	199,8
K	0,4	0,27	0,5	4,3	99,7	21,7	2,0	25,9	7,1	2,0	2,3	2,9
Mg	0,2	0,98	3,2	16,3	33,0	60,3	4,4	14,0	38,5	2,6	9,4	56,0
Mn	0,001	0,001	0,028	0,090	0,30	0,25	0,008	0,080	0,14	0,001	0,013	0,14
Na	1,2	1,2	9,3	102,8	91,0	509	14,6	43,1	88,9	6,4	33,8	35,9

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises dos cátions nas amostras de águas minerais com e sem gás, nacionais e águas minerais com gás importadas, encontram-se na tabela 2.

Como só foram analisadas 2 amostras (1 marca) de água mineral sem gás importada, os resultados não foram relacionados na tabela 2. As médias dos resultados obtidos para Ca, K, Mg e Na foram respectivamente: 85; 1,0; 24,5 e 5,6 mg/L, sendo que as concentrações dos demais elementos estavam abaixo do LQ do método.

Os teores de Hg, Pb, Cd e Cu, encontrados em todas as águas minerais, tanto nacionais quanto importadas, estavam abaixo dos limites de quantificação do método (Tabela 1) e abaixo dos limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira em vigor (Tabela 3)⁷.

Os teores de Cr, encontrados tanto nas águas minerais nacionais, quanto importadas estavam abaixo do limite máximo estabelecido pela legislação brasileira⁷.

Apenas 5 % das amostras de águas minerais sem gás nacionais apresentaram concentrações de Zn variando de 0,03 a 0,08 mg/L, enquanto que as demais (com e sem gás) estavam abaixo do limite de quantificação do método. Com relação às águas importadas, apenas 1 apresentou teor de 0,02 mg/L para zinco.

Quanto ao Fe e P, todas as amostras de águas minerais, tanto nacionais quanto importadas, estavam abaixo do LQ.

Com relação ao alumínio, verificou-se que 28 % das marcas de águas minerais nacionais apresentaram teores variando de 0,003 a 0,045 mg/L, enquanto que das 6 marcas importadas, 4 apresentaram teores de alumínio que variaram de 0,004 a 0,080 mg/L e nas demais a concentração de alumínio estava abaixo do limite de quantificação do método. A legislação brasileira em vigor para água mineral não estabelece limite para alumínio, sendo que para água de abastecimento o limite máximo para este metal é 0,2 mg/L.⁵

Os valores das medianas do Mg e Ca das águas minerais gasosas importadas são, respectivamente, cerca de 6 e 9 vezes maiores que as das águas gasosas nacionais, enquanto que as águas sem gás são mais pobres nesses minerais (tabela 2). O

Tabela 3 – Limites máximos permitidos para contaminantes em águas minerais, de acordo com a Resolução RDC n° 54.

Elemento	Limite máximo (mg/L)
Bário (em Ba)	1
Cádmio (em Cd)	0,003
Cromo total (em Cr)	0,05
Cobre (em Cu)	1
Chumbo (em Pb)	0,01
Manganês (em Mn)	2
Mercúrio (em Hg)	0,001

consumo dessas águas pode, por um lado, contribuir para o aumento da ingestão diária recomendável (IDR) de cálcio, que é de 800 mg e por outro, acarretar riscos para os paciente com problemas de cálculo renal¹⁹.

Segundo o FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), as águas minerais são consideradas isentas de sódio, quando apresentarem teores deste metal abaixo de 22 mg/L¹⁹. Das marcas de águas minerais nacionais analisadas, 84 % das sem gás e 20 % das gasosas podem ser classificadas como isentas de sódio. Quanto às importadas, apenas 20 % podem ser assim classificadas.

Segundo a legislação nacional⁷, deve constar no rótulo a expressão “contém sódio”, quando o produto contiver mais de 200 mg/L deste elemento. De acordo com os resultados obtidos, nenhuma das águas minerais nacionais foi assim classificada.

17% das marcas de águas minerais sem gás e 20% com gás, nacionais, apresentaram todos os metais analisados de acordo com a rotulagem. As demais apresentaram pelo menos um cátion em desacordo. As diferenças observadas, entre os valores declarados e os obtidos experimentalmente, para as concentrações dos minerais, podem ser devidas às variações da composição da água ao longo do tempo, modificações no regime de bombeamento e nos volumes extraídos¹⁹, apesar da legislação brasileira considerar a água mineral como tendo composição constante.

Quanto às águas de origem estrangeira, todas as amostras analisadas estavam de acordo com a rotulagem. A diferença entre as águas minerais de origem nacional e estrangeira, no que se refere à concordância das concentrações dos elementos analisados com a rotulagem, pode ser devida ao pequeno número de amostras de águas minerais importadas analisadas.

De acordo com a classificação de águas minerais⁸, nenhuma das marcas de águas minerais sem gás analisadas foi considerada ferruginosa ou alcalino terrosa cálcica ou magnésiana, apesar de 2 marcas apresentarem tal classificação na rotulagem. De acordo com os resultados analíticos, uma das marcas analisadas foi classificada como alcalino carbonatada, o que estava de acordo com o declarado na rotulagem.

Uma das marcas de água mineral gasosa nacional apresentou na rotulagem a classificação como alcalina bicarbonatada, porém a análise não confirmou esta classificação.

Com relação à rotulagem, verificou-se que, até maio de 2001, 66 % das marcas de águas minerais sem gás e 60 % das marcas de águas gasosas nacionais analisadas não atendiam à nova Resolução sobre rotulagem, Portaria 470⁶, e continuavam declarando no rótulo os teores de sais (por exemplo, sulfato de cálcio, fosfato de cálcio, bicarbonato de cálcio, etc.) e não de íons.

Com relação às marcas importadas analisadas, verificou-se que todas elas apresentaram na rotulagem a composição dos

minerais na forma de íons.

CONCLUSÃO

Todas as amostras de águas minerais analisadas apresentaram-se próprias para o consumo, com relação à presença dos metais tóxicos analisados.

Todas as amostras de águas minerais importadas apresentaram concordância entre os valores declarados na rotulagem e os obtidos experimentalmente, para todos os elementos analisados. Quanto às águas minerais nacionais, 17% das amostras sem gás e 20% das com gás apresentaram tal concordância. As demais apresentaram pelo menos um elemento em desacordo.

As águas minerais importadas são mais ricas em cálcio e magnésio que as nacionais.

63 % das marcas de águas minerais nacionais não atendiam à nova legislação (em maio de 2001), com relação à declaração, na rotulagem, do teor de minerais na forma de íons.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro.

RIALA6/914

MAIO, Franca D. et al. Evaluation of the labelling, the minerals and inorganic contaminants in domestic and imported mineral water **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):27-32, 2002

ABSTRACT. Consumption of bottled mineral water in Brazil has increased over the past year, due to its convenience and relative safety. The quality of water is affected by the structure of the water network, the pipe and the treatment of water that sometimes could change its taste. The mineral and inorganic contaminants levels of 69 samples of bottled mineral water were investigated by Atomic Absorption Spectrometry (AAS) and Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). The concentrations of mercury, lead, cadmium, copper, iron and phosphorus were below the limit of quantification. 17 % of the domestic sample brands were in accordance with the label and for the imported ones, all the samples agree or were in conformity with the label. 63 % of the domestic mineral water failed to comply with the Brazilian new legislation about bottled mineral water labelling. In conclusion, the analysed samples were proper to consumption.

KEYWORDS. Mineral water; minerals; inorganic contaminants; labelling; AAS; ICP OES.

REFERÊNCIAS

1. Albu, M.; Banks, D.; Nash, H. **Mineral and thermal groundwater resources**. London: Chapman and Hall, 1997, p. 447.
2. APHA – AWWA – WEF: **Standard Methods for the Examination of water and wastewater** (ed. 18). Washington, DC, American Public Health Association, 1992, p 1-1/4-138.
3. Barret, J. H.; Parslow, R. C.; McKinney, P. A.; Law, G. R.; Forman, D. Nitrate in drinking water and the incidence of gastric, esophageal, and brain cancer in Yorkshire, England. **Cancer causes control**. 9/2: 153-159, 1998.
4. Brasil. DNPM. Departamento Nacional de Produção Mineral. **Anuário Estatístico do Setor Metalúrgico 2001**. Disponível em: www.mme.gov.br. Acesso em: 04 maio 2001.
5. Brasil. Leis, Decretos, etc. – Portaria n° 36, de 19/01/90. O Ministério da Saúde aprova normas e padrões de potabilidade de água destinada ao consumo humano **Diário Oficial**, Brasília, 23 de janeiro de 1990, Seção I, p. 1651-1654.
6. Brasil. Leis, Decretos, etc. – Portaria n° 470, de 24/11/99. O Ministério de Minas e Energia institui as características básicas dos rótulos das embalagens de águas minerais e potáveis de mesa. **Diário Oficial**, Brasília 24 de novembro de 1999, Seção I – E.
7. Brasil. Leis, Decretos, etc. – Resolução – RDC nº 54, de 15 de junho de 2000. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de água mineral natural e água natural. **Diário Oficial**, Brasília 19 de junho de 2000, Seção I, p. 37-38.
8. Brasil. Ministério da Saúde – Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (C.N.N.P.A) – Resolução n° 25/76, **Diário Oficial**, Brasília, 03 de fevereiro de 1977.
9. Campillo, N.; Viñas, P.; García, I. L.; Córdoba, M. H. Rapid determination of lead and cadmium in biological fluids by electrothermal atomic absorption spectrometry using Zeeman correction. **Anal. Chim. Acta**. 390: 207-215, 1999.
10. Clarkson, T. W. The toxicology of mercury. **Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.** 34/4: 369-403, 1997.
11. Currie, L. A. – Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods Including Detection and Quantification Capabilities (IUPAC Recommendations). **Pure & Appl. Chem.** 67 (10), p. 1669-1723, 1995.
12. Evandri, M. G.; Bolle, P. Pharmacotoxicological screening of commercially available Italian natural mineral waters. **II Farmaco**. 56: 475-482, 2001.
13. Ghersetich, I.; Brazzini, B.; Hercogova, J.; Lotti, T. M. Mineral waters: instead of cosmetics or better than cosmetics? **Clin. Dermatol.** 19: 478-482, 2001.
14. Hilt, S.R.; Bock, S.E.; Oke, T.L.; Yates, C.L.; Copes, R.A. Effect of Interventions on Children's blood lead levels. **Environ. Health Perspec.** 106 (2): 79-83, 1998.
15. Misund, A.; Frengstad, B.; Siewers, U.; Reimann, C. Variation of 66 elements in European bottled mineral waters. **Sci. Total Environ.** 243/244: 21-41, 1999.
16. Nishihara, L.; Alaburda, J.; Maio, F.D. Características físico-químicas das águas de fontes minerais da região da Grande São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 57 (2): 19-25, 1998.
17. OMS - Organização Mundial de Saúde. **Elementos Traço na Nutrição e Saúde Humanas**, São Paulo, Roca, 1998, p. 297.
18. Pedro, N.A.R.; Freitas, V.P.S.; Badolato, M.I.C.; Oliveira, E. – Determinação de metais em águas minerais na região de Campinas, Estado de São Paulo, **Quím. Nova**, 14(4):108-109, 1991.
19. Pip, E. Survey of bottled drinking water available in Manitoba, Canada, **Environ. Health Perspec.** 108 (9), 2000.
20. Pirkle, J.L.; Kaufman, R.B.; Brody, D. J.; Hickman, T.; Gunter, E.W.; Paschal, D.C. Exposure of the U.S. population to lead, 1991-1994. **Environ. Health Perspec.** 106 (11): 745-750, 1998.
21. Subramanian, K. S. Determination of lead in blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry – a critique. **Sci. Total Environ.** 89: 237-250, 1989.
22. Subramanian, K. S.; Meranger, J. C. A rapid electrothermal atomic absorption spectrophotometric method for cadmium and lead in human whole blood. **Clin. Chem.** 27/11: 1866-1871, 1981.
23. Yen, C. C.; Chen, W. K.; Hu, C. C.; Wei, B. L.; Chung, C.; Kuo, S. C. Lead determination in whole blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Atom. Spectr.** 18(2), March/April, 1997.
24. Wolfe, M. E.; Schwarzbach, S.; Sulaiman, R. A. Effects of mercury on wildlife: a comprehensive review. **Environ. Toxicol. Chem.** 17/2: 146-160, 1998.
25. Zacheus, O. M.; Martikainen, P. J. Physicochemical quality of drinking and hot waters in Finnish buildings originated from groundwater or surface water plants. **Sci. Total Environ.**, 204: 1-10, 1997.

Recebido em 20/08/2001; Aprovado em 04/07/2002

Busca ativa de teníase e de outras enteroparasitoses em manipuladores de alimentos no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil

Active surveillance of taeniasis and other enteroparasitoses among food handlers in Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Divani M. CAPUANO^{1*}
Madalena H. T. OKINO¹
Maria José do C. B. BETTINI¹
Osvaldo M. TAKAYANAGUI²
Mônica P. T. LAZZARINI³
Ana Alice M. C. CASTRO E SILVA³
Flávio L. F. FERREIRA³
Ângela M. M. TAKAYANAGUI⁴

RIALA6/915

Capuano, D. M. et al. Busca ativa de teníase e de outras enteroparasitoses em manipuladores de alimentos no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil, **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):33-38, 2002

RESUMO: As doenças veiculadas pelos alimentos representam sério problema de saúde pública. Em nosso meio, merece destaque o complexo teníase/cisticercose pelos elevados índices de morbidade e mortalidade. Este trabalho tem o objetivo de investigar a freqüência de teníase e outras enteroparasitoses nos manipuladores de alimentos de Ribeirão Preto, SP. No período de agosto de 1998 a julho de 1999, 341 indivíduos (182 mulheres e 159 homens), com idade entre 14 a 68 anos, foram submetidos ao exame coproparasitológico por ocasião da obtenção ou renovação da carteira de saúde. Foram examinadas 3 amostras de fezes de cada indivíduo pelos métodos de Hoffmann, Pons & Janer e de Kato. A pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* foi realizada em 47 (4,6%) amostras de fezes diarréicas. Cento e sete (31,3%) indivíduos evidenciaram enteroparasitoses, incluindo um caso (0,3%) de teníase, e 42 (12,3 %) com poliparasitismo. Os portadores de enteroparasitoses receberam tratamento terapêutico específico pelo médico do trabalho. A implantação da obrigatoriedade do exame coproparasitológico na emissão e renovação anual da carteira de saúde dos manipuladores de alimentos com o adequado tratamento parasiticida pode representar uma nova e importante estratégia de prevenção do complexo teníase/cisticercose e de outras enteroparasitoses em nosso meio.

PALAVRAS-CHAVE: Teníase; Cisticercose; Alimentos, Manipuladores; prevenção; parasitológico de fezes

¹ Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Ribeirão Preto

² Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

³ Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto

⁴ Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Ribeirão Preto – Rua Minas, 877. Campos Elíseos, Ribeirão Preto. CEP 14.085-410 E-mail: divani.m@ig.com.br

INTRODUÇÃO

As doenças veiculadas por alimentos representam um importante problema de saúde pública, tendo merecido crescente atenção pela elevada frequência e gravidade, tanto nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento^{4,13,17,25,26}. A Conferência Internacional sobre Nutrição da FAO/OMS estima que centenas de milhões de pessoas em todo o mundo sejam acometidas por doenças transmitidas por alimentos¹⁷. Nos Estados Unidos da América, acredita-se que o total de vítimas atinja 76 milhões de pessoas por ano com 325 mil internações e 5 mil óbitos²³. Mesmo assim, a incidência registrada destas doenças está certamente subestimada, representando menos que 10%, ou talvez menos que 1%, da verdadeira cifra²⁶. A elevada frequência é resultante de vários fatores entre os quais merecem destaque a expansão do comércio internacional de gêneros alimentícios¹⁶ e o crescimento populacional desordenado nos grandes centros devido ao êxodo rural que acarretou mudanças nos hábitos alimentares com consumo extradomiciliar de refeições rápidas e pré-preparadas^{16,17,23,27}.

Os alimentos podem ser contaminados por agentes biológicos (vírus, bactérias, e parasitas), por toxinas, metais e prions²³. Entretanto, os agentes biológicos representam a principal causa de doenças transmitidas por alimentos^{7,23,26}. Nos últimos anos, agentes patogênicos emergentes têm se somado aos agentes biológicos convencionais como responsáveis por doenças veiculadas por alimentos^{16,17,23}. Entre eles, o *Cryptosporidium* tem sido motivo de preocupação das autoridades sanitárias devido aos surtos de diarreia causados pela contaminação de água potável distribuída à população²² e por ingestão de alimentos contaminados^{11,24,29}. Dentre as doenças parasitárias transmitidas por alimentos, destaca-se o complexo teníase/cisticercose que afeta 50 milhões de pessoas no mundo e que leva ao óbito 50 mil indivíduos anualmente⁵. No Brasil, os dados epidemiológicos disponíveis apontam maior prevalência nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Goiás³⁸. O município de Ribeirão Preto, S.P., foi pioneiro na implantação da notificação compulsória da cisticercose no país³⁶ dentro de um elenco de medidas de prevenção. No período de 1992 a 1997, o coeficiente de prevalência da cisticercose baseado na notificação compulsória foi de 74 casos/100000 habitantes³⁸. O homem adquire cisticercose ao ingerir acidentalmente ovos de *Taenia solium* através de alimentos, água e mãos contaminadas^{5,38}, podendo a transmissão ocorrer por manipulação de alimentos por indivíduos portadores de teníase³³. A busca ativa de teníase nos profissionais que lidam com alimentos servidos à população pode representar uma estratégia adicional de prevenção da cisticercose.

Este trabalho tem como objetivo a investigação de teníase e de outras enteroparasitoses nos manipuladores de alimentos de Ribeirão Preto, cujos resultados podem representar subsídios para futuras ações de controle do complexo teníase/cisticercose, bem como contribuir para o aprimoramento da educação sanitária daqueles profissionais.

MATERIAL E MÉTODOS

A casuística clínica foi constituída de manipuladores de alimentos que, no período de agosto de 1998 a julho de 1999, procuraram o Ambulatório de Saúde do Trabalhador da Unidade Básica de Saúde Central para obtenção da carteira de saúde, necessária para o exercício da profissão por exigência do Código Sanitário do Estado de São Paulo. Foi qualificado como manipulador de alimentos qualquer trabalhador que entrasse, direta ou indiretamente, em contato profissional com produtos alimentícios. Estes profissionais foram divididos nas diferentes ocupações declaradas, de acordo com a Classificação Brasileira de Ocupações, do Ministério do Trabalho³.

Todos os candidatos foram submetidos a exame clínico geral, a questionamento sobre eliminação pregressa de proglótides de *Taenia* sp e ao exame coproparasitológico. Foram obtidas 3 amostras de fezes, em dias consecutivos, coletadas em potes plásticos com tampa de rosca, sem adição de qualquer tipo de conservante e mantidas sob refrigeração. A análise coproparasitológica foi realizada no Laboratório de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto, através dos métodos de KATO¹⁸ (2 lâminas por amostra de fezes) e o de Hoffmann, Pons & Janer¹⁵. As lâminas de KATO foram examinadas ao microscópio imediatamente após o seu preparo, e o sedimento foi deixado em repouso por 24 horas. No exame microscópico, o sedimento foi colocado sobre uma lâmina, adicionado lugol e, após homogeneização, procedeu-se a leitura com aumento de 100 e 400X em microscópio óptico. Dentre as 1023 amostras de fezes coletadas, 47 (4,6%) com aspecto diarréico, foram submetidas ao método da concentração pelo formol-éter⁹, com posterior coloração das lâminas por Kinyoun modificado²⁰ para pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* sp.

O resultado do exame coproparasitológico foi enviado ao médico do trabalho, responsável pela emissão da carteira de saúde, para prescrição, quando necessário, de medicamentos antiparasitários fornecidos gratuitamente pela Secretaria Municipal da Saúde. A emissão final da carteira de saúde dos portadores de enteroparasitoses foi condicionada à normalização de novo exame coproparasitológico após o tratamento.

RESULTADOS

No período de estudo foram avaliados 341 manipuladores de alimentos, 182 mulheres e 159 homens, com idade variando de 14 a 68 anos (média de 31 anos). Destes, 107 (31,3%), apresentaram enteroparasitas no exame coproparasitológico.

A Tabela 1 apresenta a distribuição de enteroparasitoses de acordo com a faixa etária e o sexo. As frequências mais elevadas ocorreram nas faixas etárias de 20 a 29 anos (46,2%) e na de 60 a 69 anos (46,1%). Apesar do predomínio de parasitoses no sexo masculino (37,7%) sobre o feminino (25,8%), o acometimento mais frequente foi nas mulheres entre 60 e 69 anos de idade (60%).

Tabela 1. Ocorrência de infecção parasitária de acordo com o sexo e a faixa etária entre 341 manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto, SP – Brasil

Faixa Etária (em anos)	SEXO											
	Indivíduos				Masculino (N=159)				Feminino (N=182)			
	Examinados		Parasitados		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
15 – 19	46	13,5	14	30,4	08	44,4	10	55,6	06	21,4	22	78,6
20 – 29	106	31,1	49	46,2	31	51,6	29	48,4	18	39,1	28	60,9
30 – 39	83	24,3	15	18,1	05	16,1	26	83,9	10	19,2	42	80,8
40 – 49	57	16,7	17	29,8	09	39,1	14	60,9	08	23,5	26	76,5
50 – 59	36	10,6	06	16,7	04	21,1	15	78,9	02	11,8	15	88,2
60 – 69	13	3,8	06	46,1	03	37,5	05	62,5	03	60,0	02	40,0
Total	341	100,0	107	31,3	60	37,7	99	62,3	47	25,8	135	74,2

Tabela 2. Distribuição de infecção parasitária segundo ocupação desempenhada por manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto – SP, Brasil

Ocupação	Examinados		Positivos		Negativos	
	N	%	N	%	N	%
Cozinheiro, aux. de cozinha, pizzaiolo, salgadeira	85	24,9	28	32,9	57	67,1
Padeiro, confeitoiro	14	4,1	04	28,6	10	71,4
Açougueiro	05	1,5	–	–	05	100,0
Garçon, garçoneiro, barmem, copeira	39	11,4	15	38,5	24	61,5
Proprietário, gerente	32	9,4	06	18,8	26	81,2
Trabalhadores de indústria alimentícia	06	1,7	04	66,7	02	33,3
Ambulantes (lanches, sucos, sorvetes, garapa)	21	6,2	10	47,7	11	52,3
Atendentes, balconistas	84	24,6	27	32,1	57	67,9
Caixas	21	6,2	04	19,0	17	81,0
Outros (empacotador, repositor, faxineira, etc)	34	10,0	09	26,5	25	73,5
Total	341	100,0	107	31,3	234	68,7

Fonte: Ministério do Trabalho – Classificação Brasileira de Ocupações³

A Tabela 2 apresenta a relação do resultado do exame parasitológico nas diferentes categorias ocupacionais declaradas pelos manipuladores de alimentos, de acordo com a Classificação Brasileira de Ocupações, do Ministério do Trabalho. A ocorrência de infecção parasitária foi mais freqüente entre os trabalhadores de indústria alimentícia (66,7%), sendo todos eles funcionários de uma mesma indústria de doces.

A Figura 1 apresenta a freqüência dos diferentes tipos de enteroparasitas encontrados na população estudada. Consideramos como resultado positivo os parasitas comensais *Entamoeba coli* e *Endolimax nana*, pois os indivíduos infectados receberam tratamento específico pelo médico do trabalho. Embora 12 (3,6%) indivíduos tenham relatado eliminação pregressa de proglótides, a presença de ovos de *Taenia* sp foi constatada em apenas uma auxiliar de cozinha, de 30 anos de idade, que foi tratada com praziquantel. O poliparasitismo intestinal, ou seja, a presença simultânea de até

7 espécies diferentes de parasitas foi evidenciada em 42 (12,3%) indivíduos, sendo as associações mais freqüentes: *Endolimax nana* e *Entamoeba coli*, 9 casos; *Entamoeba coli* e *Entamoeba histolytica*, 6 casos; ancilostomídeos e *Endolimax nana*, 4 casos; ancilostomídeos e *Giardia lamblia*, 3 casos; *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli*, 2 casos; *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica* e *Endolimax nana*, 2 casos; ancilostomídeos, *Entamoeba coli* e *Endolimax nana*, 2 casos.

Nenhuma das amostras revelou a presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp.

DISCUSSÃO

Segundo o CDC⁶, 80% dos surtos de intoxicação alimentar ocorrem fora da residência, resultantes do hábito cada vez mais freqüente da população se alimentar em restaurantes e

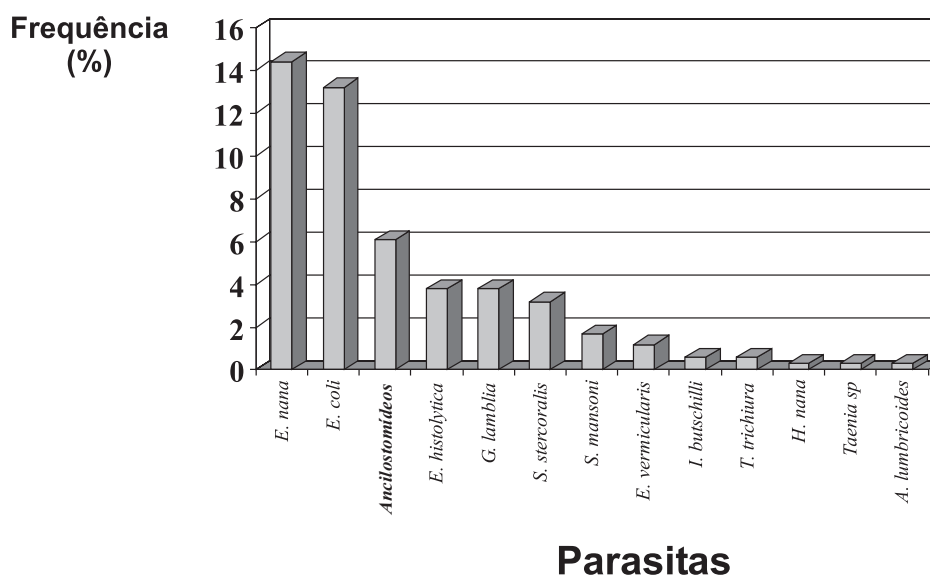


Figura 1. Frequência de enteroparasitoses em 341 manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto - SP, Brasil

lanchonetes. Mesmo no consumo domiciliar, é também crescente o hábito de aquisição de alimentos pré-preparados ou semi-prontos. Nos grandes centros urbanos, é cada vez maior o comércio ambulante de alimentos envolvendo, na maioria das vezes, alta rotatividade de vendedores, de baixo nível educacional e com precárias condições de higiene pessoal²⁷. No Brasil, a elevada taxa de desemprego formal tem propiciado, nos últimos anos, um aumento significativo desta atividade comercial, ilustrada pela disseminação dos carrinhos de lanche.

Os manipuladores de alimentos desempenham importante papel na transmissão de doenças veiculadas pelos alimentos e o aprimoramento da segurança alimentar deve incluir adequada educação sanitária e exames coproparasitológicos periódicos destes profissionais, principalmente em regiões comprovadamente endêmicas em cisticercose.

No presente estudo, 31,3% dos manipuladores de alimentos apresentaram enteroparasitas. A frequência descrita na literatura varia de 28,6 a 70,9%^{2,8,10,12,14,19,21,31,32}, sendo a grande maioria dos estudos realizada no Chile. No Brasil, são escassos os relatos de parasitoses nos profissionais da cadeia alimentar. Em Uberlândia, MG, Costa Cruz et al⁷ constataram uma frequência de 47,1% e Rezende et al³⁰ de 37,5% nos manipuladores de alimentos de escolas públicas. Em São Paulo, SP, Munhoz et al²⁸ evidenciaram enteroparasitoses em 37,14% e 58,38%, de acordo com o número de exames realizados no pessoal de nutrição de um hospital enquanto que Torres et al^{40,41} observaram em creches a relação de parasitismo por *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica* entre as crianças e os manipuladores de alimentos infectados.

Tendo em vista que o risco do manipulador contaminar

alimentos depende do grau de contato com estes produtos, procuramos categorizar a natureza do trabalho desempenhado. Entre as ocupações diretamente relacionadas com o preparo de alimentos como os cozinheiros e auxiliares de cozinha a frequência foi de 32,9%, sendo 28,6% dos padeiros e confeitadores e 47,7% dos vendedores ambulantes. A categoria profissional mais frequentemente acometida foi a dos trabalhadores de indústria alimentícia, com 66,7%; entretanto, a importância epidemiológica quanto ao risco de transmissão de doenças é muito questionável, pois esta categoria abrange uma ampla variedade de gradação de contato manual com os alimentos. Em estudos similares, Fuentes et al¹², em Antofagasta no Chile, e Lobato et al²¹, em Arica, também no Chile, constataram enteroparasitoses predominantemente nos trabalhadores de padarias e de restaurantes. As comparações são, no entanto, prejudicadas pela diversidade de atividades existentes em cada localidade, variando de acordo com o grau de industrialização de gêneros alimentícios e a frequência do comércio ambulante.

Neste estudo, merece destaque o encontro de ovos de *Schistosoma mansoni*, não observado em trabalhos semelhantes^{2,8,10,12,21,31,32}, mesmo no Brasil^{7,28,30}. Todos os seis indivíduos eram procedentes de áreas endêmicas de esquistossomose, e considerados como casos importados pelo Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde. Vale ressaltar também que a ocorrência de ancilostomídeos tem sido relatada somente nos estudos realizados no Brasil^{7,28,30}, mas não naqueles do Chile^{2,8,10,12,21,31,32}. Em nossa casuística foi detectado um indivíduo que apresentou ovos de *Taenia sp* nas 3 amostras de fezes coletadas. A ocorrência de teníase nos manipuladores de alimentos foi

registrada por Henríquez & Castelblanco¹⁴ em 2,9% de 70 manipuladores de alimentos em Temuco, no Chile, e por Rezende et al³⁰ em 0,4% de 264, em Uberlândia, MG. Schantz e Sarti³⁴ ressaltam a dificuldade no diagnóstico de teníase pela irregularidade na eliminação dos ovos e pela baixa sensibilidade do exame convencional de fezes. A detecção de teníase poderia ser mais acurada através da pesquisa de coproantígenos por ELISA¹; entretanto, esta técnica, além de dispendiosa, apresenta limitações na distinção entre *Taenia solium* e *Taenia saginata*. Embora a teníase seja uma parasitose intestinal pouco sintomática, a relevância maior está na possibilidade de transmissão de ovos da *Taenia solium* ao homem, acarretando a neurocisticercose, grave doença neurológica com elevados

índices de morbidade e de mortalidade^{5,38}. O programa de prevenção do complexo teníase/cisticercose que vem sendo realizado no município de Ribeirão Preto, SP, compreende a adoção de várias medidas incluindo o estudo epidemiológico através da notificação compulsória³⁶, fiscalização de verduras^{37,39} e busca ativa de portadores de teníase^{35,38}.

A implantação da obrigatoriedade do exame coproparasitológico na emissão e renovação anual da carteira de saúde e a educação sanitária dos manipuladores de alimentos com o adequado tratamento parasiticida, podem representar uma nova e importante estratégia de prevenção do complexo teníase/cisticercose e de outras enteroparasitoses em nosso meio.

RIALA6/915

CAPUANO, D. M. et al. Active surveillance of taeniasis and other enteroparasitoses among food handlers in Ribeirão Preto, SP, Brazil., **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):33-38, 2002

ABSTRACT: Foodborne diseases have a major public health impact. In our midst, the taeniasis/cysticercosis complex presents both high morbidity and mortality rates. The purpose of this study was to evaluate the frequency of taeniasis and other parasitic diseases among food handlers in Ribeirão Preto, SP, Brazil. From August 1998 to July 1999, 341 subjects (182 women and 159 men), aged between 14 and 68 years, underwent coproparasitological analyses as a mandatory professional requirement. Three fecal samples from each person were analysed by the methods Hoffmann, Pons & Janer and Kato. The search for *Cryptosporidium* oocysts was performed in 47 (4.6%) diarrheic fecal samples. Enteroparasites were detected in 107 (31.3%) individuals, including a case (0.3%) of taeniasis, and 42 (12.3%) multiple parasitosis. Individuals with parasitosis were treated with specific medication. The adoption of coproparasitological examination as a mandatory professional requirement for food handlers, with proper parasitic treatment, may represent an innovative strategy for the prevention of the taeniasis/cysticercosis complex and other enteroparasitoses in our midst.

KEY WORDS: Taeniasis; Cysticercosis; food; food handlers; prevention; coproparasitologic investigation

REFERÊNCIAS

1. Allan, J.C. et al. Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. **Parasitology**, 101: 474-477, 1990.
2. Arias, B. et al. Infecciones intestinales por parásitos y/o comensales en manipuladores de alimentos de hospitales del sector norte de Santiago, Chile. **Bol. Chil. Parasitol.**, 42: 84-86, 1987.
3. Brasil. Ministério do Trabalho – Secretaria de Políticas de Emprego e Salário. **Classificação Brasileira de Ocupações**. 2ª ed., Brasília, 1994.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and management of foodborne illnesses. A primer for physicians. **MMWR Recomm. Rep.**, 50 (RR-2):1-69, 2001.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations of the International Task Force for Disease Eradication (ITFDE). **MMWR**, 42: 1-25, 1993.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for foodborne disease outbreaks, United States, 1988-1992. **MMWR CDC Surveill. Summ.**, 45: 1-66, 1996.
7. Costa-Cruz, J.M.; Cardoso, M.L.G.; Marques, D.E. Intestinal parasites in school food handlers in the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. São Paulo**, 37(3): 191-196, maio/junho, 1995.
8. Dall'orso, L.M. et al. Parásitos y protozoos comensales intestinales en manipuladores de alimentos del área central de la ciudad de Concepción, Chile. **Bol. Chil. Parasitol.**, 30: 30-31, 1975.
9. Dias, R.M.D.S. et al. Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in the county of São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. São Paulo**, 30: 310-312, 1988.
10. Diaz, M.C. et al. Estudio bacteriologico y parasitologico en manipuladores de alimentos de servicios hospitalarios. **Rev. Méd. Chile**, 108: 900-902, 1980.
11. Fayer, R. et al. *Cryptosporidium parvum* in oysters from commercial harvesting sites in the Chesapeake Bay. **Emerg. Infect. Dis.**, 5: 706-710, 1999.
12. Fuentes, A. et al. Estudio parasitologico de manipuladores de alimentos en la ciudad de Antofagasta. **Rev. Chil. Tecnol. Méd.**, 4: 69-71, 1981-82.

13. FUNASA – Fundação Nacional de Saúde. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Ministério da Saúde, 2000.
14. Henríquez, M.A.B.; Castelblanco, C.G. Enteroparasitosis en manipuladores de alimentos. **Rev. Chil. Nutr.**, 17: 122-125, 1989.
15. Hoffmann, W.A.; Pons, J.A.; Janer, J.L. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. **Puerto Rico J. publ. Health Trop. Med.**, 9: 283-289, 1934.
16. Käferstein, F.; Abdussalam, M. Food safety in the 21st century. **Bull. WHO**, 77: 347-351, 1999.
17. Käferstein, F.K.; Motarjemi, Y.; Bettcher, D.W. Foodborne disease control: a transnational challenge. **Emerg. Infect. Dis.**, 3: 503-510, 1997.
18. Kato, K.; Miura, M. Comparative examinations. **Jap. J. parasit.**, 3: 35, 1954.
19. Krstulovic, L.; Reyes, V. Enteroparasitosis en manipuladores de alimentos de la Comuna de El Monte. **Parasitol. Al. Dia.**, 8:13-14, 1984.
20. Lennette, E.H. et al. **Manual of Clinical Microbiology**, 4thed., Washington : American Society for Microbiology, 1985.
21. Lobato, I.L. et al. Enteroparasitosis en manipuladores de alimentos de la ciudad de Arica, I Region, Chile. **Rev. Chil. Tecnol. Méd.**, 8: 355-356, 1985.
22. Mackenzie, W.R. et al. Massive outbreak of waterborne *Cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wincosin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. **Clin. Infect. Dis.**, 21: 57-62, 1995.
23. Mead, P. S. et al. Food-related illness and death in the United States. **Emerg. Infect. Dis.**, 5: 607- 625, 1999.
24. Millard, P.S. et al. An outbreak of cryptosporidiosis from fresh-pressed apple cider. **J. Amer. Med. Assoc.**, 272: 1592-1596, 1994.
25. Motarjemi, Y.; Käferstein, F.K. Global estimation of foodborne diseases. **Wld. Hlth. Statist. Quart.**, 50: 5-11, 1997.
26. Motarjemi, Y. et al. Alimentos de destete contaminados: un importante factor de riesgo de diarrea y malnutrición asociada. **Bol. Oficina Sanit. Panam.**, 116: 313-330, 1994.
27. Moy, G.; Hazzard, A.; Käferstein, F. Improving the safety of street-vended food. **Wld. Hlth. Statist. Quart.**, 50: 124-131, 1997.
28. Munhoz, R.A.R.; Faintuch, M.B.; Valtorta, A. Enteroparasitoses em pessoal de nutrição de um hospital geral: incidência e valor da repetição dos exames. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo**, 45: 57-59, 1990.
29. Petersen, C. *Cryptosporidium* and the food supply. **Lancet**, 345: 1128-1129, 1995.
30. Rezende, C.H.A.; Costa-Cruz, J.M.; Cardoso-Gennari, M.L. Enteroparasitoses em manipuladores de alimentos de escolas públicas em Uberlândia (Minas Gerais), Brasil. **Rev. Panam. Salud Publica/ Pan. Am. J. Public. Health**, 2(6): 392-397, 1997.
31. Reyes, H.; Muñoz, V. Enteroparasitosis en manipuladores de alimentos en hospitales. **Rev. Méd. Chile**, 103: 477-479, 1975.
32. Reyes, H.; Olea, M.; Hernández, R. Enteroparasitosis en manipuladores de alimentos del Area de Salud Oriente de Santiago. **Bol. Chile. Parasit.**, 27: 115-116, 1972.
33. Schantz, P.M. et al. Neurocysticercosis in an Orthodox Jewish community in New York city. **N. Engl. J. Med.**, 327: 692-695, 1992.
34. Schantz, P.M.; Sarti, E. Diagnostic methods and epidemiological surveillance of *Taenia solium* infection. **Acta Leidensia**, 57: 153-163, 1989.
35. Takayanagui, O.M.. Programa de controle da cisticercose em Ribeirão Preto – SP. In: Reimão, R.; Gagliardi, R.J.; Spina-França, A. (eds). **Temas de Neurologia**. Associação Paulista de Medicina, São Paulo, 1999, p. 225-232.
36. Takayanagui, O. M.. et al. Notificação compulsória da cisticercose em Ribeirão Preto-SP. **Arq. Neuropsiquiatr.**, 54: 557-564, 1996.
37. Takayanagui, O .M. et al. Fiscalização de hortas produtoras de verduras no município de Ribeirão Preto, SP. **Rev. Soc. Bras. Med. trop.**, 33: 169-174, 2000.
38. Takayanagui, O.M.; Leite, J.P. Neurocisticercose. **Rev. Soc. Bras. Med. trop.**, 34: 283-290, 2001.
39. Takayanagui, O.M. et al. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Rev. Soc. Bras. Med. trop.**, 34: 37-41, 2001.
40. Torres, D.M.A. et al. Giardíase em creches mantidas pela prefeitura do município de São Paulo, 1982/1983. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, 33: 137-142, 1991.
41. Torres, D.M.A. et al. Infecção por *Entamoeba histolytica* em creches mantidas pela prefeitura do município de São Paulo, SP, Brasil, 1982-1983. **Rev. Bras. Anál. Clín.**, 24: 8-10, 1992.

Recebido em 17/04/2002; Aprovado em 06/06/2002

Correção da interferência dos triglicerídeos na dosagem da hemoglobina e na determinação dos índices hematimétricos

Correction of the interference of the triglycerides in the dosage of hemoglobin and hematimetric indexes

Denilson A. VIEIRA¹
Raimundo A. G. OLIVEIRA^{1*}
Maria do Socorro G. OLIVEIRA¹
Orlando C. de O. BARRETTO²

RIALA6/916

Vieira, D. A. et al Correção da interferência dos triglicerídeos na dosagem da hemoglobina e na determinação dos índices hematimétricos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 61(1):39-43, 2002

RESUMO. A interferência dos triglicerídeos plasmáticos sobre a determinação da hemoglobina foi observada em dosagens acima de 800 mg/dl, provavelmente devido ao aumento da turbidez. Este efeito espúrio leva a falsos resultados no cálculo da HCM e da CHCM. A substituição do plasma lipêmico por solução salina corrige os resultados superestimados da hemoglobina, bem como permite obter resultados mais exatos no cálculo da HCM e da CHCM.

PALAVRAS-CHAVE. Hemoglobina; Triglicerídeos plasmáticos; HCM; CHCM

INTRODUÇÃO

A hemoglobina é a determinação por excelência do eritrograma⁵. É ela que define um estado anêmico.

Quando uma determinada substância pode ser transformada em outra solúvel e corável, é possível determinar sua concentração, medindo-se a quantidade de energia absorvida pela solução². O Comitê Internacional de Padronização em Hematologia (ICSH)⁷ recomenda como padrão de referência para dosagem de hemoglobina, o método da cianometahemoglobina⁶. Neste procedimento a hemoglobina é convertida a

cianometahemoglobina (hemoglobincianeto), um pigmento de cor avermelhada que pode ser determinado espectrofotometricamente.

A fotometria baseia-se na lei de Lambert-Beer, segundo a qual a absorção de luz (densidade óptica) de uma determinada solução é diretamente proporcional à concentração do soluto (substância da solução que se estuda)². Assim, por exemplo, o efeito da turvação produzida por outras substâncias como lípidos, proteínas plasmáticas, excesso de leucócitos ou a presença de eritrócitos não lisados podem alterar a absorção de luz e falsear o resultado da dosagem espectrofotométrica de uma determinada substância no sangue¹.

¹ Universidade Federal do Maranhão

² LIM 23 - Instituto de Psiquiatria, Hospital das Clínicas da FM-USP

* Endereço para correspondência: e-mail: rago@usp.br

Erros na determinação da hemoglobina são em sua maioria, devido a turvação produzida por um elevado número de leucócitos ou por lipídeos no plasma⁹. A hiperlipidemia pode ser em decorrência de fatores endógenos ou devido a nutrição parenteral⁸.

Apesar de criados desde 1953 por Wintrobe, mesmo nos dias atuais, a exceção dos contadores automáticos H1, H2 e H3 (Technicon-Bayer)^{11,12} e ADVIA-120 (Bayer)¹⁰, as determinações da Hemoglobina corpuscular média (HCM) e Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) do eritrograma ainda são feitas através de cálculos matemáticos, onde $HCM = Hb \text{ (g/dL)} \times 10 / N^{\circ} \text{ Erit. (Milhões/mL)}$ e $CHCM = Hb \text{ (g/dL)} \times 100 / Ht \text{ (\%)}$.

Uma vez que dependem do valor da hemoglobina (Hb), a HCM e CHCM obtidas a partir de valores inexatos de Hb, além de trazerem valores improváveis dos índices hematimétricos, que não traduzam o perfil eritrocitário do paciente, podem levar a incorreta interpretação do seu estado anêmico.

Deste modo, nosso trabalho se propôs a determinar o grau de interferência dos triglicérides na dosagem de hemoglobina, estabelecer uma metodologia prática para correção de resultados nas amostras com hipertrigliceridemia, bem como verificar a validade da utilização da CHCM direta por laser do contador hematológico ADVIA-120 (Bayer) como metodologia para obtenção indireta da hemoglobina (a partir da inversão da fórmula matemática proposta por Wintrobe: $Hb \text{ (g/dL)} = CHCM \times Ht / 100$) nestes contadores automáticos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Casuística

Foram analisadas 34 amostras de sangue periférico, coletadas através de punção venosa, em tubos vacutainer contendo K₃EDTA como anticoagulante, de pacientes internos do Hospital Universitário Presidente Dutra (HUPD) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

As amostras selecionadas foram separadas em 4 grupos (tabela 1), de acordo com seus níveis de triglicérides obtidos previamente pelo instrumento ALCION-300, utilizado na seção de bioquímica do laboratório do HUPD.

Tabela 1. Grupos de amostras

Grupos	Taxa de triglicérides
A	30 a 170 mg/dL
B	171 a 400 mg/dL
C	401 a 800 mg/dL
D	Acima de 801 mg/dL

2. Metodologia

Após a separação das amostras conforme a quantidade de triglicérides (tabela 1), as dosagens de hemoglobina foram analisadas pelos seguintes protocolos:

Protocolo 1 - Determinação da hemoglobina “não corrigida” (pré-correção): As dosagens da hemoglobina das amostras “in natura” foram realizadas no contador automático ADVIA-120 e pelo método da cianometahemoglobina⁶ no espectrofotômetro CELM 205-D.

Protocolo 2 - Determinação da hemoglobina sem plasma lipêmico (pós-correção): Após a substituição do volume plasmático por quantidade exatamente igual de solução fisiológica (0,85% de NaCl), as amostras “descontaminadas” dos triglicérides tiveram suas concentrações de hemoglobina determinadas no contador ADVIA-120 e pelo método da cianometahemoglobina⁶ no espectrofotômetro CELM 205-D.

Protocolo 3 - Determinação indireta da hemoglobina através da CHCM emitida pelo contador ADVIA-120: As amostras cujos resultados da dosagem de hemoglobina (pré e pós-correção) foram significativamente divergentes, também tiveram seus valores de Hb corrigido pelos resultados da CHCM do laser (obtida no ADVIA-120) através da inversão da fórmula $CHCM = Hb \times 100 / Ht$

Todas as amostras tiveram suas determinações em triplicata para cada um dos métodos utilizados, independentemente do protocolo.

RESULTADOS

Os resultados estão dispostos às tabelas 2 a 10. Os valores apresentados nas tabelas 2 a 9 referem-se à dosagem de hemoglobina pré-corrigida (protocolo 1) e pós-corrigida (sem plasma lipêmico – protocolo 2), determinadas no contador hematológico ADVIA-120 (tabelas 2 a 5) e no espectrofotômetro CELM 205-D (tabelas 6 a 9) após substituição do plasma lipêmico por solução fisiológica. Os valores dispostos na tabela 10 referem-se às amostras do grupo D que também tiveram seu valor de hemoglobina determinado de modo indireto pelo resultado da CHCM obtida do laser pelo contador ADVIA-120 (protocolo 3).

Tabela 2: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo A no contador ADVIA-120.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
68	12,1	12,1	0	0
69	11,5	11,5	0	0
70	11,7	11,7	0	0
71	11,6	11,6	0	0
74	12,6	12,6	0	0
87	14,3	14,3	0	0
103	13,0	13,0	0	0
116	11,8	11,8	0	0
131	11,5	11,5	0	0
153	11,0	11,0	0	0

Tabela 3: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo B no contador ADVIA-120.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
200	12,6	12,5	0,1	0,8
210	11,9	11,8	0,1	0,8
212	12,2	12,0	0,2	1,6
250	9,0	8,8	0,2	2,2
279	12,1	11,9	0,2	1,6
293	10,2	10,0	0,2	1,9
301	11,3	11,1	0,2	1,7
319	10,4	10,2	0,2	1,9
363	10,2	9,9	0,3	2,9
380	13,4	13,1	0,3	2,2

Tabela 4: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo C no contador ADVIA-120.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
405	12,9	12,5	0,4	3,1
481	13,8	13,4	0,4	2,9
488	12,7	12,3	0,4	3,1
496	13,7	13,3	0,4	2,9
499	12,2	11,8	0,4	3,2
509	10,8	10,3	0,5	4,6
519	13,8	13,3	0,5	3,6
526	9,3	8,8	0,5	5,3
550	12,1	11,5	0,6	4,9
605	13,0	12,3	0,7	4,6

Tabela 5: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo D no contador ADVIA-120.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
807	9,9	9,1	0,8	8,0
821	11,4	10,5	0,9	7,9
824	10,3	9,4	0,9	8,7
832	13,2	12,3	0,9	6,8

Tabela 6: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo A no espectrofotômetro CELM 205-D.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
68	12,0	12,0	0	0
69	11,6	11,6	0	0
70	11,7	11,7	0	0
71	11,4	11,4	0	0
74	12,3	12,3	0	0
87	14,4	14,4	0	0
103	13,0	13,0	0	0
116	11,6	11,6	0	0
131	11,7	11,7	0	0
153	10,9	10,9	0	0

Tabela 7: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo B no espectrofotômetro CELM 205-D.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
200	12,4	12,2	0,2	1,6
210	11,5	11,3	0,2	1,7
212	12,2	12,0	0,2	1,6
250	8,8	8,6	0,2	2,2
279	11,8	11,6	0,2	1,7
293	10,0	9,8	0,2	2,0
301	11,1	10,9	0,2	1,8
319	10,2	10,0	0,2	1,9
363	10,0	9,7	0,3	3,0
380	13,3	13,0	0,3	2,2

Tabela 8: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo C no espectrofotômetro CELM 205-D.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
405	12,7	12,3	0,4	3,1
481	13,6	13,2	0,4	2,9
488	12,6	12,2	0,4	3,1
496	13,5	13,1	0,4	2,9
499	12,1	11,7	0,4	3,3
509	10,6	10,1	0,5	4,7
519	13,7	13,2	0,5	3,6
526	9,6	9,1	0,5	5,2
550	12,0	11,4	0,6	5,0
605	13,2	12,5	0,7	5,3

Tabela 9: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo D no espectrofotômetro CELM 205-D.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
807	9,6	8,8	0,8	8,3
821	11,5	10,6	0,9	7,8
824	10,0	9,1	0,9	9,0
832	13,0	12,1	0,9	6,9

Tabela 10: Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo D no ADVIA-120. Correção indireta pela CHCM do laser.

Triglicérides mg/dL	Hb Pré-correção	Hb Pós-correção	Varição g/dL	Varição %
807	9,6	8,9	0,7	7,2
821	11,5	10,8	0,7	6,0
824	10,0	9,2	0,8	8,0
832	13,0	12,5	0,5	5,4

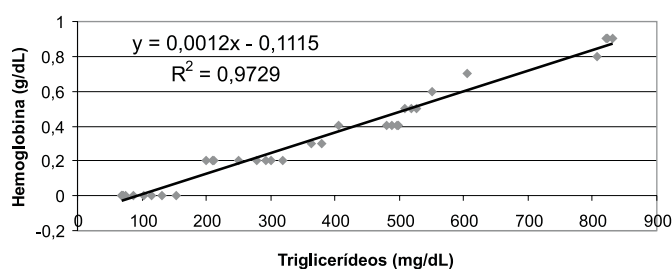


Figura 1. Curva de tendência central entre o nível de triglicérides (mg/dL) e o aumento espúrio da concentração da hemoglobina (g/dL). Equação da reta (Y) e correlação (R²). Dados obtidos pelo contador ADVIA-120 (Bayer).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para as amostras do grupo A (tabelas 2 e 6) demonstraram não haver qualquer interferência dos triglicérides, quando em níveis normais, na determinação da hemoglobina. No grupo B (tabelas 3 e 7), cujas amostras apresentavam valores de triglicérides na faixa de 170 a 400 mg/dL, observou-se uma variação correspondente de 0,8 a 3,0% no resultado final da dosagem de hemoglobina. Apesar de bem mais evidente, as variações da Hb pré e pós-correção para as amostras do grupo C (triglicérides entre 400 e 800 mg/dL) (tabelas 4 e 8) chegam a limites ainda toleráveis, uma vez que o erro relativo à imprecisão da técnica espectrofotométrica manual utilizada chegam a valores, em geral, de até 5% do valor total da hemoglobina dosada.

No grupo D (tabelas 5 e 9) cujos pacientes apresentavam taxas de triglicérides acima de 800 mg/dL, entretanto, constata-se uma interferência mais significativa, com variação de 6,8 a 9,0 % nas dosagens de hemoglobina pré e pós-correção, o que excede o limite erro de 5% pertinente à

própria dosagem estabelecida pelo ICSH e o que poderia comprometer o perfil eritrocítico do paciente.

Os dados referentes a utilização dos resultados da CHCM direta por laser (**protocolo 3**) como forma de correção das dosagens de hemoglobina nas amostras do grupo D (**tabela 10**), demonstraram resultados similares àqueles utilizando troca de plasma lipêmico por solução fisiológica (**protocolo 2**). Assim, sem prejuízos para a qualidade dos resultados do hemograma, esta alternativa também pode ser utilizada como meio rápido e seguro na determinação mais exata da dosagem de hemoglobina em pacientes com hipertrigliceridemia.

Dados da literatura indicam que amostras contendo valores de triglicérides acima de 1.000 mg/dL, mascaram significativamente a obtenção de um valor exato da concentração de hemoglobina da amostra. Nossos resultados apresentam-se compatíveis com aqueles descritos por Nosanchuk⁹, mostrando uma variação direta e progressiva (R² = 0,973, **fig 1**) de acordo com os valores de triglicérides da amostra, sendo digno de correção a partir de valores da ordem de 800 mg/dL.

De acordo com Nicholls⁸, o aumento gradativo da interferência na dosagem de hemoglobina deve levar em conta, além da quantidade, o tipo de lipídemia (tipo I, II, III, IV e V). Utilizando num mesmo estudo amostras com outras alterações, que não apenas a de triglicérides (usou pacientes com hipercolesterolemia) Nicholls⁸ demonstrou não haver proporcionalidade entre a quantidade indistinta de lipídes e o erro na dosagem de hemoglobina.

Assim, nossa pesquisa evidencia que o excesso de triglicérides interferem na determinação da concentração de hemoglobina, caso não haja eliminação desse tipo de hiperlipídemia do plasma. Valores acima de 800 mg/dL elevam de modo significativo as dosagens de hemoglobina e podem ser corrigidos pela troca de plasma lipêmico por solução fisiológica ou através da utilização da CHCM direta por laser para laboratórios que se utilizem de aparelhos da linha Bayer.

RIALA6/916

Vieira, D. A. et al Correction of the interference of the triglycerides in the dosage of hemoglobin and hematimetric indexes. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):39-43, 2002

ABSTRACT. Plasma triglycerides interference on spectrophotometric hemoglobin determination was observed in blood samples with more than 800mg/dl, probably due to the turbidity increase. This spurious effect leads to false results in MCM and MCHC determination. Substituting saline solution for the lipaemic plasma corrects the overestimated hemoglobin determination as well as affording more accurate MCH and MCHC values.

KEY WORDS. Hemoglobin; plasma triglycerides; MCH; MCHC

REFERÊNCIAS

1. Bain, B.J. **Células Sanguíneas: Um guia prático**. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.
2. Brow, B.A. **Técnicas de Laboratório em Hematologia**. Barcelona (Espanha): ELICEIN ISBN 0-8121-0397-1. Edicion original publicada por LEA & FEBIGER (Filadélfia), 1976.
3. Failace, R. **Hemograma: manual e interpretação**. 3 ed. Porto Alegre, Artes médicas, 1995. 197p.
4. International Committe for Standardization in Haematology. **Br J Haematol**. 13 (Suppl): 68, 1967.
5. International Committe for Standardization in Haematology. Recommendations for reference method for hemoglobinometry in human blood (ICSH Standard EP 6/1: 1977) and specifications for International Haemiglobincyanide reference preparation (ICSH Standard, EP 6/3: 1977) **J Clin Pathol**. 31: 139-43, 1978.
6. Nicholls, P.D. The erroneous haemoglobin – hyperlipidaemia relationship. **J. Clin. Pathol.**, 30: 368,-40, 1977.
7. Nosanchuk, J.S.; Roark, M.F.; Wanser, C. Anemia masked by trigliceridemia. **Am. J. Clin Pathol**. 62: 828-9, 1974.
8. Stanworth, S.J. et al. Automated counting of platelets on the Bayer ADVIA™-120 analyser. **Clin. Lab. Haematol**. 21: 113-117, 1999.
9. Technicon H1 System – Software digest. New York, 1985.
10. Technicon H1 Information Bulletin, mar., 1986. 34p.

Recebido em 11/03/2002; Aprovado em 02/09/2002

Contribuição de amostras de sangue no diagnóstico laboratorial da doença meningocócica

Contribution of blood samples in laboratorial diagnosis of meningococcal disease

Maria LOPES^{1*}
Sandra I. S. dos SANTOS¹

RIALA6/917

Lopes, M.; Santos, S. I. S. dos Contribuição de amostras de sangue no diagnóstico laboratorial da doença meningocócica . **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):45-49, 2002

RESUMO. Foram estudados retrospectivamente 73 casos de doença meningocócica (DM), dos quais, analisou-se amostras de líquido céfalo-raquídeo (LCR) e de sangue, empregando-se as técnicas de cultura e pesquisa de antígenos polissacarídicos, através da contraímuno-eletoforese (CIE) e pela reação de aglutinação de partículas de látex sensibilizadas por antissoros específicos (LA). Os resultados laboratoriais revelaram que 45,2% das amostras foram positivas através da análise do LCR; 41,0% foram positivas pela análise do LCR, hemocultura e/ou soro e 13,6% foram positivas através da análise de hemocultura e/ou soro. Quanto ao tipo de exame realizado com o sangue, notou-se que 35,2% dos casos foram positivos pela hemocultura, e quando se pesquisou o antígeno no soro dos pacientes, obteve-se 24,6% de positividade pela CIE e 46,7% pelo LA. Constatou-se que 13,6% dos casos, só tiveram a confirmação laboratorial, através dos exames realizados em amostras de sangue, destacando-se assim, a importante contribuição desse tipo de material na identificação do agente etiológico e no aumento da positividade do diagnóstico laboratorial da DM.

PALAVRAS CHAVE. . aglutinação de látex; hemocultura; contraímuno-eletoforese; doença meningocócica; diagnóstico laboratorial.

¹ Seção de Biologia Médica do Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de Taubaté

* Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de Taubaté
Pça Cel. Vitoriano, 23 - CEP 12020-020 - Taubaté - SP e-mail: ialtaub@ig.com.br

INTRODUÇÃO

A doença meningocócica (DM) foi descrita em 1805, em decorrência a um surto ocorrido em Genebra na Suíça, porém o agente etiológico, a bactéria *Neisseria meningitidis* ou meningococo, só foi identificado em 1887¹⁶.

Esse agente pode infectar de forma aguda o organismo humano, atingindo principalmente crianças com menos de cinco anos ou adultos jovens, levando a um quadro de meningite, que é a forma sintomática mais freqüente. Por outro lado, a meningococemia pode acompanhar a meningite ou se manifestar de maneira fulminante sem o envolvimento das meninges^{11,13}.

Assim, a DM é confirmada quando, além do diagnóstico clínico, forem realizados exames laboratoriais para o isolamento da bactéria *Neisseria meningitidis* em líquido céfalo-raquidiano (LCR) e/ou sangue ou na detecção de antígenos meningocócicos no LCR e/ou soro, através dos testes de contraímuno-elektroforese (CIE) e de látex¹².

O diagnóstico laboratorial realizado com o LCR e sangue, além de confirmar o diagnóstico clínico, tem também relevante importância epidemiológica, pois permite a identificação do sorogrupo prevalente numa população e conseqüentemente oferece subsídios para sua profilaxia, e ainda, possibilita a classificação da DM direcionada ao sistema da Vigilância Epidemiológica^{5,12}.

Desse modo, o escopo do presente trabalho foi demonstrar o incremento do diagnóstico laboratorial da DM, obtido pela utilização de amostras de sangue, empregando-se para esse fim, a hemocultura e/ou reações imunológicas no soro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados retrospectivamente e caracterizados por um ou mais métodos laboratoriais, 73 casos de DM, provenientes de cidades do Vale do Paraíba e Litoral Norte/SP e que foram encaminhados ao Setor de Bacteriologia do Laboratório I do Instituto Adolfo Lutz (IAL) de Taubaté, no período de 1996 a 2000

1. Métodos Laboratoriais

1.1. Cultura de líquido céfalo-raquidiano

Foram semeadas 5 a 10 gotas da amostra em agar Müeller-Hinton chocolate 5% (sangue de carneiro), incubando-se o material em atmosfera e umidade de 5 a 10% de CO₂ à 35-37°C por 24-48 horas. Para a identificação da bactéria, após seu isolamento, procedeu-se a bacterioscopia pelo método de Gram modificado por Hucker; prova de oxidase; utilização de carboidratos (dextrose, maltose, lactose e sacarose) e aglutinação em lâmina com os soros aglutinantes anti-meningococo grupo específico. Foram considerados positivos, os casos em que se observaram bactérias com morfologia de

diplococos gram-negativos, tendo prova de oxidase positiva, utilizando dextrose e maltose e aglutinando com um dos soros específicos A, B ou C⁷.

1.2. Hemocultura

O sangue coletado no momento da internação foi semeado imediatamente em meio de cultura "Probac" numa quantidade correspondente a 10% do volume do meio e incubado à 35-37°C. Sub-culturas foram realizadas após 24 horas a 7 dias de incubação em agar Müeller-Hinton chocolate 5% (sangue de carneiro) e para as sub-culturas positivas, usaram-se as mesmas técnicas de identificação preconizadas pelo Ministério da Saúde⁷ para a cultura de LCR.

1.3. Contraímuno-elektroforese

A pesquisa de antígenos no líquido céfalo-raquidiano e soro por esse método foi realizada em fita de acetato de celulose, usando tampão TRIS em pH 8,6, empregando-se força iônica igual a 0,113; 0,05 M com a fonte ajustada para 30 mA e a corrida marcada para 10 minutos. Posteriormente, a fita foi lavada com solução fisiológica a 0,85%, durante 1 hora, seguida da coloração com Ponceau S durante 5 minutos e descoloração com ácido acético a 5% para a leitura da corrida eletroforética. Os antissoros aglutinantes e precipitantes de anti A, B, C e antígenos específicos foram fornecidos pelo Instituto Adolfo Lutz Central - São Paulo.

1.4. Teste de Aglutinação de látex

Para a pesquisa de antígenos de meningococo no LCR e soro, empregou-se o *kit* (Slidex meningite-*kit* 5 Biomérieux) seguindo-se as normas do fabricante. O princípio do método baseia-se na aglutinação em lâminas, quando se aplica sobre o material biológico estudado, reagentes contendo partículas de látex sensibilizadas por antissoros específicos A, B e C.

RESULTADOS

Verificou-se que em 38 (52,0%) casos foram encaminhadas amostras de LCR, hemocultura e soro, nas quais, foram processadas todas as provas laboratoriais descritas. Em 5 (6,8%) casos, não foram encaminhadas amostras de hemocultura. De 8 (10,9%) pacientes não foram enviadas amostras de soro. Em 22 (30,1%) casos que foram positivos na cultura de LCR, não foi realizado o teste de látex no soro e/ou LCR por falta de reagentes ou insuficiência de material (figura 1).

Analisando individualmente os exames realizados em cada tipo de material encaminhado ao laboratório, observa-se na figura 2 que a positividade da cultura de LCR foi de 78,0% (57/73), do LA 55,7% (39/70) e da CIE 43,8% (32/73). No soro, constatou-se que 24,6% (16/65) das amostras foram positivas na CIE e 46,7% (20/43) na LA. Do total de hemoculturas realizadas, 35,2% (24/68) foram positivas.

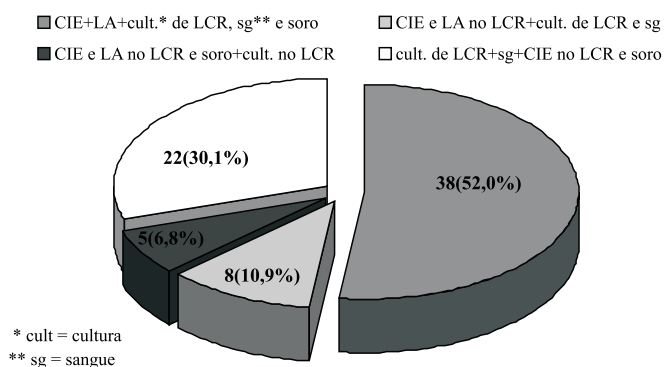


Figura 1. Distribuição do número e percentual das análises realizadas nos 73 casos de DM no Laboratório I de Taubaté no período de 1996 a 2000.

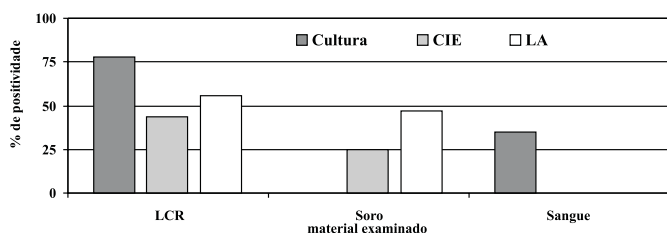


Figura 2. Distribuição do percentual de positividade de DM, segundo o tipo de material examinado e o método laboratorial empregado. IAL-Taubaté, 2002.

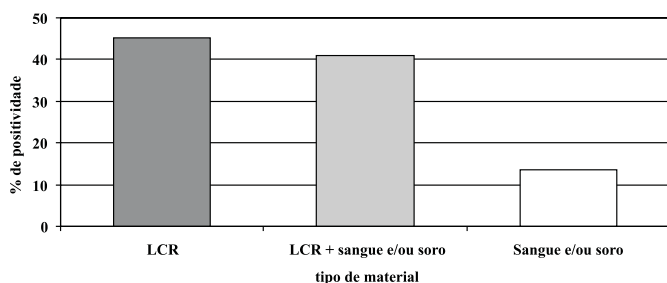


Figura 3. Distribuição do percentual da positividade obtida nos 73 casos de DM, segundo o tipo de material analisado. IAL-Taubaté, 2002.

Considerando-se os 73 casos estudados, a figura 3 mostra que 33 (45,2%) foram positivos só no LCR; 30 (41,0%) no LCR e na hemocultura e/ou soro; 10 (13,6%) foram positivos apenas na hemocultura e/ou soro.

Em relação aos sorogrupos de *N. meningitidis* identificados nos 73 casos estudados, constatou-se que 32(43,8%) eram do sorogrupo B e 41(56,1%) do sorogrupo C.

DISCUSSÃO

Embora o Centro de Referência Nacional para Meningites/IAL e Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo preconizem a coleta do LCR, sangue para hemocultura e soro para o diagnóstico de DM, verificamos em nosso estudo que nem todas as amostras foram encaminhadas pareadas (figura 1). No entanto, ressaltamos que, quando foi possível a realização de qualquer uma das provas laboratoriais usando o sangue como material, houve um acréscimo na obtenção do diagnóstico da DM (figura 3).

Os exames realizados no LCR revelaram que a positividade maior foi obtida na cultura com 78,0%, seguida da LA com 55,7% e de 43,8% na CIE (figura 2). Esses dados são semelhantes aos descritos por Rocha *et al.* (1999)¹⁰ que confirmaram uma positividade de 87,4% na cultura de LCR e 54,8% na CIE, afirmando que, apesar das dificuldades da coleta, transporte e semeadura do LCR na cultura, essa teve um ótimo desempenho, considerando-se a proposta da melhoria do diagnóstico das DM. Por outro lado, os mesmos autores afirmam que a menor positividade da CIE pode estar associada à menor quantidade de antígeno bacteriano no início da doença e mais especificamente, em relação ao sorogrupo B, por problemas relativos à pouca imunogenicidade daquele polissacaríde bacteriano. Kemp *et al.* (1998)⁵ obtiveram percentuais mais baixos de positividade na cultura de 61,5% e 38,8% na CIE. Amostras de LCR analisadas através LA por Weiss *et al.* (2001)¹⁵, revelaram um percentual de apenas 3,8% de positividade, enquanto Alkmin *et al.* (1995)¹, em estudo avaliando o teste de látex comparado a outras metodologias empregadas relatam 5,2% de positividade no teste para *N. meningitidis* C e 23,4% para *N. meningitidis* B, valores superiores aos percentuais encontrados na cultura e dessa forma referendando a aplicação do teste por sua simplicidade e rapidez.

Quanto à positividade nas amostras de soro, observou-se um percentual de 24,6% na CIE, valor esse, superior aos 12,0% descrito por Alkmin *et al.* (1996)² num estudo de avaliação da eficiência das técnicas empregadas para o diagnóstico laboratorial das infecções meningocócicas do grupo B. Já na técnica do LA, a positividade de 46,7% pode ser comparada aos valores referidos por Requejo *et al.* (1995)⁹, em pesquisa testando a sensibilidade das técnicas do LA e CIE, na qual os autores obtiveram respectivamente, uma positividade em amostras de soro de $40,8 \pm 8,8$ e $20,8 \pm 7,3$, resultando em índices compatíveis aos do presente trabalho.

Observamos que o percentual de positividade obtido nas hemoculturas foi de 35,2%, percentual esse mais alto do que aquele verificado no estudo realizado por Ragunathan *et al* (2000)⁸ que foi de 22,0% e por Weiss *et al.* (2001)¹⁵ que foi em torno de 15,0%, porém mais baixo que o valor de 98,0% encontrado em trabalho similar descrito por Kuppermann *et al* (1999)⁶.

É sabido, segundo vários autores^{4, 9, 14} que quando a coleta de sangue é feita fora do período de maior concentração de microorganismos circulantes, há dificuldade na recuperação das bactérias através da cultura. Já em relação às reações imunológicas, pequenas quantidades de antígenos circulantes são suficientes para se obter a positividade, mesmo nos pacientes em tratamento com antimicrobianos.

Verificou-se nesse trabalho que amostras de sangue exclusivamente contribuíram com 13,6% para o diagnóstico da DM, como mostra a figura 3. Carrol *et al.* (2000)³ em trabalho realizado comparando técnica molecular com a hemocultura, revela que 9,0% dos casos suspeitos de DM só foram

confirmados através da hemocultura, enfatizando a importância do emprego de técnicas associadas para incrementar o diagnóstico laboratorial da DM.

Em relação aos sorogrupos identificados de *Neisseria meningitidis*, houve maior ocorrência do sorogrupo C, seguido do sorogrupo B nas amostras estudadas, o que evidencia a tendência do aumento desse sorogrupo já discutido por Rocha *et al.* (1999)¹⁰.

Desta forma, fica evidente a importância da contribuição do sangue para incrementar o diagnóstico laboratorial da DM, bem como o uso de métodos laboratoriais associados.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à pesquisadora Marilu Mendes Moscardini Rocha pela leitura do texto e pelas sugestões recomendadas.

RIALA6/917

Lopes, M.; Santos, S. I. S. dos. Contribution of blood samples in laboratorial diagnosis of meningococcal disease . **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):45-49, 2002

ABSTRACT. 73 cases of meningococcal disease (MD) have been studied retrospectively in which samples of cerebrospinal fluid (CSF) and blood were analysed using culture and meningococcal antigen detection through counterimmunoelectrophoresis (CIE) and reaction of latex agglutination (LA). The laboratory results showed that 45,2% of the samples were found positive in the CSF alone; 41,0% in the CSF, blood culture and/or serum, and only 13,6% in the blood culture and/or serum. As for the type of test carried out in the blood, it was observed that 35,2% of the cases were positive in the blood culture, while the tests of antigen detection in the serum, showed that 24,6% were positive by CIE and 46,7% by LA. It was noticed that 13,6% of the cases only had the laboratorial confirmation through blood samples, thus showing the important contribution of the blood in the identification of the ethiological agent and the increase of the positivity of MD laboratorial diagnosis.

KEY WORDS. latex agglutination; blood culture; counterimmunoelectrophoresis; meningococcal disease; laboratorial diagnosis.

REFERÊNCIAS

1. Alkmin, M.G.A.; Landgraf, F. I. M.; Melles, C.E.A. Avaliação do teste de látex comparativamente à cultura e a imunoelctroforese cruzada no diagnóstico de meningites bacterianas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 55 (1): 19-24, 1995.
2. Alkmin, M.G.A.; Landgraf, F. I. M.; Vieira, M. F. P. Contribuição da imunoelctroforese cruzada em líquido cefalorraquidiano e/ ou soro no diagnóstico de infecções por *Neisseria meningitidis* grupo B no Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 56 (1): 13-17, 1996.
3. Carrol, E. D. et al. Performance characteristics of the polymerase chain reaction assay to confirm clinical meningococcal disease. **Arch. Dis. Child.**, 83: 271-273, 2000.
4. Kellogg, J. A.; Manzella, J P.; Bankert, D. A. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. **J. Clin. Microbiol.**, 38(6): 2181-2185, 2000
5. Kemp, B.; Rocha, M.M.M.; Iversson, L.B. Avaliação do diagnóstico laboratorial da doença meningocócica em pacientes internados em um hospital sentinela do município de Campinas/SP, 1988-1991. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 57(1): 13-19, 1998.
6. Kuppermann, N. et al. Clinical and hematologic features do not reliably identify children with unsuspected meningococcal disease. **Pediatrics**, 103(2):201-206, 1999.
7. Ministério da Saúde. Secretaria de Ações Básicas da Saúde. Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. **Normas técnicas para o diagnóstico das meningites bacterianas**. Brasília; 1986.

8. Rangunathan, L. et al. Clinical features, laboratory findings and management of meningococcal meningitis in England and Wales: Report of a 1997 Survey. **J.Infec.**, 40: 74-79, 2000.
9. Requejo, H. I. Z.; Nascimento, C. M. P. C.; Fahrat, C. K. Detecção de antígenos em soros sanguíneos de crianças com meningite bacteriana. **Laes-Haes**, 94: 48-60, 1995.
10. Rocha, M.M.M. et al. Avaliação do diagnóstico laboratorial da doença meningocócica pelos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 58(1): 33-39, 1999.
11. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância Epidemiológica**. São Paulo, 1995. (Doença Meningocócica-Normas e Instruções).
12. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenação dos Institutos de Pesquisa. Centro de Vigilância Epidemiológica. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória. **Meningites-Manual de Instruções, Critérios de Confirmação e Classificação**. São Paulo, 2001.
13. Van Deuren, M.; Brandtzaeg, P.; Van Deer Meer, J. W. M. Update on meningococcal disease with emphasis on patogénesis and clinical management. **Clin. Microbiol. Rev.**, 13 (1): 144-166, 2000.
14. Vieira, M.F.P. et al. Bactéria do gênero *Haemophilus* isoladas de sangue e identificadas na Seção de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, no período de 1979 a 1991. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 54(2): 88-92, 1994.
15. Weiss, D. P. L.; Coplan, P.; Guess, H. Epidemiology of bacterial meningitis among children in Brazil, 1977-1998. **Rev. Saúde Pública**, 35(3): 249-255, 2001.
16. World Health Organization. **Meningococcal Disease: Public Health Burden and Control**. Disponível em <URL: <http://www.who.int/emc/disease/meningitis/index.htm> > [2001, nov].

Recebido em 20/06/2002 ; Aprovado em 01/10/2002

Padrão físico-químico da água de abastecimento público da região de Campinas

Physical – chemical standards of the drinking water in the Campinas area

Valéria P.S.FREITAS^{1*}
Berenice M. BRÍGIDO¹
Maria Irene C. BADOLATO¹
Janete ALABURDA²

RIALA6/918

Freitas, V. P.S. et al Padrão físico-químico da água de abastecimento público da região de Campinas **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):51-58, 2002

RESUMO. Foram analisadas amostras de águas de abastecimento público da região de Campinas, localizada no estado de São Paulo, entre os anos de 1991 e 1999, procedentes da rede pública de abastecimento (água tratada, 90%), de poços e de nascentes (água não tratada, 10%). Das 8174 (90%) amostras de água analisadas que sofreram tratamento convencional, 41% estavam em desacordo com a legislação vigente. Das 519 (6%) amostras provenientes de nascentes, o índice de condenação foi de 14%, e das 385 (4%) de poços, 7,1% em desacordo. Os parâmetros físico-químicos avaliados foram: cor, turbidez, pH, dureza total, cloro residual, nitratos, ferro, sulfatos, cloretos, sólidos totais dissolvidos e fluoretos. A maioria das amostras estava em desacordo com a legislação vigente devido ao teor de fluoreto (59%). A condenação pelo cloro residual aparece em segundo lugar (29%). A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que o monitoramento sistemático das águas de abastecimento público proposto pelo Programa PRÓ-ÁGUA é bastante importante como medida de saúde pública. Os parâmetros atualmente contemplados neste programa são adequados para a garantia da qualidade das águas de abastecimento, porém verificou-se que é importante que se avalie os resultados de análises físico-químicas realizadas anteriormente, para que o controle da qualidade das águas de consumo humano contemple às características locais da região.

PALAVRAS-CHAVE. Água de abastecimento público; parâmetros físico-químicos; análise de água; potabilidade; fluoretação da água.

¹ Instituto Adolfo Lutz – Lab. I de Campinas

² Instituto Adolfo Lutz – Lab. Central - São Paulo

* Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz – Lab. I de Campinas – Rua São Carlos, 720 - CEP: 13035-420 Campinas-SP
Tel (0XX19) 32727977 Fax (0XX19) 32731698
E.mail: freitas@lexxa.com.br

INTRODUÇÃO

A água é essencial para a existência e bem-estar do ser humano, devendo ser disponível em quantidade suficiente e boa qualidade como garantia da manutenção da vida. Além de ser ingerida pelo ser humano em quantidade superior a todos os outros alimentos²³, ela é imprescindível para a sua higiene. Para tanto, é necessário que atenda ao padrão de potabilidade, que são as quantidades limites que, com relação aos diversos elementos, podem ser toleradas nas águas de abastecimento, quantidades definidas geralmente por decretos, regulamentos ou especificações.

A água sendo um excelente solvente, através do seu ciclo hidrológico permanece em contato com os constituintes do meio ambiente (ar e solo), dissolvendo muitos elementos e carreando outros em suspensão. Por outro lado, estima-se que cerca de 4 bilhões de metros cúbicos de contaminantes²⁵, provenientes principalmente de efluentes industriais, uso agrícola, dejetos domésticos e outros, atinjam o solo a cada ano e, conseqüentemente, a água.

A qualidade da água é vulnerável às condições ambientais a qual está exposta e, portanto, na maioria das vezes, é necessário um tratamento para torná-la potável. O tratamento convencional inclui várias etapas, a saber: coagulação-floculação-decantação-filtração-desinfecção-fluoretação^{3,4}. Uma vez que o tratamento utiliza produtos químicos, podem permanecer resíduos na água final implicando prejuízos para a saúde do consumidor. Desta forma todas as etapas devem ser monitoradas ininterruptamente para garantir que o produto final atenda às normas e ao padrão de potabilidade, estabelecidos pela Portaria 1469/GM de 29 de dezembro de 2.000⁷, em vigor a partir de 01 de janeiro de 2003.

Ao sistema produtor cabe a oferta de um produto inócuo ao homem, à vigilância sanitária o controle da qualidade deste produto, como medida preventiva de saúde pública^{4,21}. Por sua vez, a garantia da qualidade da água de abastecimento público tem despertado o interesse dos mais diversos setores, motivando-os a elaborarem modelos de uso e gestão capazes de compatibilizar as demandas crescentes com a relativa escassez do produto na qualidade desejada¹⁰.

O flúor é um elemento amplamente recomendado para a prevenção da cárie dental. No Brasil a fluoretação é obrigatória por lei federal a partir de 1974³.

O controle físico-químico das águas para consumo tem uma importância fundamental, sendo que na última década a Portaria 36/GM de 19 de janeiro de 1990⁶ contemplou 39 novos parâmetros físico-químicos com relação ao Decreto Estadual paulista nº 12.486 - NTA 60¹⁷. Em 3 de janeiro de 1992 foi implantado o PRÓ-ÁGUA - Programa Estadual de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano¹⁸ e em 1995 definiu-se os teores de íon fluoretos nas águas de abastecimento²⁰, estabelecendo uma faixa de concentração ideal para o estado de São Paulo, o que facilita o controle sistemático deste íon como medida preventiva de saúde pública.

Medidas técnicas e governamentais recentes, visando a otimização do processo de controle de qualidade da água e a adequação do programa em relação aos parâmetros físico-químicos estabelecidos pela Portaria 1469/GM, ressalta como prioritárias as determinações de cor, turbidez, cloro residual, pH e fluoretos¹⁰.

O presente trabalho tem o objetivo de avaliar a qualidade físico-química da água de abastecimento da região de Campinas, localizada no estado de São Paulo, quanto aos parâmetros sugeridos inicialmente pelo Programa PRÓ-Água²¹ que além dos citados, incluía também nitrato, cloretos, sulfatos, e sólidos totais dissolvidos. Como alguns deles foram ratificados recentemente, visa-se também, utilizar os resultados obtidos para verificar se os parâmetros contemplados pela Portaria 1469/GM são suficientes para esta avaliação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 9078 amostras de águas, entre os anos de 1991 e 1999, as quais podem ser classificadas como água tratada (rede pública de abastecimento) e água não tratada (poços e nascentes) (figura 1).

As coletas foram realizadas pelas equipes de vigilância sanitária, em 83 municípios abrangidos pelas DIRs (Divisão Regional de Saúde) XII – Campinas, XV – Piracicaba e XX – São João da Boa Vista, com pontos de amostragem pré-definidos pela Portaria 36/90⁶.

As técnicas de coleta e transporte foram efetuadas de acordo com os métodos da APHA, 1995². O cloro residual foi dosado no ato da coleta, pelo método colorimétrico de DPD (n,n-dietil-p-fenilodiamina)².

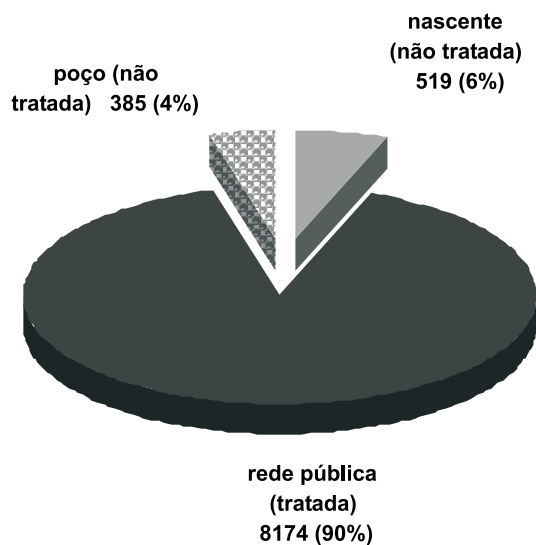


Figura 1. Distribuição das amostras de águas de abastecimento analisadas quanto à sua procedência

Tabela 1. Distribuição das amostras de águas avaliadas e frequência de condenação, segundo o ano da coleta e o motivo de condenação

	total		1991		1992		1993		1994		1995		1996		1997		1998		01/06/1999									
	N	n°	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%								
cloro	8279	2430	816	38,1	2197	67,1	30,5	1218	274	22,5	1950	485	25,0	578	175	30,0	643	203	31,5	393	144	36,6	368	83	22,5	116	14	12,0
pH	8483	606	7,0	14,0	2297	24,2	10,5	1351	31	2,0	2121	88	4,0	679	58	8,5	513	42	8,0	399	37	9,0	381	20	0,5	116	1	1,0
cor	2844	159	6,0	1,0	606	17	3,0	416	32	8,0	654	53	8,0	334	26	8,0	216	14	6,5	148	6	4,0	86	7	8,0	117	1	1,0
turbidez	2735	118	4,0	1,0	597	34	6,0	415	26	6,0	652	30	5,0	332	13	4,0	215	8	4,0	147	2	1,0	85	2	2,0	27	-	-
TDS	2736	-	-	-	596	-	-	414	-	-	651	-	-	334	-	-	216	-	-	147	-	-	85	-	-	27	-	-
dureza	2738	-	-	-	596	-	-	415	-	-	652	-	-	334	-	-	216	-	-	147	-	-	85	-	-	27	-	-
nitrato	2463	17	0,7	1,5	597	1	0,1	141	1	0,2	651	3	0,4	332	7	2,0	216	-	-	147	1	1,0	85	-	-	27	-	-
ferro	2730	290	11,0	9,0	597	60	10,0	409	54	13,0	651	64	10,0	334	45	13,0	216	15	7,0	146	8	5,5	85	14	16,5	27	7	26,0
cloreto	2738	-	-	-	598	-	-	414	-	-	652	-	-	333	-	-	216	-	-	147	-	-	85	-	-	27	0	0,0
fluoreto	1587	884	56,0	42,0	285	147	51,5	166	71	43,0	324	137	42,0	181	99	55,0	187	143	76,5	138	106	76,8	119	96	80,7	27	18	67,0
sulfato	1795	-	-	-	310	-	-	328	-	-	473	-	-	251	-	-	181	-	-	131	-	-	82	-	-	27	-	-

Onde: N = número total de amostras de águas analisadas; n° = número total de amostras em desacordo; % = porcentagem de amostras em desacordo

Foram determinados os seguintes parâmetros físico-químicos: cor (colorimetria, comparação com discos coloridos), pH (potenciometria), dureza total (volumetria de complexos, com EDTA), nitrogênio nítrico (espectrofotometria, método ácido-fenoldissulfônico), ferro (espectrofotometria, método fenantrolina) e cloretos (volumetria, argentometria), segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1985¹²; turbidez (pelo método turbidimétrico, em unidades formadoras de turbidez - FTU), sólidos totais dissolvidos (método condutivimétrico, expresso em NaCl) e fluoretos (método potenciométrico, com eletrodo de íon seletivo)².

Para a avaliação comparativa dos resultados, foi empregado o método estatístico "t-student", segundo o programa de microinformática EPIDAT, da Organização Mundial da Saúde.

RESULTADOS

O número de amostras analisadas e o número de amostras em desacordo com a legislação vigente⁶ em relação ao parâmetro físico-químico analisado e o ano de sua realização, durante o período de 1991 ao primeiro semestre de 1999, estão apresentados na tabela 1.

Na figura 2 está representado o número de amostras em acordo e em desacordo para o total analisado durante todo o período de 1991 a 1999, de acordo com a procedência da amostra de água, isto é: água de nascente, de poço ou de rede pública de abastecimento.

A figura 3 mostra o número de amostras, em porcentagem, em desacordo somente com relação ao parâmetro físico-químico

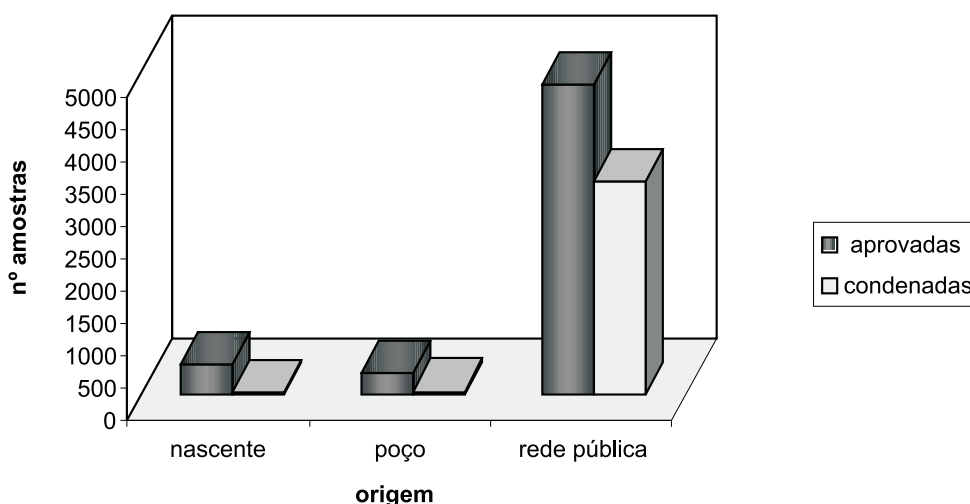


Figura 2. Perfil de condenação das amostras de águas analisadas segundo a sua origem

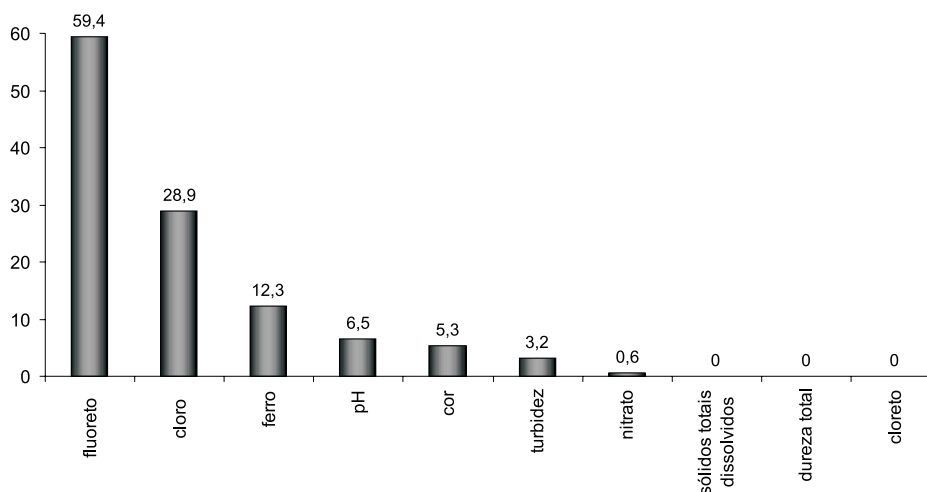


Figura 3. Perfil de condenação das amostras de águas analisadas com relação aos parâmetros físico-químicos avaliados

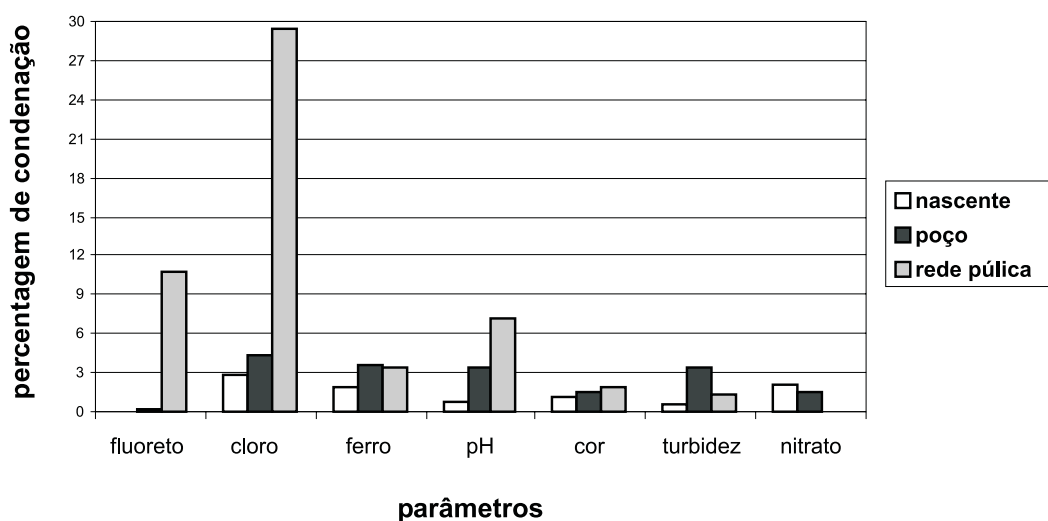


Figura 4. Perfil de condenação dos parâmetros físico-químico segundo a origem das amostras de águas analisadas

Tabela 2. Fluoretos: porcentagem de condenação em relação aos limites mínimo e máximo permitidos pela legislação

Concentração F (mg/L)	Resumo da Análise					
	Aprovadas		Condenadas		Total	
	n	%	n	%	n	%
0,6<F<0,8	703	44	-	-	703	44
<0,6	-	-	761	85*	761	48
>0,8	-	-	134	15*	134	08
Total	703	44	895	56	1598	100

(*) se refere: do total das amostras condenada

analisado, enquanto que na figura 4, está representado o percentual de amostras em desacordo, subdivididas de acordo com a sua procedência em relação à determinação físico-química realizada.

O maior número de amostras em desacordo foi devido ao teor de íons fluoreto, que segundo os padrões de potabilidade deve encontrar-se dentro da faixa de 0,6 < [F] mg/L < 0,8 (referência). Como as amostras em desacordo podem tanto conter concentrações de íons fluoretos acima ou abaixo dos valores limites da faixa estabelecida, na tabela 2 está apresentado o número de amostras analisadas em desacordo devido ao parâmetro fluoreto, subdivididos em dois grupos, amostras com teores abaixo de 0,6 mg F/L e acima de 0,8 mg F/L

DISCUSSÃO

Das amostras de água analisadas, 8174 (90%) sofreram tratamento convencional e deste total 40,7% estavam em

desacordo com a legislação vigente. Das 519 (6%) amostras provenientes de nascentes, o índice de condenação foi de 14%, e das 385 (4%) de poços, 7,1% de condenação. Desta forma, do total das amostras analisadas (9078), verificou-se que 3414 (38%) amostras estavam em desacordo com a legislação devido a pelo menos um dos parâmetros analisados.

Das amostras em que foi determinado o teor de íons fluoretos, mais da metade (59,4%) apresentaram teores inadequados deste íon segundo a legislação em vigor²⁰, sendo que do total destas amostras em desacordo, 85% apresentaram teores inferiores a 0,60 mg/L e 15% superiores a 0,80 mg/L (Tabela 2).

Ainda, tratando-se estatisticamente os dados obtidos da Tabela 1, verifica-se que nos últimos anos (1996, 1997 e 1998) do período em que foi realizado o presente trabalho, houve um aumento estatisticamente significativo do perfil de condenação ($p < 0,05$), devido provavelmente à maior frequência de condenação por fluoreto.

O flúor é adicionado à água, como medida preventiva de saúde bucal. Por ser esta a última etapa do tratamento da água,

este procedimento pode também indicar a eficiência nas demais etapas do tratamento. Apesar da fluoretação ser obrigatória no Brasil a partir de 1974⁵ e da constatação de que a aplicação adequada e ininterrupta de flúor na água alcança índices de 50-60% na redução da cárie²², a partir dos resultados obtidos conclui-se que a mesma ainda é ineficiente na região de Campinas.

O flúor está entre os elementos que atravessam a membrana semipermeável da placenta, participando do metabolismo ósseo e dentário do feto¹⁵. A suplementação de flúor durante a gestação somente é indicada quando a água de abastecimento local não é fluoretada, uma vez que o uso sistêmico de soluções fluoretadas aumenta o risco de fluorose, a qual se origina no consumo de teores de flúor acima de 1,5 mg/L⁴. Daí a importância do monitoramento constante e divulgação de dados confiáveis referentes a este parâmetro.

Das 8279 amostras analisadas quanto ao teor de cloro residual, observou-se que 2430 (29 %) estavam em desacordo com os padrões de potabilidade vigente, desta forma o parâmetro cloro foi o segundo em condenação. O cloro é o produto mais utilizado na desinfecção da água, sendo a sua presença em concentração suficiente, fundamental como agente bactericida. Desta forma, este dado pode ser considerado significativo, uma vez que é notória a eficiência da cloração na redução de doenças⁸ veiculadas pela água. Devido a importância comprovada da presença deste agente bactericida em teores adequados na água de consumo humano, ressalta-se que no início da década de 90 o país vivenciou a possibilidade de uma epidemia de cólera, o que resultou na elevação do teor mínimo de cloro residual na rede de abastecimento público de 0,2 para 0,5ppm¹⁹ no estado de São Paulo, como uma medida emergencial de saúde pública.

A presença de ferro na água de abastecimento, normalmente é proveniente da dissolução deste elemento a partir das tubulações utilizadas na rede de distribuição ou, no caso de poços, do próprio solo. Mesmo em teores acima do padrão, tem se considerado que o excesso não representa risco sanitário se a água for ingerida, porém pode ocasionar o aparecimento de cor e/ou depósito, afetando as características organolépticas da água, provocando entupimentos nas canalizações² e causando a sua rejeição pelo consumidor, bem como permitindo o desenvolvimento das ferro-bactérias que se encontram principalmente nas redes de distribuição, conferindo odor fétido à água. Por outro lado, uma pesquisa realizada nos Estados Unidos levantou a hipótese que a ingestão de ferro aumenta o risco de câncer de intestino, particularmente em mulheres²⁶.

Das amostras analisadas, obteve-se um índice de condenação de cerca de 12%, que apesar de atualmente não ser tão elevado do ponto de vista sanitário, ele pode ser significativo quanto às suas características sensoriais². Deve-se salientar que as características organolépticas são observadas imediatamente até pelo consumidor leigo, podendo induzir conclusões errôneas quanto à qualidade sanitária do produto oferecido pelo sistema produtor. Desta forma, é importante que este parâmetro seja melhor monitorado, como garantia de satisfação do cliente.

Os parâmetros cor e turbidez apresentaram índices de condenação de 5,3 e 3,2%, respectivamente. Numa primeira análise pode-se considerar estes valores baixos, porém deve-se salientar que a presença de cor e turbidez compromete diretamente as características organolépticas da água e, portanto, a satisfação do consumidor e a idoneidade do produtor, como já mencionado.

As análises destes parâmetros fornecem subsídios para a verificação das condições de captação ou de manutenção e limpeza das instalações hidráulicas dos estabelecimentos onde se realiza a coleta, bem como um indicador de condições higiênicas insatisfatórias^{2,9,24}.

A análise estatística conjunta das variáveis cor, turbidez e ferro, mostrou que as amostras condenadas por ferro apresentam perfil de condenação por cor significativamente mais elevado que as aprovadas por ferro ($p < 0,001$), o mesmo para as condenadas por turbidez. A interpretação simultânea das variáveis acima deve ser considerada, pois as partículas coloidais encontradas em solução na água devido a presença de cor e turbidez, assim como o ferro no estado de oxidação +3 ocorrendo na forma coloidal, podem prejudicar a ação efetiva do cloro como desinfetante, protegendo os microrganismos em seu interior¹⁶. Considerando que cerca de 28% das amostras apresentaram teores reduzidos de cloro residual, pode-se julgar que apesar das baixas porcentagens de condenação para os parâmetros mencionados, elas podem ser significativas do ponto de vista sanitário e para o ser humano. Além disto, a presença de cor, turbidez e ferro total acima dos limites desejáveis é economicamente prejudicial para algumas indústrias.

Como várias amostras estavam em desacordo com a legislação devido a parâmetros que afetam as características organolépticas da água de abastecimento, sugere-se a inclusão da realização da análise do parâmetro aspecto¹, uma vez que esta análise não envolve gasto, pois é a simples observação da amostra a olho nu, porém contribui muito para uma avaliação das características organolépticas.

O pH é um parâmetro físico-químico importante no controle de qualidade de águas de abastecimento, podendo ser utilizado para avaliar a qualidade do tratamento realizado, além de comandar grande parte das reações químicas, e quando em valores inadequados pode contribuir para a corrosão das instalações hidráulicas e do sistema de distribuição. Ainda, o valor de pH dentro dos limites desejáveis (6,5 a 8,5) contribui para uma maior estabilidade do cloro na água de abastecimento¹¹. Das 8483 amostras analisadas, 606 (7 %) foram condenadas pelo parâmetro pH.

Índice de condenação não significativo ocorreu para os nitratos, indicando baixa decomposição da matéria orgânica que entrou em contato com a água²⁴. Os baixos teores encontrados neste estudo atribuem-se ao pequeno número de amostras não tratadas analisadas (Figuras 1 e 4), uma vez que as amostras que estavam em desacordo eram provenientes de nascentes e poços. A presença de teores elevados deste ânion está relacionada indiretamente com a ocorrência de metemoglobinemia, que pode

levar a morte crianças com menos de um ano de idade. Desta forma, o ideal é que não exista condenação por este parâmetro, uma vez que o mesmo pode ser toxicologicamente perigoso para o ser humano^{13,14}.

Todas as amostras analisadas apresentaram teores de cloretos, sulfatos e sólidos totais dissolvidos em acordo com a legislação vigente e os valores encontrados sempre estavam bem abaixo do limite máximo permissível. A análise destes parâmetros estava prevista inicialmente no Programa Pró-Água, porém a partir dos resultados obtidos, verificou-se que o controle deles na região de Campinas/SP não é prioritário como garantia para a manutenção da qualidade da água de abastecimento.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados dos parâmetros físico-químicos avaliados neste trabalho, considera-se que o monitoramento da qualidade da água de abastecimento público deve ser realizado continuamente, pois embora o Programa PRÓ-ÁGUA já esteja implantado há dez anos no estado de São Paulo, ainda é bastante elevado o índice de amostras de águas em desacordo com a legislação, e principalmente, devido à parâmetros básicos e fundamentais como cloro residual, pH e fluoretos, os quais são facilmente controlados na etapa final de tratamento da água.

Atenção especial deve ser dada ao processo de fluoretação, pela elevação dos níveis de condenação nos últimos anos. Os resultados críticos norteiam para providências rápidas, impulsionando a prática da fluoretação das águas de abastecimento pelos sistemas públicos, mantendo-as com concentrações adequadas e controladas de íons fluoretos nos

teores recomendados pela legislação, bem como, para o processo de cloração, fundamental para a manutenção da qualidade sanitária e prevenção de doenças veiculadas pela água de abastecimento. O controle sistemático de ambos os parâmetros é muito importante como medida preventiva de saúde pública

Acredita-se que a adequação do programa em relação aos parâmetros físico-químicos estabelecidos pela Portaria 1469/GM, ressaltando como prioritárias as determinações de cor, turbidez, cloro residual, pH e fluoretos, foi uma medida adequada da Vigilância Sanitária, uma vez que os demais parâmetros como: sulfatos, cloretos e sólidos totais dissolvidos não se apresentaram como um problema no monitoramento da qualidade das águas de abastecimento na região de Campinas. Porém ressalta-se que também é importante incluir o controle de nitrito e nitrato para as águas provenientes de poços e o parâmetro ferro e aspecto para todas as águas provenientes da região estudada.

De forma geral, deveriam ser controlados sistematicamente, em todo o estado de São Paulo, todos os parâmetros físico-químicos contemplados pela Portaria 1469/GM, e após uma avaliação dos resultados totais do Programa Pró-Água dos anos anteriores, fossem incluídos os parâmetros físico-químicos necessários de acordo com cada região do Estado, visando um monitoramento eficiente e economicamente adequado para os diversos municípios paulistas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à pesquisadora e colega Beatriz Pisani, pela amizade e apoio.

RIALA6/918

Freitas, V.P.S. et al. Physical - chemical standards of the drinking water in the Campinas area **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):51-58, 2002

ABSTRACT. Drinking water samples from the public supply in the Campinas region, located in the state of São Paulo were analysed from 1991 to 1999. Ninety percent of the samples were from the public supply system (treated water) and 10% were from wells and fountains (non-treated water). Of the 8,174 treated water samples analysed, 41% did not meet current legal standards. Of the 519 (6%) samples originating from fountains the contamination index was 14% and of the 385 (4%) from wells, 7.1% were not in compliance. The physical-chemical criteria analysed were: colour, turbidity, pH, total hardness, residual chlorine, nitrates, iron, sulphides, chlorides, total dissolved solids and fluorides. The majority of samples were not in compliance with current legislation due to fluoride contents and residual chlorine. These results led to the conclusion that the continuous monitoring of the public water supply proposed by "Programa PRO-ÁGUA" is important as a public health measure. The criteria under current use by this program are sufficient to identify inadequately treated water. However it is important to evaluate the physical and chemical analyses already performed in other areas of São Paulo state in order to select appropriate testing criteria specific for each region.

KEY WORDS. Drinking water; physical - chemical determination; water analyses; potability.

REFERÊNCIAS

1. Alaburda, J.; Nishiara L. Características organolépticas da água de consumo e legislação. *Boletim do Instituto Adolfo Lutz*, 1:12,1998.
2. American Public Health Association (APHA). **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**, 19th ed., Washington:1995.p.1-18/1-24/4-36/4-59/2-1/3-67.
3. Azevedo Neto, J.M. et al. **Técnica de abastecimento e tratamento de água**. 3ed., São Paulo, CETESB, 1987. 549p.
4. Batalha, B.H.L.; Parlatore, A. C. **Controle da qualidade da água para consumo humano: bases conceituais e operacionais**. São Paulo, CETESB, 1993. 198p.
5. Brasil. Leis, decretos,etc. Lei nº 6050 de 24 de março de 1974, regulamentada pelo decreto federal nº 76872 de 22 de dezembro de 1975 e pela Portaria Ministerial da Saúde 635 Bsb, de 26 de dezembro de 1975.
6. Brasil. Leis, decretos,etc. – Portaria nº 36/GM do Ministério da Saúde de 19 de janeiro de 1990. Aprova normas e padrões de potabilidade da água destinada ao consumo humano, a serem observados em todo o território nacional. *Diário Oficial*, Brasília, 23 de janeiro de 1990.
7. Brasil. Leis, decretos,etc. – Portaria nº 1469/Gm do Ministério da Saúde de 29 de dezembro de 2000. Aprova a norma de qualidade da água para consumo humano, que dispõe sobre procedimentos e responsabilidades inerentes ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano, estabelece o padrão de potabilidade da água para consumo humano, e dá outras providências. *Diário Oficial*, Brasília, 10 de janeiro de 2001.
8. CETESB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Técnica de Abastecimento e Tratamento de Água**, 2^a ed., São Paulo, Brasil, 1987. 549 p.
9. Cintra Filho, O. A. **Apostila**. Interpretação de Laudo Físico-Químico, Hidrobiológico e Bacteriológico em de Abastecimento Público de Água. CETESB, 1991.
10. FUNASA, Centro Nacional de Epidemiologia e Coordenação de Vigilância Ambiental. **Sistema de Informação da Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano SIS Água**, Brasília, 2000. fascículo 1.
11. Heller,L. **Saneamento e Saúde**. OPAS/OMS, 1997.
12. Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz : Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, 3^a ed., São Paulo, 1985. v.1, p.302-30.
13. **Mato, A. P.** Determinação de nitratos ,nitritos e prováveis fontes de contaminação em águas de poços e sua influência na metahemoglobinemia infantil. **São Paulo, 1996. [Dissertação de Mestrado- Curso de Pós Graduação em Saneamento Ambiental, Universidade Mackenzie].**
14. Organização Mundial da Saúde. **Environmental Health Criteria 5: Nitratos, nitritos e compostos N-nitrosos**. Geneva, OMS, 1978. 107 p.
15. Pereira, L. A. S. Questões do dia-a-dia : Quais as implicações da ingestão de flúor durante a gestação, especificamente na cidade de São Paulo, que já fluoreta sua água? *Revista APCD* , 54(5): 408, 2000.
16. Puertas, P.G. Aspectos toxicológicos de las aguas. *Anal. Bromat.* XLIII – 2/3: 239-255, 1991.
17. São Paulo (Estado), Decreto nº 12486, de 20-10-78. NTA 60 – Águas de consumo alimentar. In: **Legislação: água para o consumo humano, potabilidade, fluoretação**. CETESB, São Paulo, 1994. p.51-52.
18. São Paulo. Leis, decretos, etc. Resolução SS-45 de 31 de janeiro de 1992 . Institui o programa de vigilância da qualidade da água para o consumo humano – Pró – Água e aprova diretrizes para a sua implantação no âmbito da Secretaria da Saúde. *Diário Oficial*, 01 de fevereiro de 1992, seção 1, p.27.
19. São Paulo. Leis, decretos, etc. Resolução SS/SMA-4 de 27 de maio de 1992. Dispõe sobre o teor mínimo de cloro residual livre na rede de abastecimento de água. *Diário Oficial*, 25 de junho de 1992, seção 1, p.46..
20. São Paulo. Leis, decretos, etc. Resolução SS 250 de 15 de agosto de 1995. Define teores de concentração de íon fluoreto nas águas para consumo humano, fornecidas por sistemas públicos de abastecimento. *Diário Oficial*, 15 de agosto de 1995, seção 1, p.11.
21. São Paulo. Leis, decretos, etc. Resolução SS-293 de 25 de outubro de 1996. Estabelece os procedimentos do Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano no Estado de São Paulo e dá outras providências. *Diário Oficial*, 25 de outubro de 1996.
22. Silva, S.R. Novos avanços em saúde bucal coletiva. *Revista APCD*, 54(6): 429-440, 2000.
23. Tominaga, M.Y.; Mídio, A.F. Exposição humana a trihalometanos presentes na água tratada. *Rev. Saúde Pública*, 33(4): 413-421, 1999.
24. Universidade Federal do Paraná. **Apostila Controle de Qualidade de Água** . Paraná, 1983.
25. Wang,R.G.M. **Water contamination and health**. New York , Marcel Dekker, 1994.
26. Wurzelmann,P.G. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 5:503, 1996.

Recebido em 08/05/2002 ; Aprovado em 01/10/2002

Pesquisa de *Cryptosporidium sp* em águas de fontes naturais e comparação com análises bacteriológicas.

Research on *Cryptosporidium sp* in water from natural springs and comparison with bacteriological analysis.

Aparecida H. de S. GOMES¹ *
Marina A. S. R. PACHECO²
Yara S. K. FONSECA²
Noemi . P. A. CESAR¹
Heloisa G. G. DIAS²
Rosana P. da SILVA²

RIALA6/919

Gomes, A. H. de S et al. Pesquisa de *Cryptosporidium sp* em águas de fontes naturais e comparação com análises bacteriológicas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):59-63, 2002

RESUMO: Estudos para verificar a ocorrência, epidemiologia e fatores de risco associados com surtos de doenças intestinais de veiculação hídrica, tais como as gastroenterites bacterianas e virais vem possibilitando estratégias de vigilância e controle destas infecções. No entanto os surtos causados por agentes parasitários ainda necessitam de maior atenção, a inexistência de metodologia padronizada para detecção em alguns alimentos e águas, dificultam o esclarecimento e conseqüentemente há sub-notificação de casos. Este estudo teve por objetivo demonstrar a presença de agentes bacterianos e parasitários nas águas de sete fontes naturais de utilidade pública localizadas nos municípios de Sorocaba e Votorantim - Estado de São Paulo, analisar fatores ambientais e as condições de manutenção das fontes. Para a pesquisa parasitológica foram utilizadas diferentes técnicas de concentração; o sedimento examinado em microscopia óptica, esfregaços corados pela Auramina e Kinyoun observados em objetiva de imersão. No exame bacteriológico utilizou-se os métodos de referência “Standart Methods for the examination of water and wastewater” e “Compendium of methods for the microbiological examination of foods”. No exame bacteriológico todas as amostras apresentaram contaminação por coliformes totais e seis por coliformes fecais. No exame parasitológico 3 amostras apresentaram larvas de diferentes morfologias, sendo que uma delas apresentou oocistos de *Cryptosporidium sp*, ovos pertencentes a superfamília *Oxyuroidea* e cistos de *Endolimax nana*. Outra amostra apresentou formas císticas de amebídeos. Todas as fontes estudadas apresentavam condições precárias de manutenção.

PALAVRAS-CHAVE. *Cryptosporidium sp*, águas de fontes naturais, análises bacteriológicas.

Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Regional de Sorocaba
Seção de Biologia Médica – ¹ área de Parasitologia. ² Microbiologia Alimentar

* Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Regional de Sorocaba – Seção de Biologia Médica – área de Parasitologia - Av. Comendador Pereira Inácio, 105 – CEP -18.300-000 – Sorocaba - SP. - e-mail: asgomes.sor@terra.com.br

O protozoário do gênero *Cryptosporidium* foi descrito em 1907 por E.E.TIZZER encontrado parasitando glândulas gástricas de camundongos e denominado *Cryptosporidium muris*²⁰.

Diferentes espécies foram isoladas de diversos hospedeiros tais como suínos, répteis, aves, felídeos, bovinos, eqüinos e humanos^{2, 3, 5, 6}.

A criptosporidiose pode acometer pessoas em seu estado imunológico competente, apresentando quadros de moderada ou nenhuma gravidade, formas assintomáticas ou distúrbios gastrointestinais de curta duração evoluindo espontaneamente para cura. Entretanto em pessoas com o sistema imunológico comprometido, portadores de AIDS, transplantados, doentes auto-imunes, pacientes em tratamento do câncer, provoca sintomas agudos, incluindo diarreia, dores abdominais, náuseas, vômitos, febre, mal estar, problemas respiratórios e infecção persistente, de longa duração, na maioria dos casos de difícil tratamento, podendo levar o paciente à morte^{4, 5}.

A criptosporidiose, considerada uma zoonose, hoje apresenta novo conceito, sendo enquadrada também como uma antropozoonose, devido à descoberta de diferentes genótipos de *C. parvum* em pacientes HIV positivos (genótipo antropozoonótico 1 e genótipo zoonótico 2) onde a transmissão do genótipo 1 ocorre somente de pessoa a pessoa.²³ Os alimentos e água contaminados com oocistos são veículos de transmissão, considerando as condições de saneamento ambiental e a falta de hábitos de higiene^{7, 8, 9}.

As espécies de *Cryptosporidium* possuem características morfológicas semelhantes, entretanto algumas apresentam variação em relação ao diâmetro dos oocistos, permitindo sua diferenciação. Técnicas de maior complexidade devem ser utilizadas para identificação de espécies e subespécies de *Cryptosporidium*. Isto permite melhor compreensão sobre sua epidemiologia.^{2, 3}

Fatores ambientais e geográficos contribuem para que os oocistos de *Cryptosporidium* contaminem águas de nascentes, rios e alimentos (verduras e frutas) lavados ou irrigados pelas mesmas^{7, 9, 12, 25, 27}.

Inúmeros estudos tem sido direcionados para verificar ocorrência, epidemiologia, fatores de risco e associação com surtos das doenças intestinais de veiculação hídrica, as gastroenterites bacterianas (salmonelose e shigelose), parasitárias (criptosporidiose, giardíase e amebíase) e virais^{8, 9, 12, 13, 15, 17, 21, 24, 25, 28}.

Em países onde ocorreram surtos de diarreia, causados por *Giardia* e *Cryptosporidium*, a análise parasitológica da água vem sendo utilizada como um dos critérios para determinar sua potabilidade^{7, 8, 9}. A diversidade de métodos e a complexidade das técnicas para detecção destes parasitas na água têm dificultado e criado muita polêmica entre os estudiosos. Atualmente parece ter-se chegado a um consenso, os resultados obtidos apenas com um único método pode não confirmar a presença de parasita, havendo necessidade de recorrer a outros métodos confirmatórios²⁹.

Este estudo teve os objetivos: 1- verificar a presença de agentes microbianos (coliformes fecais) e parasitários (em especial

do gênero *Cryptosporidium*) nas águas não tratadas de fontes naturais. 2- Comparar e avaliar os resultados bacteriológicos e parasitológicos. 3 – Fornecer subsídios para o serviço de tratamento de águas brutas, indicando e avaliando sua eficácia.

As análises foram realizadas em 7 fontes de água bruta em locais públicos, no período de março a junho de 1996; duas fontes no município de Sorocaba-SP (fonte 1-S e 2-S) e cinco fontes no município de Votorantim - SP (1-V, 2-V, 3-V, 4-V e 5-V).

Para o exame bacteriológico da água foi utilizado o método da membrana filtrante, preconizado pelo “Standart Methods for the Examination of water and wastewater”, para pesquisa de bactérias do grupo coliformes, coliformes de origem fecal e *Salmonella sp*¹⁰.

Para a pesquisa de coliformes totais e fecais foram filtrados 100 ml de cada amostra e para pesquisa de *Salmonella sp*, 3.000 ml da amostra em membranas filtrantes 0,45 mm, estéreis, 47 mm de diâmetro. Após filtração, as membranas foram colocadas em meios específicos para posterior isolamento e identificação das bactérias, segundo metodologia oficial²².

Para a pesquisa de *Salmonella sp* foram utilizadas várias membranas para uma mesma amostra, as quais foram colocadas em caldo pré enriquecido e encubadas a 35° C por 24 horas, segundo metodologia descrita pelo “Compendium of methods for the microbiological examination of foods”^{1, 11}.

A inexistência de metodologia padronizada e as dificuldades encontradas na execução das técnicas recomendadas para análise parasitológica da água^{10, 13}, devido à indisponibilidade de equipamentos, necessidade de grande volume de água e de técnicas alternativas para confirmação, foram feitas algumas adaptações^{1, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 24, 25}.

Para efetuar as coletas das águas, utilizou-se dois procedimentos:

PROCEDIMENTOS

- a) Foram confeccionados e esterilizados sete absorventes, cada um formado por 10 dobras de gaze, de 9,1 cm de largura x 30 cm de comprimento,
- b) Para cada fonte foi determinada a vazão, usando como referência o tempo gasto para encher um galão de 10 litros.
- c) Cada absorvente foi amarrado junto ao cano de saída de água, de maneira que toda água passasse por ele. O tempo de permanência do absorvente na saída da fonte foi determinado de maneira que passassem por ele no mínimo 720 litros e no máximo 1.800 litros.
- d) Os absorventes foram recolhidos em frascos estéreis de vidro, identificados separadamente por fonte e encaminhados ao laboratório.
- e) Foram desfeitas as camadas do absorvente e lavadas individualmente em 1.000 ml de solução (Tween 80 diluído 1/100).
- f) A água resultante da lavagem foi colocada em cálices para sedimentação, por um período de no mínimo 3 e no máximo 12 horas.

- g) Os sedimentos foram armazenados em frascos identificados com o nome da fonte coletada.

PROCEDIMENTO II

- a) Foram coletados 10 litros de água em cada fonte, acondicionados em galão de polietileno novo e limpo.
b) Os dez litros foram passados em membrana filtrante – Membrana HÁ Ester de celulose, 0,45 µm de poro, 47 mm de diâmetro, branca e lisa; a membrana foi trocada quando se encontrava saturada; estas foram colocadas em frasco de vidro de boca larga com tampa rosqueada, contendo 200 ml de Tween 80 diluído 1/100, agitados manualmente para desprender o sedimento.
c) O caldo resultante das lavagens das membranas foram centrifugados durante 20 minutos a 1.500 rpm em tubos cônicos de plásticos (50ml) com tampa rosqueada . Foi desprezado o sobrenadante e o sedimento foi armazenado como no procedimento I etapa (g).

Uma parte do sedimento foi submetida à técnica de exame direto com e sem lugol e outra ao sistema de concentração pelo sistema folmol éter modificado e confecção de esfregaço, corado primeiramente pela Auramina, observado em microscopia de fluorescência com aumento de 400X e posteriormente corado pelo Kinyoum, observado em microscopia óptica comum com objetiva de imersão.

Os resultados são apresentados na tabela 1.

Os resultados bacteriológicos demonstraram a contaminação de coliformes totais em todas as amostras analisadas. O isolamento de coliformes fecais foi obtido nas amostras provenientes das fontes 2S, 1V, 2V, 3V, 4V e 5V.

Os resultados obtidos no exame parasitológico foram negativos nas fontes 1S, 1V e 4V; para ambos procedimentos. Presença de larvas de diferentes morfologias nas fontes 2S, 3V e 5V; formas císticas de amebídeos na fonte 2V; presença de ovos da superfamília *Oxyuroidea*, cistos de *Endolimax nana* e oocistos de *Cryptosporidium sp* na amostra da fonte 3V. O procedimento I foi mais promissor que os do procedimento II, pois a quantidade de água passada pelo absorvente foi fundamental pois aumentou as chances de reter juntamente com os resíduos, cistos, oocistos, larvas e ovos.

As fontes se encontravam em diferentes localizações, mas fatores comuns foram observados: a proximidade com vegetação, com encostas de barrancos e presença de animais diversos (cavalos, cães, aves, etc.); condições precárias de proteção, manutenção, limpeza do local, alvenaria de sustentação dos canos e saída de água, com exceção da fonte 1-S que apresentava condições melhores, mas não adequadas.

A presença de coliformes totais, nematóides e protozoários na água, necessariamente não indicam a relação com espécies encontradas em humanos, podem fazer parte do ciclo de decomposição dos solos e foram arrastados até as nascentes de água. Entretanto, algumas observações devem ser consideradas, a semelhança que existe entre a morfologia dos ovos, larvas, cistos e oocistos encontrados em humanos e

em outros animais, ovos de Ancilostomídeos, *Enterobius* e *Ascaris*, larvas de *Strongyloides*, cistos de amebídeos e *Giardia* ou oocistos de *Cryptosporidium*. As condições precárias de preservação e manutenção das nascentes de água; sua trajetória até a bica onde a população local se serve e o fato de que alguns parasitos, antes descritos somente em animais ou que raramente causavam infecção em humanos como *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis* e outros, hoje emergem, sendo agentes causadores de surtos de diarreia. Isto leva a uma reflexão sobre novos conceitos de agentes saprófitas e patógenos, sobretudo do rompimento do equilíbrio entre simbioses.

Os regulamentos que dispõem sobre normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas, saneamento ambiental e preservação da saúde, são aprovados através de portarias do Ministério da Saúde; tem por objetivo fazer com que os órgãos (Secretárias de Saúde e do Meio Ambiente dos Estados, do Distrito Federal e dos municípios), promovam e acompanhem as adequações necessárias a seu cumprimento. As Vigilâncias Epidemiológica e Sanitária são ferramentas fundamentais neste sistema, pois estabelecem diretrizes e executam planos de ações para monitorar os níveis de contaminação e conseqüentemente os fatores de risco para a ocorrência de doenças associadas a alimentos e água.

Muitos pesquisadores ao estudarem técnicas para detecção desses agentes, conseguiram demonstrar a resistência de alguns parasitos ao hipoclorito de sódio e a outros agentes químicos e radioativos, hoje empregados nas estações de tratamento de água, demonstrando a ineficácia destes agentes sobre *Giardia* e *Cryptosporidium*, revelando situações de descontrole e insegurança .

As medidas de controle das doenças de veiculação hídrica estão diretamente ligadas à preservação e manutenção dos mananciais hídricos, ao saneamento básico e principalmente à educação para a saúde. Há necessidade de recursos financeiros, destinados à aquisição de tecnologias de ponta, pesquisa de investigação, tratamento da água e avaliação da sua eficácia, capacitação de equipes multiprofissionais para atuarem nos planejamentos e ação -estratégicas de saúde.

Este estudo, realizado com técnicas de baixa sensibilidade nos métodos parasitológicos, obteve resultados importantes que evidenciaram a contaminação ambiental nos locais estudados e contribuiu para as ações da Vigilância Epidemiológica e Sanitária do município de Votorantim e Sorocaba.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os funcionários que auxiliaram nas coletas e na execução das análises da água.

Funcionários do IAL – Sorocaba: Izabel Madornado Armelin; Salvador Antonio Cano; Vera Lúcia Palhares Cândido e Funcionários da Vigilância Sanitária / Epidemiológica de Votorantim – SP.

Tabela 1. Distribuição dos resultados bacteriológicos e parasitológicos segundo fonte de água natural.

FONTE	RESULTADOS BACTERIOLÓGICOS		RESULTADOS PARASITOLÓGICOS
	Coliformes totais	Coliformes fecais	
1-S	<i>Enterobacter sp</i> <i>Citrobacter sp</i>	Negativa	Negativo
2-S	<i>Enterobacter sp</i> <i>Citrobacter sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	Larvas de diferentes morfologias
1-V	<i>Enterobacter sp</i> <i>Citrobacter sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	Negativo
2-V	<i>Proteus sp</i> <i>Klebsiella sp</i> <i>Proteus sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	Formas císticas de amebídeos
3-V	<i>Enterobacter sp</i> <i>Citrobacter sp</i> <i>Klebsiella sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	Ovos da superfamília <i>Oxyuroidea</i> Cistos <i>Endolimax nana</i> Larvas de diferentes morfologias Oocistos de <i>Cryptosporidium sp</i>
4-V	<i>Enterobacter sp</i> <i>Citrobacter sp</i> <i>Klebsiella sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	Negativo
5-V	<i>Enterobacter sp</i> <i>Citrobacter sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	Larvas de diferentes morfologias

Todas amostras apresentaram- se negativas para pesquisa de *Salmonella sp*

RIALA6/918

Gomes, A. H. de S et al Research on *Cryptosporidium sp* in water from natural springs and comparison with bacteriological analysis.. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):59-63, 2002

ABSTRAT. Studies that are accomplished to check the occurrence, epidemiology and risk factors to outbreaks of intestine diseases of hydric transmission such as the bacterial and viral gastroenteritis have made it possible to use strategies and control of these infections. However, the outbreaks caused by parasitic agents still need more attentions. The lack of standard methodology to detect them in different foods and water makes it difficult to clarify and, as a consequence, to subnotify the cases that have occurred. This study aimed to demonstrate the presence of bacterial and parasitic agents in seven water from natural springs of public utility located in Sorocaba and Votorantim cities – São Paulo state, analyzing environmental factors and source maintenance conditions. For the parasitological research were used different techniques of concentration: sediment was observed by optical microscopy; smears were prepared and stained by auramina and Kinyoun and were examined with oil immersion objective. The bacteriological methods were used the “Standart Methods for the examination of water and wastewater” and “Compendium of methods for the microbiological examination of foods”. The bacteriologic results showed the contamination of total coliforms in all samples, the presence of fecal coliforms was in 6 samples. The parasitologic results showed presence of larvae from different morphologies in 3 samples, one of them showed *Cryptosporidium sp.* oocysts, *Endolimax nana* cysts and *oxyuroidea* eggs. Another sample showed amoeboid cysts. All the sources showed precarious conditions of maintenance.

KEY WORDS. *Cryptosporidium sp*, water from natural springs, bacteriologic analysis.

REFERÊNCIAS:

1. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. vol. 3, 1.972
2. Balatbat, A. B. et al. Detection of *Cryptosporidium parvum* DNA in human feces by nested PCR. **J.Clin. Microbiol.**, 34(7): 1769-1772, 1996.
3. Baker, J.; Muller, R.; Rollinson, D. Opportunistic protozoa in humans. **Advances in Parasitology**. San Diego, Academic press, 1998. v. 40.
4. Baraldi, S. R.; Marque, E. G. L.; Dias, R. M. D. S. Ocorrência de *Cryptosporidium parvum* e *Isoospora belli* na região de Campinas, SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 58 (1): 97-103, 1999.
5. Carli, G. A. De.; Saraiva, P.J. Diagnóstico de laboratório da criptosporidiose humana. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, 23(2): 26-30, 1991.
6. Cimerman, S.; Cimerman, B.; Lewi, D. S. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. **Int. J. Infect Dis.**, 3(4): 203-6, 1999.
7. Czaczyk, T.K. et al. Environmental and geographical factors contributing to watershed contamination with *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Environ res**, 82(3): 263-71, 2000.
8. Deng, M. Q.; Cliver, D. O. Comparative detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts from apple juice. **Int. J. Food Microbiol**, 54(3): 155-62, 2000.
9. Dolej, S. P. et al. Monitoring of *Cryptosporidium* and *Giardia* in Czech drinking water sources. **Schriftenr. Rev. Wasser Boden Lufthyg.**, 105: 147-51, 2000.
10. Eaton, A. D.; Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**, 19th ed., 1995. 9711 A, 9711 B, 9711 C, 10200 C – 9-109 –117.
11. Edwards, P. R.; Ewing, W. H. **Identification of enterobacteriaceae**, 3rd ed., Minneapolis, Burges publ., 1978. p. 338
12. Fayer, R. et al. Waterborne and foodborne parasites. **Food safety: Foodborne illness**, 42: 789-808, 1998.
13. Gallaher, M. M. et al. *Cryptosporidium* and surface water. **A. J. P.H January**, vol.79, n° 1, 1989.
14. Guerrant, D. L. Cryptosporidiosis: An emmerging, highly infectious threat. **Emmerging Infect Dis.**, 3(1), 1997.
15. Gelli, D. S. et al. Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, S.P., Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 39(1): 37-43, 1979.
16. Ignatius, R. et al. Efficacy of different methods for detections of low *Cryptosporidium parvum* oocyst numbers or antigen concentrations in stool specimens. **Eur. J. Clin. Microbiol Infect Dis**, 16(10): 732-6, 1997.
17. Kaku, M et al. Surto alimentar por *Salmonella enteritidis* no Noroeste do Estado de São Paulo. **Brasil. Rev. Saúde Pública**, 29 (2): 127-31, 1995.
18. Kehl, K. S.; Cicirello, H.; Havens, P. L. Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species. **J. Clin. Microbiol**, 33(2): 416-8, 1999.
19. Llinares, F. J. B. et al. Identifications of *Cryptosporidium felis* in a cow by morphologic and molecular methods. **Applied and Environmental Microbiology**, Apr.1999, p1455-1458.
20. Neves, D. P. **Parasitologia Humana**, 8ª ed., Rio de Janeiro, ed. Atheneu, 1991. Cap. 17, p. 177-82.
21. Ooi, P. L. et al. A shipyard outbreak of salmonellosis traced to contaminated fruits and vegetables. **Ann Acad Med. Singapore**, 26 (5): 539 – 43, 1997.
22. Pessoa, G. V. A.; Silva, E. A. M. Milieu pour l'identification presomptive rapide des enterobacteries, des Aeromonas e des Vibrions. **Ann. Microbiol., Paris**, Seccion A 125: 341-7, 1994.
23. Pieniazek, N. J. et al. New *Cryptosporidium* genotypes in HIV – infected persons. **Emerging infectious Diseases**, 5: 444-449, 1999.
24. Ryan, M. J. et al. Risk factors for outbreaks of infectious intestinal disease linked to domestic catering. **Rev. Commun. Dis.Rep. CDR**, 6 (13): R 179-83, 1996.
25. Silva, J. P. et al. Estudo da contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nos supermercados da cidade do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**; 28(3): 273-41, 1995.
26. Spano, F. et al. Multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates from different hosts and geographical origins. **J. Clin. Microbiol.**, 36: 3255-3259.
27. Tapia De Daza, M. S.; Diaz, R. V. Consideraciones ecologicas y de inocuidade alimentaria en productos de origen vegetal. **Arch latinoam. Nutri**, 44(4): 232-41, 1994.
28. Tymenestsky, M. C. S. T. et al. Rotavírus, adenovírus, astrovírus, calicevírus e “small round virus particles” em fezes de crianças com e sem diarreia aguda, no período de 1987 a 1988, na grande São Paulo. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, 35(3): 275-280, 1993.
29. Widmer, G. Genetic heterogeneity and PCR detection of *Cryptosporidium parvum*. **Adv. Parasitol.**, 40: 223-39, 1998.

Recebido em 04/04/2001; Aprovado em 01/08/2002.

Estudo comparativo da concentração de laminina no soro e na ascite de pacientes com carcinomatose peritoneal, cirrose hepática e hepatocarcinoma

Catarino, R. M. **Estudo comparativo da concentração de laminina no soro e na ascite de pacientes com carcinomatose peritoneal, cirrose hepática e hepatocarcinoma.** São Paulo, 1999. [Tese de Doutorado - Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina].

Elevações dos níveis séricos de laminina, uma glicoproteína da membrana basal, têm sido relatados em portadores de cirrose hepática e neoplasias de diversas origens. A concentração dessa proteína na ascite desses pacientes ainda não é conhecida.

A concentração de laminina no soro e no líquido de ascítico, foi determinada por ensaio imunoenzimático (ELISA) com anticorpos obtidos de coelhos contra laminina isolada de placenta humana. O método demonstrou excelente sensibilidade e reprodutibilidade.

A média dos valores de laminina no soro de um grupo de referência de 25 indivíduos sadios foi $0,183 \pm 0,06$ $\mu\text{g/mL}$ (média \pm desvio padrão) significativamente menor que valores observados em 33 portadores de cirrose com ascite ($2,1 \pm 0,4$ $\mu\text{g/mL}$), 9 paciente com hepatocarcinoma ($1,9 \pm 0,1$ $\mu\text{g/mL}$) e 20 pacientes com carcinomatose peritoneal ($3,3 \pm 0,5$ $\mu\text{g/mL}$). A média desse último grupo de pacientes foi estatisticamente superior às médias observadas para os grupos com cirrose e hepatocarcinoma, que não diferiam entre si.

A média da concentração de laminina na ascite do grupo com carcinomatose peritoneal ($2,8 \pm 0,5$ $\mu\text{g/mL}$) foi significativamente maior que a observada nas ascites dos grupos cirrose hepática ($1,6 \pm 0,4$ $\mu\text{g/mL}$) e hepatocarcinoma ($1,4 \pm 0,3$ $\mu\text{g/mL}$), não havendo diferença significativa entre esses dois últimos grupos.

Esses resultados indicam que a presença de hepatocarcinoma, não altera os níveis de laminina observados na cirrose hepática descompensada em ascite.

A relação e o gradiente entre laminina no soro e na ascite não diferiram entre os grupos estudados.

Os valores séricos da laminina foram sempre superiores aos valores na ascite, havendo correlação altamente significativa entre os valores dessas determinações ($r=0,93$, $p<0,001$), demonstrando que sua concentração na ascite está mais diretamente relacionada à sua concentração sérica, do que à produção peritoneal.

Os valores de laminina no sangue e na ascite dos pacientes com carcinomatose peritoneal e com cirrose hepática foram comparados com as determinações do gradiente de albumina soro-ascite e da concentração de albumina, proteínas totais, DHL, colesterol e fibronectina no líquido ascítico.

A análise da capacidade discriminativa destes testes demonstrou que a determinação do colesterol (94%), do DHL (92%) foram os testes de melhor acurácia diagnóstica, enquanto a dosagem de laminina no sangue e na ascite (com acurácia de 91% e 89%) foram os testes que apresentaram maior especificidade (100%) e valor preditivo positivo (100%). Assim, a dosagem da laminina sérica pode ser considerada um novo parâmetro diagnóstico no estudo da ascite neoplásica.

*Tese disponível na biblioteca Bireme - UNIFESP-EPM

Saturação "in vivo" da glutatona redutase e da aspartato aminotransferase por suas coenzimas

Oshiro, M. **Saturação "in vivo" da glutatona redutase e da aspartato aminotransferase por suas coenzimas.** São Paulo, 2001 [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].

A determinação da atividade da glutatona redutase e da aspartato aminotransferase eritrocitária, na ausência e na presença das coenzimas flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e piridoxal-5-fosfato (PLP) respectivamente, avalia o grau de saturação fisiológica destas enzimas por essas coenzimas. É comprovada a eficiência deste grau de saturação na avaliação do estado nutricional das vitaminas B2 e B6, uma vez que a FAD

origina-se da vitamina B2 e a PLP da vitamina B6. Visto que, fisiologicamente a saturação dessas enzimas é parcial, a administração oral dessas vitaminas em doses elevadas em indivíduos normais, poderia levar à total saturação. Assim, esta hipótese foi o objetivo deste estudo. Foram estudados voluntários considerados normais, que ingeriram por 20 dias consecutivos 20mg de riboflavina e 30mg de piridoxina, e após

180 dias ingeriram 50mg de riboflavina e 200mg de piridoxina por mais 20 dias consecutivos. As determinações das atividades enzimáticas foram realizadas antes e após ingestão das vitaminas, com e sem adição das respectivas coenzimas no sistema reagente. A saturação total "in vivo" não foi observada em nenhuma das dosagens vitamínicas. O maior grau de saturação

da GR foi de 86,84%, após a ingestão de 50mg/dia de riboflavina, e da AST foi de 93% após ingestão de 200mg/dia de piridoxina. Mesmo no experimento "in vitro", no qual foi verificada a captação e a metabolização das vitaminas pelo eritrócitos após 24 horas de incubação, a saturação total das enzimas não foi observada.

* Tese disponível na biblioteca do Instituto Adolfo Lutz.

Depuração de ostra (*Crassostrea brasiliana*) contaminada artificialmente com *Vibrio cholerae* O1, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *Salmonella* Enteritidis.

Lopes, G. I. S. L.. Depuração de ostra (*Crassostrea brasiliana*) contaminada artificialmente com *Vibrio cholerae* O1, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *Salmonella* Enteritidis. São Paulo - S.P.; 2001. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP].

As ostras, moluscos bivalves, que se alimentam por filtração são importantes veículos de microrganismos patogênicos como *Vibrio* spp., *Salmonella* spp., vírus e outros. Entre os diversos processos atualmente empregados para a sua purificação são citados o "relaying" e a depuração. Este último pode ser realizado usando água clorada, ou tratada com luz UV ou com ozônio. Esta pesquisa teve como objetivo determinar o melhor tempo, em 24 horas, necessário para a depuração utilizando água do mar ozonizada para reduzir, para níveis não detectáveis, populações de *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio*

parahaemolyticus, *V. vulnificus* e *Salmonella* Enteritidis, incorporadas por ostras (*Crassostrea brasiliana*). A água do mar foi ozonizada utilizando o aparelho comercial Ozontec. As ostras foram colocadas em aquário de vidro contendo água do mar e procedia-se às determinações do Número Mais Provável de *V. cholerae* O1, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *Salmonella* Enteritidis. Os resultados obtidos demonstraram que o período de 24 horas não é suficiente para reduzir a população bacteriana para níveis não detectáveis, o que torna o consumo de ostras cruas um perigo à saúde do consumidor.

* Tese disponível na biblioteca do Conjunto das Químicas /USP Faculdade de Ciências Farmacêuticas e na biblioteca do Instituto Adolfo Lutz.

Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Polygonum persicaria* L.

Yano, H.M. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Polygonum persicaria* L. São Paulo 1999. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo]

Polygonum persicaria L., pertencente à família Polygonaceae, é conhecida popularmente como erva-de-bicho, bem como muitas outras espécies do gênero *Polygonum*. Trata-se de uma planta cosmopolita, comum na região de São Paulo, utilizada na medicina caseira como anti-hemorroidal, adstringente e antiúlcera, entre outros. O presente trabalho

objetiva contribuir com a análise farmacognóstica da droga, com o delineamento do perfil químico e com a verificação de algumas atividades farmacológicas. Dentre as principais características macroscópicas encontradas na droga podemos citar: folhas apresentando coloração verde escuro em ambas as faces, algumas adquirindo coloração castanho-avermelhado,

ápice acuminado, base simétrica, margem inteira e nervação penínérvea. O caule fistuloso, apresenta tonalidade avermelhada e ócrea na região dos nós. Na análise anatômica da folha observa-se mesofilo dorsiventral. Drusas de oxalato de cálcio são freqüentes. A epiderme mostra uma camada de células aproximadamente retangulares, alongadas no sentido tangencial, sendo que algumas da face adaxial apresentam-se globosas, lembrando a forma de lâmpadas incandescentes. Em vista frontal as células epidérmicas apresentam-se sinuosas principalmente na face abaxial. Estômatos ladeados por 2 a 5 células anexas, tricomas tectores pluricelulares e tricomas glandulares estão presentes em ambas as faces. O caule apresenta células epidérmicas de contorno retangular alongadas no sentido tangencial, colênquima angular, feixe vascular colateral, grãos de amido e drusas em abundância principalmente na região medular. A triagem fitoquímica do pó das partes aéreas da planta revelou presença de flavonóides, taninos, saponinas e mucilagens e óleo essencial. No perfil

cromatográfico do extrato hidroalcoólico da droga foram detectadas manchas coincidentes com os padrões rutina e quercetina. O extrato bruto das partes aéreas da droga (200mg/kg, i.p.) mostrou uma diminuição significativa nos parâmetros comportamentais (locomoção e levantar) e aumento de tempo de parado na atividade geral de ratos avaliados em campo aberto. O extrato não apresentou atividade antiinflamatória após indução de edema de pata por carragenina (100, 200 e 400 mg/kg) pela via oral, mas ação significativa pela via intraperitoneal até a quarta hora, nas três doses citadas. O mesmo não apresentou atividade antiúlcera gástrica induzida por ácido clorídrico/etanol (400 mg/kg, v.o.) em ratos. O extrato (0,1-1,0 mg/mL) não apresentou atividade antimicrobiana, pela técnica de diluição em meio líquido, testado nos microorganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Aspergillus niger* (ATCC 16404).

*Tese disponível na biblioteca do Instituto Adolfo Lutz e do Instituto de Química da USP.
e-mail: heleyano@ig.com.br

Produção Gráfica, Impressão e Acabamento:

WINNER
Graph

(011) 5584-5753
wg.editora@uol.com.br

ISSN 0073-9855



9 770073 985009