

ISSN (impresso) 1984-235X  
ISSN (on line) 1984-2368

# Boletim do Instituto Adolfo Lutz

Bol Inst Adolfo Lutz. 2015: ano 25, n. 1, p.1-26



# Boletim do INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Bol Inst Adolfo Lutz. 2015: ano 25, n. 1, p.1-26

## **Diretor-Geral do Instituto Adolfo Lutz**

Dr. Helio Henl Caiaffa Filho

## **Coordenadora**

Maria Anita Scorsafava

## **Membros do Corpo Editorial**

Cristina Takami Kanamura

Adriana Aparecida Buzzo Almodovar

Pedro Luiz Silva Pinto

Sergio Dovidauskas

Marcia de Souza Carvalho Melhem

## **Diagramação**

Claudia Cristiane de Araujo

## **Editoração**

Pedro Luiz Silva Pinto

Claudia Cristiane de Araujo

## **Núcleo de Acervo do IAL**

Rocely A. Bueno Moita

ISSN (impresso) 1984-235X

ISSN (on line) 1984-2368

---

## **Carta ao Editor**

Avenida Dr. Arnaldo, 355

Cerqueira César – CEP 01246-902

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

São Paulo, SP – Brasil

Telefone: (0XX11) 3068-2869

Núcleo de Acervo

## **EDITORIAL**

É com grande satisfação que levamos a todos os profissionais que atuam nas diferentes áreas do Instituto Adolfo Lutz a edição Nº 25, primeiro fascículo, ano 2015, do Boletim do Instituto Adolfo Lutz (BIAL). Ao longo dos anos, esse veículo de divulgação técnico-científica vem sendo aperfeiçoado com o propósito de alcançar maior visibilidade no âmbito institucional e em outras instituições afins. Neste sentido, destacamos a atribuição em 2008 do ISSN impresso e on-line. Passados sete anos desta iniciativa, faz-se necessária uma nova reformulação. Assim, a partir de 2015, o BIAL passa a ser eletrônico, agregando maior agilidade a divulgação das informações e garantindo facilidade de acesso a seus autores e leitores. O BIAL estará disponível em edição completa ou em artigos individuais, no formato PDF, através do site do IAL: [www.ial.sp.gov.br](http://www.ial.sp.gov.br)

*O homem erudito é um descobridor de fatos que já existem  
mas o homem sábio é um criador de valores que não existem e  
que ele faz existir.*

*No meio da confusão, encontre a simplicidade. A partir da  
discórdia, encontre a harmonia. No meio da dificuldade reside  
a oportunidade.*

*A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu  
tamanho original.*

**Albert Einstein**

# Sumário

04	Investigação laboratorial de surto de toxinfecção alimentar
07	Desafios na Criopreservação de Leveduras
09	Preparo de DNA para reação de sequenciamento: comparação entre duas técnicas
12	Nitrato e nitrito em água mineral envasada comercializada na cidade de São Paulo
15	Avaliação da qualidade de diferentes marcas de álcool gel comercializadas na cidade de São Paulo.
17	Um olhar sobre o fluoreto em água mineral envasada
20	Frequência dos diagnósticos citopatológicos cérvico-vaginais detectados no Núcleo de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz nos anos de 2012 e 2013
24	Comparação de método titulométrico oficial com método titulométrico automático na determinação do cloro ativo presente nas águas sanitárias e hipocloritos



---

# Investigação laboratorial de surto de toxinfecção alimentar

---

Alzira Maria Morato BERGAMINI<sup>1</sup>, Silvia Helena Chinarelli RECHE<sup>1</sup>, Alcina Maria LISERRE<sup>2</sup>, Maria Aparecida de OLIVEIRA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas-Centro de Laboratório Regional Ribeirão Preto-Instituto Adolfo Lutz

<sup>2</sup>Núcleo de Microbiologia-Centro de Alimentos-Instituto Adolfo Lutz

---

A qualidade dos alimentos é uma das condições essenciais para a promoção e manutenção da saúde do consumidor. No entanto, as doenças transmitidas por alimentos e água (DTA) continuam ocorrendo, e é um trabalho desafiador, tanto para as Vigilâncias Sanitária e Epidemiológica, quanto para um Laboratório de Saúde Pública, a investigação e a elucidação de um surto de origem alimentar, principalmente, devido à dificuldade na realização do inquérito epidemiológico com os envolvidos e coleta das amostras dos alimentos que foram efetivamente consumidos.

O objetivo deste estudo foi investigar surto de toxinfecção alimentar ocorrido no refeitório de uma Usina de Açúcar e Álcool, localizada na zona rural da região de Ribeirão Preto/SP, onde aproximadamente cem indivíduos foram afetados, apresentando os sintomas de diarreia e dores abdominais. Grande parte destes indivíduos não foi atendida no município onde se deu o surto, pois residem em uma cidade vizinha.

Os alimentos enviados para análise ao laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto – Instituto Adolfo Lutz, foram carnes de porco e de frango, além de outros produtos cárneos como kafta e hambúrguer, servidos em dois dias, e selecionados após a realização de um inquérito epidemiológico. Os métodos analíticos empregados para a determinação

de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, Clostrídios sulfito redutores a 46°C, *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes, foram realizados de acordo com o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods – American Public Health Association (APHA, 2001)*<sup>1</sup>.

A carne de frango apresentou contagem de *Bacillus cereus* acima de 10<sup>5</sup> UFC/g (Tabela 1). A cepa de *Bacillus cereus* isolada mostrou-se potencialmente produtora de enterotoxina (tipo diarreica), tendo sido avaliada com o kit comercial BCET-RPLA TD09050A (Oxoid), conforme Figura 1.

*Salmonella* spp. e Clostrídios sulfito redutores a 46°C não foram isolados nas amostras relacionadas ao surto.

Os indivíduos afetados não concordaram com a coleta de fezes para realização de coproculturas, dados que seriam relevantes na elucidação do surto. Contudo, os resultados obtidos indicaram o micro-organismo *Bacillus cereus* como o provável responsável pelo surto. Altas populações de *B. cereus* indicam o crescimento e multiplicação ativa do micro-organismo sendo considerado um risco potencial à saúde. Faz-se necessária a realização de cursos de educação básica continuada em saúde e higiene alimentar, bem como o desenvolvimento de políticas sociais, econômicas e de saneamento essenciais para a prevenção de DTA.

Alimentos	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)
KAFTA	<0,3	<0,3	<1,0 x 10 <sup>2</sup>	<1,0 x 10 <sup>2</sup>
HAMBURGUER	<0,3	<0,3	<1,0 x 10 <sup>2</sup>	<1,0 x 10 <sup>2</sup>
CARNE DE PORCO	<0,3	<0,3	<1,0 x 10 <sup>2</sup>	<1,0 x 10 <sup>2</sup>
CARNE DE FRANGO	<0,3	<0,3	<1,0 x 10 <sup>2</sup>	>1,0 x 10 <sup>5</sup>

**Tabela 1:** Resultados da análise microbiológica dos alimentos suspeitos de causarem surto de toxinfecção alimentar ocorrido no refeitório de uma Usina de Açúcar e Álcool na região de Ribeirão Preto/SP



**Coluna 1** - controle do látex + cepa *B. cereus*  
(caldo BHI incubado por 18 horas a 36°C e centrifugado)

**Coluna 2** - látex sensibilizado + cepa *B. cereus*  
(caldo BHI incubado por 18 horas a 36°C e centrifugado)

**Coluna 3** - controle do látex + controle da toxina de *B. cereus*

**Coluna 4** - látex sensibilizado + controle da toxina de *B. cereus*

**Figura 1.** BCET (tipo diarreica) - RPLA: *Bacillus cereus* enterotoxin - Reverse Passive Latex Agglutination

---

## REFERÊNCIAS

1. BCET-RPLA Toxin Detection Kit - TD0950A- for the detection of *Bacillus cereus* enterotoxin (diarrhoeal type) in foods and culture filtrates by reversed passive latex agglutination. [acesso 16.01.2015]. Disponível em: [[http://www.biokits.com/productinfo/1728/BCET-RPLA - Toxin-detection-kit.html](http://www.biokits.com/productinfo/1728/BCET-RPLA-Toxin-detection-kit.html)].
2. Downes FP, Ito K. Compendium of methods for microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup>ed. Washington (DC): American Public Health Association (APHA); 2001.

---

# Desafios na Criopreservação de Leveduras

---

Cirlene da Cunha CALDAS; Dulcilena de Matos CASTRO e SILVA

*Núcleo de Micologia-Centro de Parasitologia-Instituto Adolfo Lutz*

---

O reconhecimento da relevância da biodiversidade fúngica para o desenvolvimento da biotecnologia e outras áreas da microbiologia tem conduzido estudos sobre técnicas de conservação dos mais diversos micro-organismos. Contudo, ainda não existe uma fórmula ideal que garanta a eficiência da estocagem e preservação, a longo prazo, de leveduras de interesse médico. Este fato é observado com diversas espécies de fungos que ainda esperam por metodologia padronizada e adequada à sua conservação, fazendo da manutenção um campo de vasto potencial para desenvolvimento de pesquisas tecno-científicas<sup>1</sup>.

Estudos com micro-organismos estocados representam importantes fontes de recursos genéticos para avanço biotecnológico e desenvolvimento econômico sustentável, podendo contribuir com a descoberta de novos fármacos e aplicações para a saúde e meio ambiente, através de estratégias de isolamento e seleção<sup>2</sup>. Devido a emergente importância atribuída à estocagem de amostras biológicas que muitas instituições têm investido na construção de coleções de micro-organismos. A escolha da técnica depende das características dos agentes, das características dos métodos, dos custos de manutenção, da importância do acervo e, principalmente, da disponibilidade de equipamentos<sup>3</sup>.

Após a caracterização fenotípica e/ou genotípica da amostra, recomenda-se a utilização de métodos que garantam a qualidade da mesma a médio e longo prazo, pois após algum tempo o método de preservação pode levar a alterações significativas para como, por exemplo, o pleomorfismo e surgimento de contaminação que são bastante comuns<sup>1</sup>.

A criopreservação, seguida pela liofilização, parece ser o método mais recomendado e viável em laboratório para a manutenção de cepas de leveduras. Outros métodos também podem ser utilizados para este grupo, porém após a recuperação

da cepa esta pode não apresentar as características originais, tais como capacidade de esporulação e patogenicidade<sup>2</sup>. Um dos maiores desafios é realizar o congelamento da amostra sem formação de cristais de gelo no interior das células. A formação de gelo no meio intracelular causa ruptura do sistema de membranas, resultando em perda da permeabilidade e conseqüente morte celular. Para congelar um micro-organismo é necessária uma solução para suspensão e um composto crioprotetor. Os crioprotetores podem penetrar, ou não, no material celular e são capazes de induzir o aumento da osmolaridade do meio externo, prevenindo a formação de cristais de gelo durante o congelamento<sup>4</sup>. O glicerol, além de fácil aquisição e simples manuseio é o criopreservante mais utilizado em banco de cepas mantidas na criopreservação a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Podem ser utilizados para solução de suspensão, ainda, leite desnatado, dimetilsulfóxido (DMSO) ou água destilada. O leite desnatado apresenta baixo custo e boa recuperação dos micro-organismos. O DMSO também é utilizado para congelamento de células, porém, é tóxico para algumas moléculas. A concentração do crioprotetor pode ser influenciada por outros componentes do diluente, pelo padrão de resfriamento, pelos métodos de congelamento e descongelamento<sup>5</sup>. Existe uma perda previsível de cepas mantidas sob criopreservação à  $-20^{\circ}\text{C}$ , relacionada com a utilização de glicerol, ou DMSO, em altas concentrações, devido a efeitos tóxicos e, portanto, deletérios aos micro-organismos, constituindo-se um obstáculo na sobrevivência das estirpes durante o congelamento. A concentração ideal de glicerol deve ser aquela em que há predominância de efeitos protetores sobre efeitos tóxicos<sup>6</sup>.

Para proteger o material celular existem compostos protetores extracelulares, como a lactose e outros carboidratos, que promovem a vitrificação da célula durante o congelamento, tornando a membrana mais plástica, causando menos



desidratação, diminuindo a toxicidade por sais e evitando a formação de cristais. A nível molecular, os carboidratos substituem as moléculas de água na estrutura das proteínas impedindo o colapso celular<sup>2</sup>. Os carboidratos são bastante utilizados e adicionados em meio de cultura com resultados variáveis. O soro e sangue são específicos para algumas moléculas<sup>4</sup>.

No protocolo de liofilização, solução de lactose e aminoácido, glutamato de sódio, tem sido utilizado para suspensão de micro-organismos com resultados de grande viabilidade; essa estratégia tem sido, recentemente, utilizada também para criopreservação de alguns micro-organismos. A utilização de aminoácidos melhora a viabilidade, pois neutraliza as reações entre os grupos amino e carboxila funcionando como um tampão da umidade residual<sup>4</sup>.

Em 2008, Silva *et al.*<sup>4</sup> preconizaram como protocolo de criopreservação para a manutenção de leveduras o caldo BHI como uma solução para nutrição durante as 24 h antes do congelamento, obtendo boa viabilidade das culturas. Em 2012, o Núcleo de Micologia do IAL, criou um novo protocolo em que a levedura não aguardava o tempo de 24 h no flaconete antes de ser congelada, sendo apenas o glicerol a 15% utilizado como solução crioprotetora.

A criopreservação continua sendo a metodologia de escolha para o banco de leveduras deste Núcleo, pois conduz à situação de dormência metabólica e, em consequência, as culturas se mantêm estáveis. Considerando o exposto, em 2014 foi iniciado um protocolo utilizando apenas o leite desnatado com glutamato de sódio para congelamento de leveduras, e avaliaremos futuramente se este procedimento é satisfatório para a manutenção de biobanco de leveduras.

## REFERÊNCIAS

1. Aguiar TDF, Teixeira MFS, Teles CHA, Martins GR, Júnior RQB & Costa EC. Princípios básicos da criomicrobiologia: enfoque nos tipos de micro-organismos e nos principais agentes crioprotetores. *Acta Veterinaria Brasília*. 2012; 6(2); 80-93.
2. Lima DT. Efeito crioprotetor de lactose e glicose em células fúngicas imobilizadas em alginato de sódio como método de preservação de culturas. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) – Faculdade Medicina da Universidade Federal do Ceará; 2011.
3. Paoli P. Biobanking in microbiology: from sample collection to epidemiology, diagnosis and research. *FEMS microbiology reviews*. 2005; 29(5); 897-910.
4. Silva JO, Costa PP & Reche SHC. Manutenção de leveduras por congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ ; Yeasts maintainance for freezing at  $-20^{\circ}\text{C}$ . *Rev. bras. anal. Clin.* 2008; 40(1); 73-74.
5. Fahy GM. The relevance of cryoprotectant “toxicity” to cryobiology. *Cryobiology*. 1986; 23(1); 1-13.
6. Freire DM, Teles EM, Bon EP & Sant’Anna GL. Lipase production by *Penicillium restrictum* in a bench-scale fermenter. *Applied biochemistry and biotechnology*. 1997; 63(1); 409-421.

# Preparo de DNA para reação de sequenciamento: comparação entre duas técnicas

Silvana Beres CASTRIGNANO<sup>1</sup>, Fabiola Lorenzi DERGOVICS<sup>2</sup>, Teresa Keico NAGASSE-SUGAHARA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Doenças Respiratórias - Centro de Virologia - Instituto Adolfo Lutz

<sup>2</sup>Laboratório de Sequenciamento Genético - Centro de Virologia - Instituto Adolfo Lutz

Após a amplificação de um segmento genômico por reação em cadeia pela polimerase (PCR), há necessidade de purificação do produto caso este DNA siga para reação de sequenciamento, e principalmente, clonagem. Essa purificação tem como objetivo a remoção de oligonucleotídeos não utilizados — *primers*, *primer-dimers* —, excesso de deoxinucleotídeos trifosfatados (dNTPs) e DNA polimerase, pois poderiam afetar as reações mencionadas<sup>1</sup>.

A purificação do DNA pode ser feita de maneiras diversas, como:

1. utilizando em etapas sequenciais proteinase K, solução de fenol:clorofórmio (1:1, v/v), clorofórmio, solução de acetato de amônio e etanol, e etanol a 70%;
2. utilizando cromatografia, através de *kits* comerciais que purificam os ácidos nucleicos usando as propriedades da sílica;
3. ultrafiltração, utilizando membrana porosa anisotrópica, hidrofílica e não-absorvente, na qual macromoléculas maiores do que os poros da membrana são retidos;
4. separação magnética, através da ligação reversível do DNA com superfícies sólidas magnéticas<sup>1,2</sup>.

O primeiro método é demorado e trabalhoso e os outros dependem de *kits* ou colunas comerciais<sup>1,2</sup>.

Na rotina de laboratórios de saúde pública, a purificação antes da reação de sequenciamento, a partir de banda única visualizada em gel de agarose, é geralmente realizada a partir do volume resultante da reação de PCR por meio de *kits* comerciais, que atendem às necessidades de rapidez e facilidade.

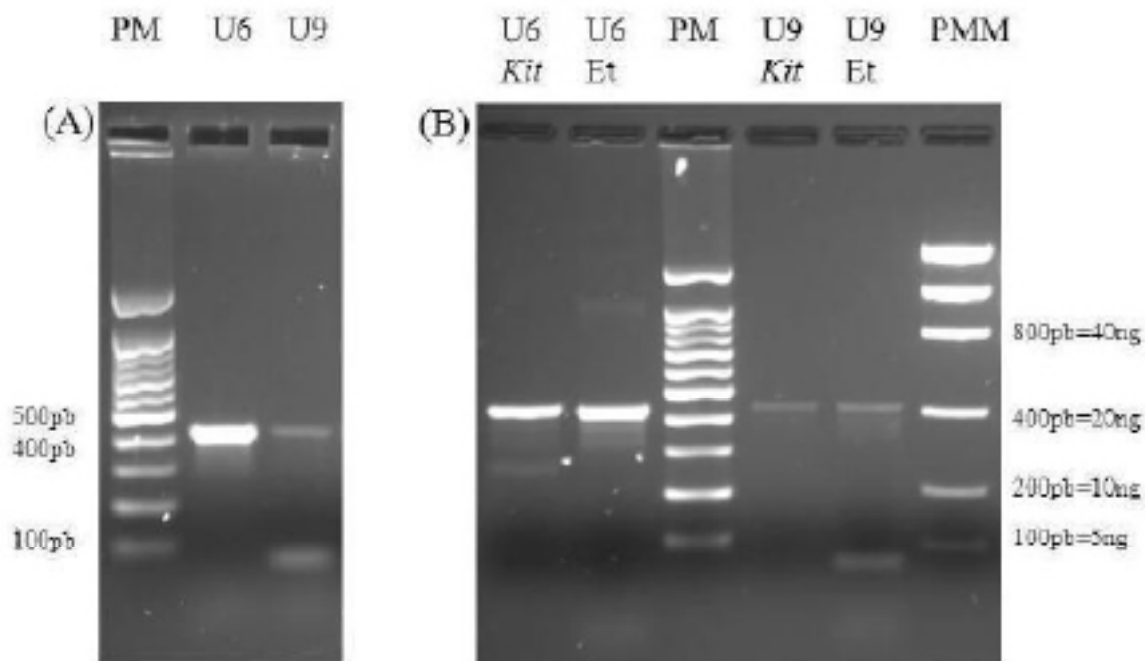
Aventando a eventual indisponibilidade destes *kits* comerciais, aqui foi avaliado se a simples precipitação do DNA interferiria na reação de sequenciamento deste produto a ponto de impedir a análise da sequência obtida em sequenciador automático. Neste estudo, o resultado da reação de sequenciamento de duas amostras (U6 e U9) cujo DNA foi precipitado por meio de acetato de sódio e etanol foi comparado com o obtido nestas mesmas amostras purificadas através de *kit* comercial que se vale das propriedades da sílica. As duas amostras de DNA amplificado tinham banda única visível no gel de agarose, com mesmo número de pares de base nucleotídicas (pb) e diferente massa.

Os produtos de amplificação utilizados, de 419 pb, resultaram de duas amplificações sequenciais, a segunda feita em quadruplicata, e do produto obtido foi feito um *pool*. Após a verificação do produto de cada um dos *pools* em gel de agarose (Fig. 1A), o volume foi acertado para 200 µl e dividido em duas alíquotas iguais. Uma das alíquotas de cada amostra (U6/*Kit* e U9/*Kit*) foi purificada com *kit* High Pure PCR Product Purification (Roche) seguindo as instruções do fabricante<sup>3</sup>. A outra alíquota de cada amostra (U6/Et e U9/Et) foi purificada conforme protocolo publicado<sup>1</sup> com algumas modificações, como segue: a 100 µl do produto foram acrescentados 10 µl de acetato de sódio (3M, pH5,2) e em seguida 250 µl de etanol absoluto gelado (proporção 25:1 de [etanol absoluto]:[acetato de sódio 3M]). Seguiu-se incubação por 15 min/temperatura ambiente e centrifugação por 20 min/18400 g/4 °C. O sobrenadante foi retirado e a seguir foram adicionados 300 µl de etanol 70 % gelado. Procedeu-se a nova centrifugação por 10

min/18400 g/4 °C. Após remoção do sobrenadante, o *pellet* foi seco por aproximadamente 5 min/60 °C e em seguida foi ressuspensão em 50 µl de água ultrapura livre de DNases e RNases. Após análise do produto em gel de agarose (Fig. 1B), foram feitas reações de sequenciamento das amostras com *primers* senso e antissenso e *kit* BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing<sup>4</sup>, com volume final de 10 µl. Procurou-se deixar as quatro reações das amostras U6 com quantidades semelhantes de DNA entre si, estimadas em 20 ng de DNA em comparação com o padrão de massa (Fig. 1B), e as quatro reações das amostras U9 com quantidades semelhantes de DNA entre si, estimadas em 9 ng de DNA. A precipitação pós-sequenciamento foi feita de forma igual para todos os produtos, utilizando acetato de sódio e etanol, mantendo as mesmas razões descritas acima. O sequenciamento foi realizado no sequenciador automático ABI 3130 xl Genetic Analyzer (Applied

Biosystems).

Comparando-se visualmente as bandas de DNA de U6 foi possível perceber que U6/Et parece ter maior massa na banda de 419 pb quando comparado a U6/*Kit* (Fig. 1B). No caso da amostra U9 não parece haver diferença em relação à massa de DNA das duas bandas de 419 pb, mas é perceptível que a banda abaixo de 100 pb, provavelmente de *primer-dimers*, que era visível na Fig. 1A, permanece de forma nítida em U9/Et, mas não em U9/*Kit* (Fig. 1B). Também pode ser notado que antes da purificação/precipitação havia um arrasto próximo às bandas de 419 pb (Fig. 1A), e após a precipitação e purificação outras bandas espúrias bem fracas ficaram visíveis (Fig. 1B). Este fato provavelmente deve-se não à purificação ou à precipitação, mas sim à maior precisão na separação das bandas no segundo gel devido à espessura do pente usado para fazer os poços (1,5 mm e 0,8 mm na preparação do gel da Fig. 1A e 1B respectivamente). A



**Figura 1.** Eletroforese em gel de agarose (1,3 %, 80 V) das amostras U6 e U9.

- (A) Amostra após a amplificação por PCR e antes da purificação/precipitação; volume de amostra/poço: 8 µl. Cuba de eletroforese Wide Mini-Sub Cell GT (BioRad);
- (B) Amostras depois da purificação ou precipitação; ; volume de amostra/poço: 3 µl. Cuba de eletroforese Horizon 58 (Life Technologies).
- PM = padrão de peso molecular (100 pb DNA Marker, Bioron);
- PMM = padrão de peso molecular e massa (Low DNA Mass Ladder, Invitrogen);
- Et = precipitado com etanol;
- Kit = purificada com Kit High Pure PCR Product Purification (Roche).

---

análise do sequenciamento, utilizando parâmetros de qualidade dos cromatogramas pelo programa SeqMan do pacote Lasergene (DNASTAR Inc.), mostrou que as amostras U6, sequenciadas com o *primer* senso e o antissenso tiveram qualidade semelhante; no entanto, ficou visível no cromatograma linha de base suja das sequências advindas das amostras precipitadas, o que não aconteceu com as amostras purificadas. Aparando os cromatogramas com alto rigor de qualidade (SeqMan), foi possível construir uma sequência contígua (contig) de 406 e 398 nucleotídeos (nt) para as amostras U6/*Kit* e U6/*Et* respectivamente. Quando foram aparadas as sequências U9 exigindo alto rigor de qualidade, o programa SeqMan manteve as sequências U9/*Kit* e gerou a partir delas um contig de 399 nt, mas eliminou todas as sequências de U9/*Et*. Com a diminuição do rigor de corte por qualidade do cromatograma nas sequências U9/*Et*, o programa SeqMan mostrou que as duas sequências U9/*Et* cobriram 383 dos 399 nt do contig gerado pela amostra U9/*Kit*, com somente 3 nt de diferença entre elas. A inspeção visual do cromatograma das sequências U9/*Et* mostra picos mais baixos em relação a U9/*Kit*, dado que está de acordo com os sinais dos nucleotídeos dessas sequências avaliados pelo programa EditSeq do pacote Lasergene.

Conclui-se que, na falta de *kit* de purificação de DNA, os resultados encontrados sugerem que a precipitação do DNA possa ser usada antes de reação de sequenciamento, principalmente se houver disponibilidade de quantidade alta de massa de DNA.

## REFERÊNCIAS

1. Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning - a laboratory manual. 3. ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
2. Dhaliwal A. DNA extraction and purification. *Mater Methods*. 2013; 3:191. [acesso em: 2015 fevereiro 17]. Disponível em: [<http://dx.doi.org/10.13070/mm.en.3.191>].
3. Roche. High Pure PCR Product Purification. Instructions for use. Versão 16, dezembro de 2010. [acesso em: 2015 fevereiro 17]. Disponível em: [<http://lifescience.roche.com/shop/Instructions4Use?catalogNumber=11732676001>].
4. Applied Biosystems. BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Protocol. Rev. B, junho de 2010. [acesso em: 2015 fevereiro 17]. Disponível em: [<https://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/4337455>].

---

# Nitrato e nitrito em água mineral envasada comercializada na cidade de São Paulo

---

Thaís Valéria MILANEZ<sup>1</sup>, Arlete de SOUZA<sup>1</sup>, Paulo Eduardo Masselli BERNARDO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Águas e Embalagens – Centro de Contaminantes – Instituto Adolfo Lutz

---

Água mineral natural é caracterizada pelo conteúdo definido e constante de determinados sais minerais, oligoelementos e outros constituintes, considerando as flutuações naturais<sup>1</sup>, diferentes das águas de abastecimento. O seu consumo vem aumentando no Brasil e vários motivos podem estar envolvidos, dentre os quais pode-se citar: melhor sabor, a crença de que tenha qualidade superior à água de abastecimento potável e, até mesmo, devido à falta desta última.

Este estudo se concentrou na avaliação do conteúdo de nitrato e nitrito das águas minerais naturais, não carbonatadas, comercializadas na cidade de São Paulo, considerando o aumento do consumo de água mineral e a toxicidade do nitrato e do nitrito, cujos níveis podem indicar também a degradação da fonte. Para tanto, os autores avaliaram amostras de águas envasadas em um tipo de embalagem reciclável (1,5L de capacidade) e em um tipo de embalagem retornável (20L).

Foram coletadas 42 amostras de água mineral natural envasada de 18 marcas diferentes em garrações de 20L e 65 amostras de água mineral natural envasada de 15 marcas diferentes em garrafas de 1,5L, total de 107 amostras. As amostras foram adquiridas no decorrer de 2011 em diversos pontos do comércio da cidade de São Paulo e analisadas prontamente ao chegarem ao laboratório. As amostras foram denominadas de acordo com a cidade de procedência/origem e numeradas quando duas ou mais amostras eram oriundas de uma da mesma localidade.

Nitrato e nitrito foram determinados

por espectrofotometria UV/VIS<sup>2,3</sup>. Os limites de quantificação para nitrato e nitrito foram 0,18 mg L<sup>-1</sup> e 0,01 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os resultados das determinações de nitrato estão apresentados nas Figuras 1 e 2. Os valores obtidos nas análises foram confrontados com os declarados nos rótulos das embalagens.

Nenhuma das amostras analisadas apresentou nitrato em concentrações acima do valor máximo permitido (VMP) pela Resolução RDC nº 274/2005<sup>1</sup>: 50 mg L<sup>-1</sup> em NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Segundo os dados apresentados nas Figuras 1 e 2, algumas amostras apresentaram valores de nitrato superiores aos declarados no rótulo e são essas que merecem atenção. Amostras provenientes de fontes próximas de regiões urbanizadas, como as São Paulo 1 e 3 e Serra Negra 2, apresentaram concentrações mais elevadas de nitrato.

O nitrato pode estar presente naturalmente nas águas subterrâneas em baixas concentrações, mas sua presença nos aquíferos é principalmente em decorrência da falta de redes de esgoto, ou ainda, de descargas de nitrogênio orgânico e amoniacal como, por exemplo, de indústrias químicas, siderúrgicas, farmacêuticas, alimentícias, frigoríficas e matadouros. O nitrato ao penetrar no solo pode atingir o lençol freático com o movimento das águas subterrâneas, pois existe uma migração do líquido em subsolo, das áreas de maior pressão para as de menor pressão. Segundo a Organização Mundial da Saúde, uma vez que o aquífero apresente altos níveis de nitrato, a contaminação poderá durar décadas, mesmo que a origem da contaminação de nitrato seja reduzida drasticamente<sup>4</sup>.

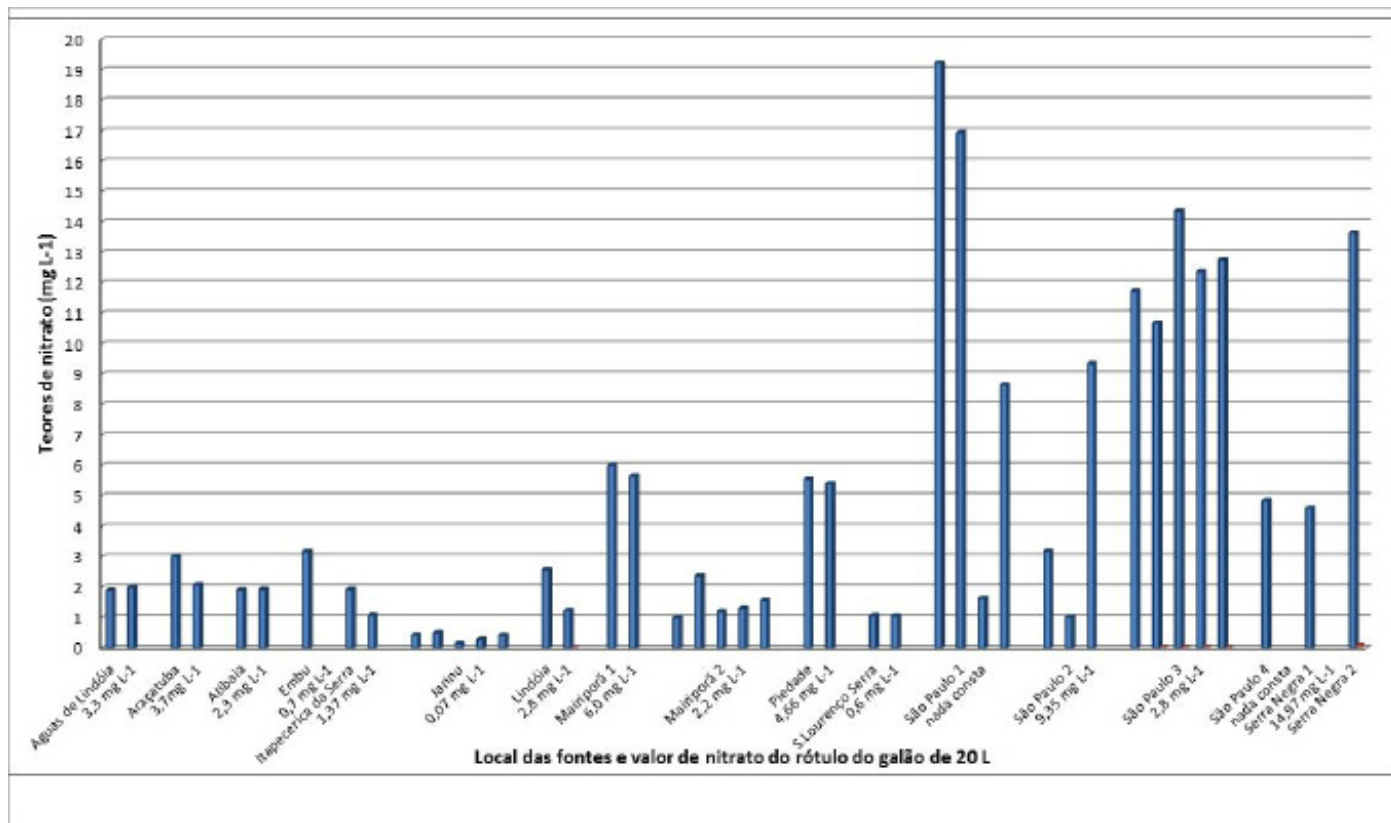


Figura 1. Teores de nitrato em amostras de água mineral envasadas em galões de 20L

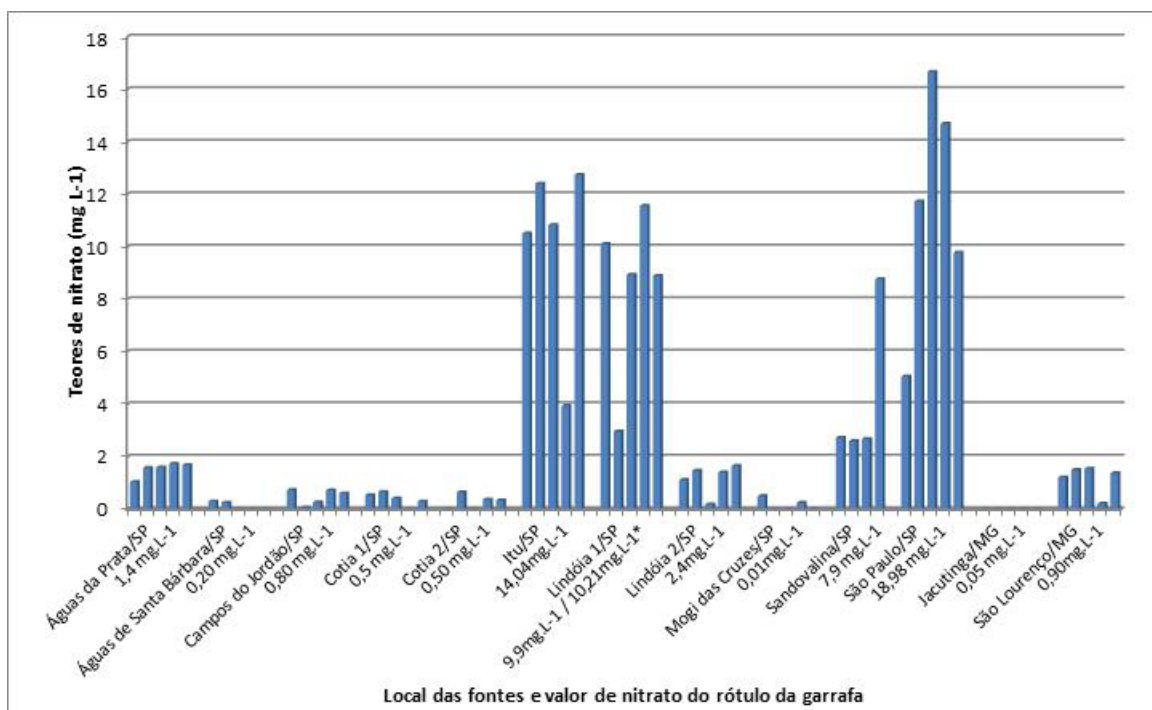


Figura 2. Teores de nitrato em águas minerais envasadas em garrafas de 1,5 L

A toxicidade do nitrato deve-se ao fato que ele pode dar origem ao nitrito. Ele pode ser reduzido a nitrito no organismo e provocar a metahemoglobinemia infantil que se caracteriza por diminuir o oxigênio livre na corrente sanguínea causando cianose e asfixia. Esta doença também pode afetar adultos com predisposição hereditária, pessoas com úlceras pépticas ou gastrite crônica e pacientes em diálise<sup>5</sup>. Além disso, o nitrato, ao se converter a nitrito no organismo, pode reagir com aminas secundárias e terciárias e dar origem a nitrosaminas e nitrosamidas, ambas carcinogênicas, sendo que quando houver ingestão do nitrito a intoxicação é direta<sup>5</sup>. A Itália, um dos países com maior produção e consumo de águas envasadas, recomenda o limite de 10 mg L<sup>-1</sup> para nitrato em águas envasadas destinadas ao público infantil<sup>6</sup>. Caso esta legislação se aplicasse ao Brasil, neste estudo 12,3% das amostras de águas envasadas em garrafas de 1,5L e 19% das águas de garrafas de 20L estariam impróprias para o consumo infantil.

Cinco amostras apresentaram nitrito com teores acima do VMP (0,02 mg L<sup>-1</sup>), quatro delas da fonte São Paulo 3 e uma de Serra Negra 2. Os teores de nitrato destas amostras também foram superiores aos declarados no rótulo, o que pode indicar deterioração dessas fontes.

Os dados obtidos nesta avaliação preliminar evidenciam a necessidade de monitoramento contínuo dos teores de nitrato nas águas minerais provenientes de regiões densamente urbanizadas, além de um controle do risco de degradação da fonte, e de se estabelecer parâmetros indicadores da qualidade da água mineral envasada comercializada. Sugere-se que na composição química das águas minerais conste obrigatoriamente a concentração de nitrato, e que a mesma seja revista com maior frequência, indicando a porcentagem de flutuação aceitável desse contaminante.

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 274, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para águas envasadas e gelo. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, F, 23 set. 2005. Seção 1, nº 184, p. 376-377.
2. Zenebon O, Pascuet NS, coordenadores. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4ed. Brasília (DF): ANVISA, Ministério da Saúde; 2005.
3. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19<sup>a</sup> ed. Washington DC: American Water Works Association and Water Environment Federation; 1995.
4. WHO. Protecting Groundwater for Health. [acesso 2015abr 04]. Disponível em: [[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/protecting\\_groundwater/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/protecting_groundwater/en/)].
5. Swann PF. The toxicology of nitrate, nitrite and n-nitroso compounds. J Sci Fd Agric. 1975;26:1761-70.
6. Cidu R, Frau F, Tore P. Drinking water quality: comparing inorganic components in bottled water and Italian tap water. J Food Comp Anal. 2011;24:184-93.

---

# Avaliação da qualidade de diferentes marcas de álcool gel comercializadas na cidade de São Paulo

---

Tatiana Caldas PEREIRA<sup>1</sup>, Adriana Aparecida Buzzo ALMODOVAR<sup>1</sup>, Maria Cristina SANTA BÁRBARA<sup>2</sup>, Lígia Luriko MIYAMARU<sup>2</sup>, Adriana BUGNO<sup>3</sup>

<sup>2</sup>Núcleo de Ensaios Biológicos e Segurança- Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes - Instituto Adolfo Lutz

<sup>2</sup>Núcleo de Ensaios físico-químicos em Cosméticos e Saneantes - Instituto Adolfo Lutz

<sup>3</sup>Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes - Instituto Adolfo Lutz

---

O álcool é um composto químico orgânico, muito utilizado em instituições de saúde como antisséptico e na desinfecção de artigos e superfícies, para eliminar ou reduzir a carga microbiana, cuja utilização data de longo tempo na história. O álcool está entre os antissépticos mais seguros, por possuir baixa toxicidade, efeito microbiocida rápido e ser de fácil aplicação. Estudos investigaram a efetividade e tolerância ao procedimento de fricção com solução alcoólica *versus* lavagem com sabão e concluíram que o álcool é mais efetivo, porém ressaltaram, que o procedimento de fricção com o álcool não substitui a lavagem das mãos, se estiverem sujas<sup>1</sup>. O gel contendo álcool em sua formulação representa a busca por produto germicida com amplo espectro, mesmo na presença de matéria orgânica, tempo mínimo de inativação dos micro-organismos, além da facilidade de aquisição e baixo custo. A Resolução RDC nº 42, de 25 de outubro de 2010<sup>2</sup> dispõe, sobre a obrigatoriedade de disponibilização de preparações alcoólicas para fricção antisséptica das mãos pelos serviços de saúde, repartições públicas e escolas no país. Os produtos destinados à higienização das mãos são classificados como de risco 2, com obrigatoriedade de registro junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. O objetivo do presente estudo foi avaliar

diferentes marcas de álcool gel disponíveis no mercado, verificando a atividade antisséptica e o teor de álcool<sup>3</sup>.

A avaliação da atividade antisséptica foi realizada de acordo com a NF EN 1040, 2006: *Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics*<sup>4</sup> e a quantificação do teor de álcool etílico foi realizada através de densímetro digital Mettler DA 300, utilizando as tabelas de conversão da AOAC - Association of Official Analytical Chemists<sup>5</sup>.

Para a realização do estudo foram adquiridas no mercado 16 amostras de álcool gel de diferentes marcas. Das 16 amostras 87,5% (14) não apresentaram teor de álcool etílico mínimo de 70% p/p, conforme preconiza a Legislação RDC nº. 42/2010 para este tipo de produto e 12,5% (2) não comprovaram sua atividade antimicrobiana. Entretanto, foi observado que produtos com teor de álcool etílico abaixo de 70%, demonstraram eficiência na redução, de pelo menos, 5 ciclos logarítmicos, conforme preconiza a metodologia adotada, quanto à avaliação da atividade antisséptica. O estudo sugere uma revisão que estabeleça um valor mais flexível quanto ao teor de álcool etílico para o produto na forma de gel, semelhante ao preconizado para preparações alcoólicas para higienização das mãos sob a forma líquida cuja concentração final aceita é de 60% a 80%.



---

## REFERÊNCIAS

1. Andrade D, Santos LS, Oliveira BA, Beraldo CC. Álcoois: A produção do conhecimento com ênfase na sua atividade antimicrobiana. *Medicina*, Ribeirão Preto 2002; 35:7-13.
2. Brasil. Resolução RDC nº. 42 de 25 de Out. de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Dispõe sobre a obrigatoriedade de disponibilização de preparação alcoólica para fricção antisséptica das mãos, pelos serviços de saúde do País, e da outras providências. Diário [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 de Out. de 2010. Seção 1, p.27-8.
3. Hernandez SED, Mello AC, Sant'Ana JJ, Soares VS, Cassiolato V, Garcia LD, Cardoso CL. The effectiveness of alcohol gel and other hand-cleansing agents against important nosocomial pathogens. *Braz J Microbiol* 2004; 35 (1/2): 33-9.
4. European Standard NF EN 1040. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics – Test method and requirements (phase 1), 2006.
5. AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 2012, 19<sup>th</sup> Edition , vol. I.

---

# Um olhar sobre o fluoreto em água mineral envasada

---

Thais Valéria MILANEZ<sup>1</sup>, Arlete de SOUZA<sup>1</sup>, Paulo Eduardo Masselli BERNARDO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Águas e Embalagens – Centro de Contaminantes – Instituto Adolfo Lutz

---

A água mineral natural é aquela obtida diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas. É caracterizada pelo conteúdo definido e constante de determinados sais minerais, oligoelementos e outros constituintes, considerando as flutuações naturais<sup>1</sup>. Um desses elementos é o flúor que pode estar presente naturalmente na água devido à presença de cristais de fluoreto nas rochas subterrâneas, emissões e efluentes industriais, ou lixiviação de fertilizantes usados em áreas agrícolas<sup>2</sup>.

A presença de fluoreto deve ser verificada pois, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), concentrações entre 0,9 e 1,2 mg L<sup>-1</sup> podem causar uma leve fluorose dentária, dependendo da quantidade de água ingerida e da exposição a outras fontes de flúor (como, por exemplo, ar e alimentos). A OMS recomenda 1,5 mg L<sup>-1</sup> como valor máximo nos locais onde a ingestão total de fluoreto é aproximadamente (ou maior que) 6 mg por dia<sup>2</sup>. Segundo a Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011, em tabela de padrão de potabilidade para substâncias químicas que representam risco à saúde (Anexo VII), o valor máximo permitido (VMP) de fluoreto na água potável é de 1,5 mg L<sup>-1</sup><sup>3</sup>. Maiores concentrações de fluoreto (3 a 6 mg L<sup>-1</sup>), podem levar à fluorose do esqueleto, principalmente quando há alto consumo desta água.

Segundo o Código de Águas Minerais (CAM), a água mineral será classificada de acordo com sua composição química e essa classificação está a cargo do Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM). O DNPM poderá classificar a água de acordo com o elemento predominante ou,

ainda, estabelecer classificação mista, quando sua composição apontar mais de um elemento, íon ou substâncias raras dignas de nota<sup>3</sup>.

Nesse estudo observamos que no rótulo de uma marca das águas minerais analisadas apresentava 0,01 mg L<sup>-1</sup> de flúor e estava classificada como fluoretada. Atualmente, essa classificação não seria possível pois a Portaria nº 540 de 18/12/2014 estabeleceu limites mínimos dos elementos dignos de nota para a classificação das águas minerais, e no caso de fluoreto este limite é 0,02 mg L<sup>-1</sup>. A Comunidade Européia considera como água mineral fluoretada aquela que contém mais de 1 mg L<sup>-1</sup> de fluoreto.

Neste estudo preliminar foram coletadas 107 amostras, sendo 65 amostras de água mineral natural envasada de 15 marcas diferentes em garrafas de 1,5L, e 42 amostras de água mineral natural envasada de 18 marcas diferentes em garrafas de 20L. As amostras foram adquiridas em diversos pontos do comércio da cidade de São Paulo e denominadas de acordo com a cidade de procedência/origem. Cabe ressaltar que todas as águas amostradas em seus rótulos estavam classificadas como fluoretadas.

O fluoreto foi determinado por método potenciométrico usando-se o eletrodo de íon seletivo para fluoreto acoplado ao potenciômetro, sob agitação. Foi usado o tampão TISAB III e a relação tampão: amostra foi de 1:10. A curva analítica de fluoreto foi linear para a faixa 0,1 a 1,6 mgF<sup>-</sup> L<sup>-1</sup>, e o coeficiente angular esteve sempre dentro do intervalo 52,0 a 59,0, que é o indicado para o eletrodo usado. O limite de quantificação foi 0,1 mg L<sup>-1</sup>.

Os resultados das determinações de fluoreto estão apresentados nas Figuras 1 e 2.

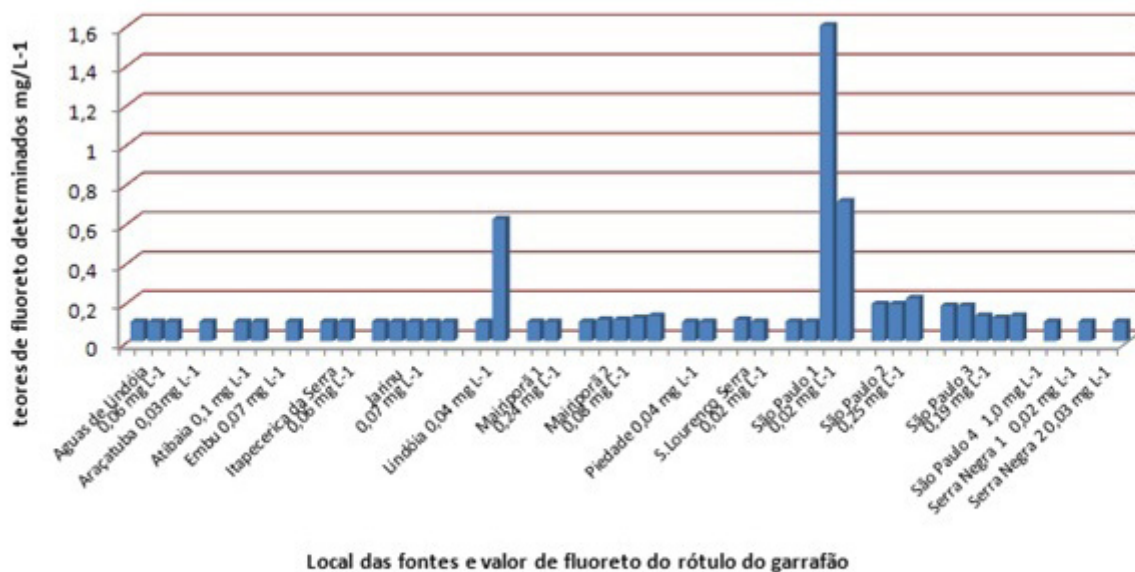


Figura 1. Teores de fluoreto ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em águas minerais envasadas em garrafões de 20 L

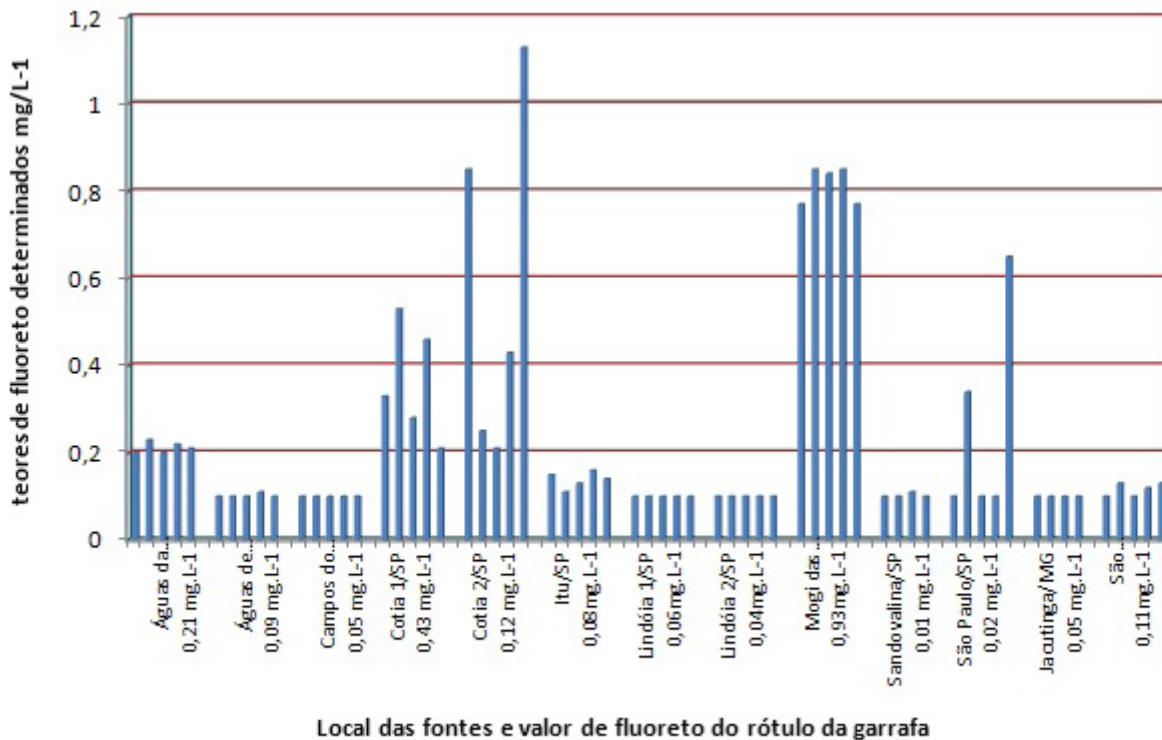


Figura 2. Teores de fluoreto ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em águas minerais envasadas em embalagens de 1,5 L

Nas 42 amostras de garrafões de 20 L a concentração de fluoreto variou de 0,1 a 1,60 mg L<sup>-1</sup> (Figura 1) e nas 65 amostras em garrafas de 1,5L a variação ocorreu de 0,1 a 1,13 mg L<sup>-1</sup> (Figura 2). A maioria das amostras, 41 de garrafões de 20L e 61 de garrafas de 1,5L, apresentaram níveis de fluoreto inferiores a 0,6 mg L<sup>-1</sup>. Uma das amostras de 20 L e cinco amostras de 1,5 L (7,7%), apresentaram valores acima de 0,8 mg L<sup>-1</sup> e duas destas mais que 1,0 mg L<sup>-1</sup> de fluoreto, sendo que o rótulo trazia o valor de 0,12 mg L<sup>-1</sup>. Os valores obtidos nas análises foram confrontados com os declarados nos rótulos das embalagens e houve variações dos níveis de fluoreto. Isto também foi observado por outros autores.

Segundo a ANVISA, na Resolução nº 274 de 22 de setembro de 2005, o fluoreto pode representar um risco à saúde se a água mineral envasada contiver mais que 1 mg L<sup>-1</sup> neste caso, o rótulo deve trazer obrigatoriamente a seguinte advertência, em destaque e em negrito: “Contém Fluoreto”. Quando conter mais de 2 mg L<sup>-1</sup>, deverá constar no rótulo a mensagem: “O produto não é adequado para lactentes e crianças com até sete anos de idade”.

Frequentemente, o consumidor não está atento para o fato de que algumas águas minerais classificadas como fluoretadas não contêm a quantidade necessária de fluoreto para a prevenir a cárie dentária. É preciso estar alerta e verificar nos rótulos das águas minerais o teor de fluoreto de cada uma delas; algumas vezes esse teor se aproxima do da água de abastecimento fluoretada.

Crianças de até um ano de idade podem desenvolver fluorose em dentes decíduos quando a ingestão diária de fluoreto estiver acima de 0,07 mg kg<sup>-1</sup> de peso corporal e isto pode ocorrer quando fórmulas infantis, que já contêm fluoreto na

composição, forem reconstituídas com água contendo 0,8 mg L<sup>-1</sup> ou mais de fluoreto. A legislação alemã, por exemplo, no intuito de orientar os consumidores, prevê que águas envasadas contendo menos de 0,7 mg L<sup>-1</sup> tenham no rótulo os dizeres “adequado para o preparo de alimento infantil”.

Sugere-se que na composição química citada no rótulo das águas minerais envasadas conste obrigatoriamente a concentração de fluoreto e frases de alerta ao consumidor quanto ao seu teor. Além disso, que esta seja revista com mais frequência e que as autoridades competentes estabeleçam porcentagens de flutuações aceitáveis desses teores.

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº274, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para águas envasadas e gelo. Diário Oficial União 2005; 22 set.
2. WHO. Guidelines for Drinking Water Quality. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2011. 541 p.
3. Brasil. Decreto Lei nº 7841 de 08 de agosto de 1945. Código de Águas Minerais. Diário Oficial da União 1945; 20 ago.
4. Grec RHC, Moura PG, Pessan JP, Ramires I, Costa B, Buzalaf MAR. Concentração de flúor em águas engarrafadas comercializadas no município de São Paulo. Rev Saúde Pub 2008;42(1):154-7.
5. Buzalaf MA, Damante CA, Trevizani LM, Granjeiro JM. Risk of fluorosis associated with infant formulas prepared with bottled water. J Dent Child 2004;71(2):110-3.

---

# Frequência dos diagnósticos citopatológicos cérvico-vaginais detectados no Núcleo de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz nos anos de 2012 e 2013

---

Natália Coelho Couto de Azevedo FERNANDES, Sandra LORENTE, Luzia Setuko Umeda YAMAMOTO, Yuriko Ito SAKAI, Camilo de Lelis FERES, Celso di LORETO, Rosemeire de Oliveira Lima RODRIGUES, Maria Lúcia UTAGAWA, Leni NEGREIROS, Silvana Aparecida da SILVA, Cleusa de JESUS, Seura de ALMEIDA, Daniela ETLINGER-COLONELLI

*Núcleo de Anatomia Patológica-Laboratório de Citologia Oncótica-Instituto Adolfo Lutz*

---

O câncer de colo de útero continua sendo uma importante causa de mortalidade feminina. Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), a estimativa para o ano de 2014 é de 15.590 novos casos, correspondendo à quarta neoplasia mais frequente em mulheres<sup>1</sup>.

Trata-se de uma doença de evolução lenta, cujo desenvolvimento está relacionado a diversos fatores de risco, como início de vida sexual precoce e correlacionado à infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV). Por esta natureza, é possível a aplicação de medidas de prevenção, sendo uma das principais o rastreamento populacional através do exame citopatológico (Papanicolaou) para detecção de lesões neoplásicas e pré-neoplásicas<sup>2</sup>. Além disso, no ano de 2014, a vacinação quadrivalente contra o vírus do HPV para adolescentes, entre 11 e 13 anos, será introduzida no calendário vacinal brasileiro<sup>3</sup>.

Para garantir a eficiência do programa de controle do câncer de colo de útero, o Ministério da Saúde (MS) recomenda medidas de controle

de qualidade interno que envolvem, dentre outros critérios, a determinação dos índices de positividade e de satisfatoriedade das amostras<sup>4</sup>. Tais ações tornaram-se obrigatórias para os laboratórios de citopatologia segundo a Portaria nº 1504, de 23 de Julho de 2013, que instituiu a Qualificação Nacional em Citopatologia na prevenção de câncer de colo de útero (QualiCito)<sup>5</sup>.

O presente estudo apresenta a frequência e a distribuição por faixa etária dos diagnósticos citopatológicos das amostras, cérvico-vaginais nos anos de 2012 e 2013 no Laboratório de Citologia Oncótica, do Núcleo de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz (LCO - IAL), provenientes majoritariamente da região do Vale do Ribeira, além dos dados do controle de qualidade interno laboratorial, conforme preconizado pelo MS. Os resultados foram obtidos através do programa Tab para windows - TabWin® Versão 3.6b à partir do banco de dados Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero SES-SP (SISCOLO).

Em 2012, no LCO-IAL, foram realizados

13.063 exames, com 178 (1,36%) casos insatisfatórios. Dentre os casos satisfatórios, 11.976 (92,94%) foram diagnosticados como sendo negativos para alterações pré-neoplásicas e neoplásicas, 607 (4,71%) foram classificados como atipias escamosas de significado indeterminado possivelmente não neoplásicas (ASC-US), 85 (0,66%) exames como atipias escamosas de significado indeterminado em que não se pode excluir lesão de alto grau (ASC-H), 50 exames (0,38%) foram classificados como atipias glandulares de significado indeterminado possivelmente não neoplásica (AGC-US), três (0,02%) como atipias glandulares em que não se pode excluir lesão de alto grau (AGC-H), 293 (2,27%) lesões intraepiteliais de baixo grau (LSIL),

49 (0,38%) como sendo lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL) e dois (0,01%) como carcinomas espinocelulares (CEC).

Em 2013, foram realizados 12.186 exames, com 359 (2,95%) casos insatisfatórios. Dos satisfatórios, 11.087 (90,98%) diagnosticados como negativos para alterações pré-neoplásicas e neoplásicas, 397 (3,26%) ASC-US, 33 (0,27%) ASC-H, 36 (0,30%) AGC-US, 229 (1,88%) LSIL, 39 (0,32%) HSIL, um (0,01%) HSIL sem excluir microinvasão (HSIL micro), quatro (0,03%) CEC e um (0,01%) adenocarcinoma invasor (AdenoCa invasor). Os resultados do controle de qualidade interno dos anos de 2012 e 2013 avaliados em conjunto são exibidos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Índices recomendados pelo Ministério da Saúde/INCA para controle interno de qualidade dos exames citopatológicos cérvico-vaginais

Índice	Fórmula	Valores	
		LCO - IAL*	Recomendação MS
Percentual de amostras insatisfatórias	$\frac{\text{N}^\circ \text{ de insatisfatórios}}{\text{N}^\circ \text{ exames}} \times 100$	2,95%	Inferior a 5%
Índice de positividade	$\frac{\text{N}^\circ \text{ de exames alterados}}{\text{Exames satisfatórios}} \times 100$	9,01%	3% a 10% Variável de acordo com a população atendida
Percentual de ASC dentre alterados	$\frac{\text{N}^\circ \text{ de ASC-US e ASC-H}}{\text{Total de exames alterados}} \times 100$	61,34%	-
Razão ASC-SIL	$\frac{\text{ASC-US} + \text{ASC-H}}{\text{LSIL} + \text{HSIL}}$	1,84	Inferior a 3,0

\* Índices do LCO-IAL com base nos diagnósticos realizados no período de 2012 e 2013.

Em ambos os anos, a maior proporção relativa de casos de LSIL foi nas faixas etárias até 25 anos, e os casos de HSIL na faixa de 25 a 29 anos. Em 2012, houve um caso de carcinoma na faixa entre 30 a 34

anos e outro entre 50 e 54 anos. Os quatro casos de carcinoma ocorridos em 2013 foram em pacientes acima dos 60 anos (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2.** Frequência dos diagnósticos citopatológicos cérvico-vaginais estratificados por faixa etária referentes aos exames realizados no ano de 2012, no LCO-IAL

Faixa etária	DIAGNÓSTICO							Exames alterados	Exames realizados
	ASCUS	ASC-H	AGC-US	AGC-H	LSIL	HSIL	CEC		
≤ 11 anos	-	-	-	-	1	-	-	-	1
12 a 14 anos	1	-	-	-	5	-	-	6	48
15 a 19 anos	60	-	1	-	65	4	-	130	828
20 a 24 anos	79	8	1	-	55	3	-	146	1.239
25 a 29 anos	60	7	5	-	33	8	-	113	1.538
30 a 34 anos	56	6	9	1	24	7	1	104	1.642
35 a 39 anos	63	11	5	1	37	6	-	123	1.523
40 a 44 anos	62	9	11	-	15	4	-	101	1.467
45 a 49 anos	58	8	4	1	21	6	-	98	1.361
50 a 54 anos	57	6	5	-	12	5	1	86	1.135
55 a 59 anos	47	9	1	-	11	1	-	69	895
60 a 64 anos	35	8	7	-	3	2	-	55	602
> 64 anos	29	13	1	-	12	3	-	58	784
<b>Total</b>	<b>607</b>	<b>85</b>	<b>50</b>	<b>3</b>	<b>293</b>	<b>49</b>	<b>2</b>	<b>1.089</b>	<b>13.063</b>

**Tabela 3.** Frequência dos diagnósticos citopatológicos cérvico-vaginais estratificados por faixa etária referentes aos exames realizados no ano de 2013, no LCO-IAL

Faixa etária	DIAGNÓSTICO									Exames alterados	Exames realizados
	ASCUS	ASC-H	AGC-US	LSIL	HSIL	HSIL micro	CEC	AdenoCa invasor			
12 a 14 anos	1	-	-	4	-	-	-	-	-	5	50
15 a 19 anos	42	2	1	62	-	-	-	-	-	107	809
20 a 24 anos	46	-	1	50	2	-	-	-	-	99	1.157
25 a 29 anos	46	3	4	23	11	-	-	-	-	87	1.322
30 a 34 anos	44	7	7	27	2	-	-	-	-	87	1.524
35 a 39 anos	35	3	4	14	4	-	-	-	-	60	1.431
40 a 44 anos	44	5	8	15	7	1	-	-	-	80	1.375
45 a 49 anos	42	-	4	16	2	-	-	-	-	64	1.203
50 a 54 anos	34	3	3	5	3	-	-	1	-	49	1.081
55 a 59 anos	24	1	2	4	3	-	-	-	-	34	894
60 a 64 anos	16	2	2	3	1	-	2	-	-	26	636
> 64 anos	23	7	-	6	4	-	2	-	-	42	704
<b>Total</b>	<b>397</b>	<b>33</b>	<b>36</b>	<b>229</b>	<b>39</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1</b>		<b>740</b>	<b>12.186</b>

Os dados apresentados mostram uma precocidade no aparecimento de lesões de alto grau, fato que pode estar relacionado ao início de atividade sexual precoce e fatores sócio-econômicos regionais do Vale do Ribeira, como baixa renda per capita e baixo índice de desenvolvimento

humano<sup>6</sup>. Ressalta-se também a importância do controle interno de qualidade, exigência atual da QualiCito<sup>5</sup> e comparação dos resultados, especialmente do índice de positividade e percentual de ASC dentre os alterados com outros laboratórios.

---

## REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2014. Incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/>. [acesso 28 fev 2012].
2. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Manual de Gestão da qualidade para laboratório de citopatologia. Rio de Janeiro. 2012.
3. Coordenação estadual de imunizações – CEI. Bahia. Boletim informativo: vacinação contra HPV no SUS. 2014; boletim nº1: 1-4.
4. Bortolon PC, Silva MAF, Corrêa FM, Dias MBK, Knupp VMAO, Assis M, Claro IB. Avaliação da qualidade dos laboratórios de citopatologia do colo do útero no Brasil. Revista Brasileira de Cancerologia. 2012; 58(3): 435-444.
5. Diário Oficial da União. Ministério da Saúde. Institui a Qualificação Nacional em Citopatologia na prevenção do câncer de colo de útero (QualiCito), no âmbito da Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas. Portaria nº 1504, de 23 de Julho de 2013; 31-33.
6. Silva AF, Latorre MRDO e Galati EAB. Fatores relacionados à ocorrência de leishmaniose tegumentar no Vale do Ribeira. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2010; 43(1); 46-51.



---

# Comparação de método titulométrico oficial com método titulométrico automático na determinação do cloro ativo presente nas águas sanitárias e hipocloritos

---

Maria Cristina SANTA BÁRBARA<sup>1</sup>, Ligia Luriko MIYAMARU<sup>1</sup>, Luz Marina TRUJILLO<sup>1</sup>, Helena Miyoco YANO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Medicamentos Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

---

A água sanitária é uma solução aquosa com a finalidade de desinfecção e alvejamento, em que a substância ativa é o hipoclorito de sódio ou de cálcio, com teor de cloro entre 2,0 e 2,5 % p/p, podendo conter apenas os seguintes componentes complementares: hidróxido de sódio ou cálcio, cloreto de sódio ou cálcio e carbonato de sódio ou cálcio. A solução de hipoclorito com a finalidade de alvejamento e/ou desinfecção, cuja substância ativa também é o hipoclorito de sódio ou cálcio, difere da água sanitária por ser um produto mais concentrado, com teor de cloro ativo entre 3,9 e 5,6 % p/p, podendo conter estabilizantes, corantes, fragrâncias, sequestrantes e/ou tensoativos em sua formulação. O controle da concentração de cloro ativo é importante, pois a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) define o intervalo entre 2,0 a 2,5 % p/p para fins de registro do produto, uma vez que uma quantidade menor do que o estabelecido na legislação implica que o produto não será eficiente, e acima do permitido significa que uma quantidade maior de cloro (liberado na forma de gás) pode ser inalado<sup>1</sup>.

O presente estudo teve como objetivo otimizar o método utilizado na rotina do laboratório, comparando o método manual (oficial) a um sistema alternativo automatizado. O método oficial utilizado na determinação do cloro ativo é um procedimento analítico simples e clássico; baseia-se na titulação por iodometria cujo princípio é adicionar iodeto de potássio à amostra em meio ácido para a liberação de iodo, que é titulado com uma solução padronizada de

tiossulfato de sódio 0,1 molar, utilizando solução de amido como indicador do ponto final da titulação.

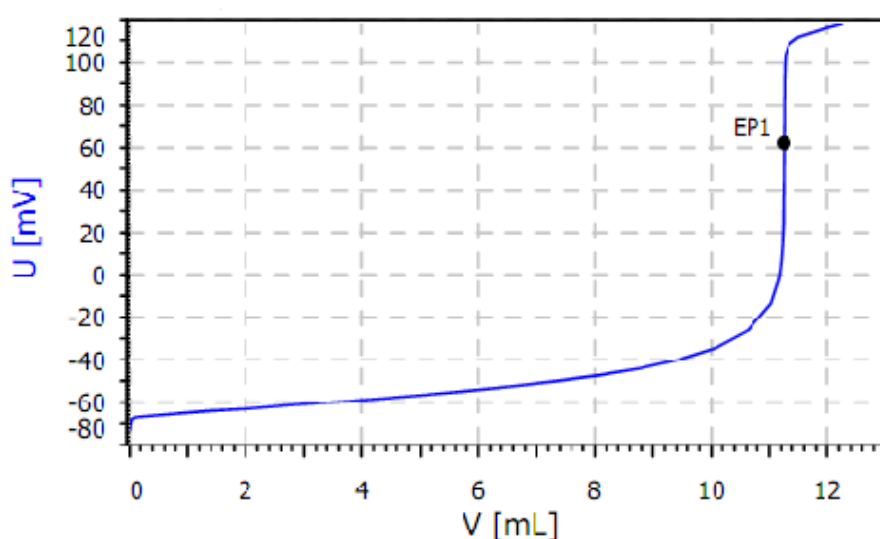
Para a determinação automática utilizou-se o titulador automático da Metrohm Pensalab cujas buretas estavam devidamente calibradas de acordo com a Rede Brasileira de Calibração (RBC), e a reação procedeu-se da mesma maneira que o ensaio oficial exceto por não fazer uso do indicador para observar o final da reação. No titulador automático, é possível produzir diretamente uma curva de titulação relacionada com uma titulação potenciométrica e o registro é dado em mV em função do volume de titulante adicionado; conforme figura 1, o processo é automático e, ao final, a concentração da substância é determinada pelo software do equipamento.

Para o presente estudo efetuou-se a determinação de cloro ativo utilizando seis (06) replicatas para cada método analítico em 03 amostras, sendo duas de água sanitária (A e B) e uma de hipoclorito de sódio (C), sendo que este produto é uma matéria prima, portanto, possui maior concentração de cloro ativo. A comparação entre os métodos manual e automatizado foi realizada por meio de médias, seus respectivos desvios padrão e suas variâncias. Para concluir o estudo utilizou-se o teste F mono-caudal, pois o objetivo é demonstrar que o método automático é mais preciso que o manual. Calculou-se o valor de F, obtendo-se os resultados que estão demonstrados na tabela 1. O resultado de F observado foi maior que F crítico (5,050) no nível de confiança de 95,0 %, assumindo que não existe igualdade entre as variâncias do método automático e

manual. Observou-se ainda que as médias entre ambos foram próximas, e que o desvio padrão no método automático foi muito pequeno demonstrando uma melhor precisão<sup>2</sup>. Para o cálculo de incerteza foram avaliados os seguintes componentes: a concentração da solução de tiosulfato de sódio, a incerteza definida no certificado de calibração das buretas (de vidro e a do titulador automático), a variação de temperatura, a incerteza do volume final, a incerteza da massa referente à calibração da balança analítica e a incerteza da repetibilidade do ensaio. O resultado

final da incerteza com 95 % de confiança para o teor de cloro ativo foi  $\pm 0,02$  % p/p e  $k= 2,0$ , calculado para as amostras de água sanitária e hipoclorito de sódio<sup>3</sup>.

Concluimos que o método manual pode ser substituído pelo método automático, pois este apresentou uma melhor precisão e é muito mais rápido, oferecendo ainda as vantagens de eliminar prováveis erros sistemáticos de procedimento tais como: ajuste inadequado do menisco do volume na bureta, uso de indicador em maior ou menor quantidade que o necessário e visualização do ponto final da reação.



**Figura 1.** Ponto de equivalência do teor de cloro da automática da amostra de água sanitária utilizando o titulador automático acoplado ao eletrodo de platina e como titulante a solução de tiosulfato de sódio 0,1 M.

Amostras	A		B		C	
Técnica titrimétrica	Manual	Automática	Manual	Automática	Manual	Automática
Média (% p/p)	2,47	2,46	2,39	2,39	3,95	3,97
Desvio Padrão	0,02	0,001	0,01	0,001	0,03	0,001
*DPR (%)	0,80	0,04	0,42	0,04	0,76	0,02
Teste F	400		100		900	

\*DPR= desvio padrão relativo; F crítico = 5,050

**Tabela 1.** Resultados de análise por titulação manual e automática das amostras de água sanitária e hipoclorito de sódio.

---

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 55, de 10 de novembro de 2009. Dispõe sobre regulamento técnico para produtos saneantes categorizados como água sanitária e alvejante à base de hipoclorito de sódio ou hipoclorito de cálcio. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 13 nov. 2009. Seção 1, p.42.
2. Cienfuegos F. Estatística aplicada ao laboratório. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2005; 200.
3. EURACHEM / CITAC Guide CG4. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Third Edition. QUAM: 2012; 1.
4. Hottes S & Clain A F. Estimativa dos erros de medição associado ao uso inadequado e condições extremas do indicador em uma titulação ácido-base. Revista eletrônica, Vassouras; (3); 2010; 45-56.

## Instruções para Publicação

A matéria para publicação deverá apresentar a seguinte estrutura:

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

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

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

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

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

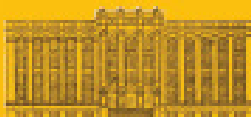
### Finalidade

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

### Regulamento

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

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



Instituto Adolfo Lutz

