

diferenças nas concentrações de HgT entre os quatro locais estudados. Nos mexilhões, as maiores concentrações ocorreram na BIG, seguido de BG, AC e BS. Nos coquiles, a BIG apresentou maiores concentrações que AC. Kehrig analisou mexilhões da BG em 1996, 1998 e 2000 e observou um decréscimo das concentrações no decorrer dos anos. Neste estudo, os mexilhões da BG têm concentrações inferiores às observadas por Kehrig, corroborando com a hipótese de tendência de decréscimo. O limite de ingestão semanal para metilmercúrio por kg de peso corpóreo em populações críticas, como mulheres em idade reprodutiva e crianças, é de 1,6 µg. Assumindo as maiores concentrações encontradas para mexilhão expressas em peso úmido de 21,4 µg/kg e de 16,7 µg/kg para coquile, e considerando que 60% do mercúrio total bioacumulado no tecido do mexilhão está na forma de metilmercúrio, uma pessoa de 50 kg que ingerisse 39 mexilhões, ou então 37 coquiles por dia, atingiria apenas 1/6 do limite semanal admissível, admitindo apenas essa fonte de incorporação de hg. A conclusão foi que os mexilhões e coquiles dos quatro locais estudados estavam com concentrações de Hg seguras para consumo humano.

Agradecimentos: Projeto CNPq/Mapa/SDA 577906/2008-9 Edital 64.

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica "Carlos Chagas Filho", Laboratório de Radioisótopos "Eduardo Penna Franca"  
Av. Carlos Chagas Filho, 373, CEP 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.  
E-mail: renan89\_lp@hotmail.com

### Determinação do hormônio 17-alfa-metiltestosterona em amostras de peixe

*Determination of the hormone 17-alfa-methyltestosterone in fish samples*

Silva, V.A.G. da<sup>1</sup>; Amorim, F.S.<sup>1</sup>; Pereira, E.F.<sup>1</sup>; Souza, J.R. de<sup>1</sup>; Louvandini, H.<sup>2</sup>

O hormônio sintético 17-alfa-metiltestosterona (MT) é um anabólico esteroide derivado da testosterona, utilizado em humanos em casos de deficiência andrógênica, infertilidade e câncer de mama. É aplicado também na piscicultura como promotor de populações monossexo de peixes, como a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). Com o aumento do consumo de peixes, o setor agroindustrial vem ampliando sua oferta, fornecendo uma maior variedade de espécies ao consumidor e demandando dos produtores uma crescente qualidade dos produtos fornecidos. Com isso, torna-se fundamental a garantia da inocuidade dos alimentos ofertados para consumo quanto à presença de resíduos decorrentes de drogas veterinárias, agroquímicos e, mais recentemente, hormônios. A importância do presente trabalho, reside principalmente na vulnerabilidade de crianças à exposição a produtos tóxicos, que em poucos anos pode representar alterações endócrinas em toda uma população, resultando em pessoas com amadurecimento genital precoce, feminização ou mesmo infertilidade. O presente trabalho teve como objetivo a otimização da aplicação da extração em fase sólida (SPE) em conjunto com a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta visível (HPLC-UVVis), para a determinação do hormônio 17-alfa-metiltestosterona em amostras de peixe. O sistema LC utilizado foi acoplado a um detector. Extratos de MT foram analisados com as condições isocráticas: fase móvel, MeOH/Água (80/20, v/v), vazão de 0,4 mL/min tempo de corrida de 15 min e coluna C18 (150 mm x 4,6 mm e 4 mm x 2 mm; 4 µm) com detecção no comprimento de onda 236 nm. O volume de injeção foi de 20 µL. Para a extração em fase sólida foram utilizados cartuchos C18, utilizando-se como solvente para condicionamento do

adsorvente metanol/água, e metanol para a eluição do analito no final. Quanto às amostras, foram utilizados dois tipos de peixe: controle, na qual o peixe não sofreu exposição ao hormônio; e uma outra amostra, que passou pelo processo de reversão sexual. Foram feitos testes de recuperação em dois níveis de fortificação, empregando-se 1,0 g de peixe. As técnicas utilizadas apresentaram bons resultados. Os limites de detecção e quantificação variaram de 0,04 a 0,06 mg/kg e 0,07 a 0,21 mg/kg, respectivamente. A linearidade foi de 0,9992. A recuperação do método de extração variou entre 75-90%. Com relação às amostras utilizadas, não foram detectados resíduos do hormônio 17-alfa-metiltestosterona em nenhum dos dois tipos. Conclui-se que os resultados obtidos mostraram que o presente método cromatográfico tem aplicabilidade para o controle de qualidade de alimentos.

<sup>1</sup>Universidade de Brasília, Instituto de Química, CP 04478, CEP 70904-970, Brasília, DF, Brasil.

E-mail: fabiullamorim@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP, Brasil.

### A importância do conhecimento do estado sanitário dos organismos aquáticos em pisciculturas da região noroeste paulista\*

*The importance of knowing the sanitary status of aquatic organisms in fish farmings on the Northwestern region of São Paulo State*

Andreoli, T.B.<sup>1\*\*</sup>; Gozi, K.S.<sup>1\*\*</sup>; Franceschini, L.<sup>3</sup>; Garcia, F.<sup>2</sup>; Onaka, E.M.<sup>2</sup>; Romera, M.D.<sup>1</sup>; Schalch, S.H.<sup>1</sup>; Silva, R.J.<sup>3</sup>; Zago, A.C.<sup>3</sup>

O Estado de São Paulo possui enorme potencial para a piscicultura, pela abundância de água nos reservatórios de hidrelétricas e pelo clima favorável ao desenvolvimento dos peixes tropicais. O conhecimento do estado sanitário das pisciculturas torna-se imprescindível para o controle do transporte de peixes portadores de agentes patogênicos. Os processos de quarentena nas criações, da minimização do estresse e da preocupação com a qualidade do ambiente devem ser cada vez mais aprimorados. A ação governamental organizada se faz necessária, unindo esforços para que novas tecnologias, capacitação de recursos humanos e políticas menos restritivas sejam criadas. A Instrução Normativa do Mapa nº 53/2003, que estabelece o Programa Nacional de Sanidade de Animais Aquáticos (PNSAA), tem o objetivo de ordenar as ações de prevenção, controle ou erradicação de doenças dos animais aquáticos. O Laboratório de Enfermidades de Animais Aquáticos (Lenaq) da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios do Estado de São Paulo (Apta) foi criado na região Noroeste Paulista pela carência de laboratórios capacitados para diagnosticar as enfermidades de organismos aquáticos. Seu objetivo é o futuro credenciamento como laboratório oficial do PNSAA. Atualmente, o Lenaq procura estabelecer uma rede de ações, envolvendo pesquisadores da Apta, técnicos da Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (Cati) e da Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA), órgãos pertencentes à Secretaria de Agricultura e Abastecimento. São realizadas a identificação de problemas sanitários nas unidades produtivas e análises de materiais laboratoriais, juntamente com uma anamnese e caracterização do cenário observado na propriedade. Análises histopatológicas e identificação de parasitos contaram com a colaboração da Universidade Estadual Paulista (Unesp), campus de Jaboticabal e Botucatu, SP. Apesar do grande potencial para piscicultura, a região Noroeste Paulista possui um déficit em estudos sobre o estado sanitário da produção de organismos

aquáticos. Tais estudos são necessários para o desenvolvimento de qualidade e até mesmo para o melhoramento da produção. Até o presente momento, o Lenaq gerou 17 resumos publicados em cinco diferentes eventos científicos, além de duas dissertações de mestrado. Os resultados também tem sido divulgados em palestras e cursos destinados aos piscicultores e técnicos.

\*CNPQ Processo n° 577649/2008-6 (Edital CNPq/Mapa/SDA 064/2008 - Linha 4 - Centros Colaboradores em Defesa Agropecuária).

\*\*Bolsista Técnica CNPq.

<sup>1</sup>Polo Regional do Noroeste Paulista, CP 61, CEP 15500-970, Votuporanga, SP, Brasil.

E-mail: tainá\_ba@hotmail.com

<sup>2</sup>Instituto de Pesca, São José do Rio Preto, SP, Brasil. <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociência de Botucatu, Botucatu, SP, Brasil.

### Avaliação do risco de intoxicação humana por Zn, Cu, Mn, Fe pelo consumo de mexilhões de cultivo comercial no estado do Rio de Janeiro

*Risk assessment of human contamination by Zn, Cu, Mn, Fe through consumption of farmed mussels from Rio de Janeiro State, Brazil*

Lino, A. S.; Galvão, P. M. A.; Longo, R. T. L.; Torres, J. P. M.; Meire, R. O.; Pizzochero, A. C.; Botaro, D.; Malm, O.

Os efluentes domésticos, de indústrias ou de minerações são as principais fontes de metais pesados para os ecossistemas aquáticos, estando principalmente associados ao material particulado em suspensão. Os moluscos bivalves, por serem sedentários e apresentarem hábito alimentar filtrador, se mostram como um bom biomonitor, podendo acumular metais em seus tecidos. A maricultura de mexilhões é o cultivo desses organismos nos seus habitats naturais, geralmente com objetivos comerciais vem crescendo a uma taxa muito elevada. O consumo humano de bivalves com concentrações de metais acima do limite determinado pela World and Health Organization (WHO) pode causar danos à saúde pública. Zinco (Zn), Cobre (Cu), Manganês (Mn) e Ferro (Fe), apesar de desempenharem funções biológicas, quando ingeridos em altas concentrações, causam sérios riscos à biota e ao homem, podendo, em certos casos, provocar a morte. No Estado do Rio de Janeiro (RJ), o mexilhão *Perna perna* L. é cultivado na Baía de Sepetiba (BS), Baía de Ilha Grande (BIG), Baía de Guanabara (BG) e Arraial do Cabo (AC), possibilitando, assim, um estudo de monitoração que abrange diferentes regiões do RJ. Com o objetivo de verificar se os mexilhões *P. perna* L. cultivados na BS, AC, BG e BIG estavam com concentrações de Zn, Cu, Mn e Fe abaixo do máximo permitido pela WHO para o consumo humano, foram coletados os bivalves dos locais citados acima no final das estações de verão e inverno de 2009. Os metais foram extraídos do tecido dos bivalves adicionando-se uma mistura ácida de HNO<sub>3</sub> + HCl (3:1) e as concentrações determinadas por espectrometria de absorção atômica por chama (AA240FS-Varian) sendo expressas em função do peso úmido (ug/g). Junto ao procedimento de extração e determinação da concentração dos metais nas amostras foi concomitantemente utilizado material certificado de referência (NIST-2976) para fins de controle de qualidade. As concentrações de Zn, Cu, Mn e Fe verificadas nos mexilhões estavam abaixo do limite de ingestão determinado pela WHO (Zn = 300 µg/kg/dia; Cu = 10 µg/kg/dia; Mn = 60 µg/kg/dia e Fe = 800 µg/kg/dia). Assumindo-se as maiores concentrações de metais encontradas nos mexilhões e considerando-se a massa úmida deles

igual a 6g, as cargas encontradas foram: Zn = 83 µg; Cu = 2 µg; Mn = 41 µg e Fe = 768 µg. Portanto, uma pessoa de 70 kg poderia consumir até 72 mexilhões por dia sem riscos, considerando-se apenas a contaminação por esses metais.

Agradecimentos: Projeto CNPq/Mapa/SDA 577906/2008-9 Edital 64.

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica "Carlos Chagas Filho", Laboratório de Radioisótopos "Eduardo Penna Franca"  
Av. Carlos Chagas Filho, 373, CEP 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.  
E-mail: adan\_lino@hotmail.com

### Caracterização de antígenos de *Neospora caninum* para produção de insumos com valor diagnóstico, profilaxia e proteção na neosporose

*Characterization of antigenic composition of Neospora caninum for the production of diagnostic kits and vaccine protocols*

Macêdo-Júnior, A.G.; Santiago, F.M.; Silva, M.V.; Ferreira, F.B.; Cunha-Junior, J.P.; Silva, D.A.O.; Mineo, T.W.P.; Mineo, J.R.

*Neospora caninum* é um protozoário intracelular obrigatório, do filo Apicomplexa, filogeneticamente relacionado ao *Toxoplasma gondii*. Relacionado a abortamento bovino desde a década de 90, tem despertado interesse crescente de pesquisadores do mundo todo. A julgar pelo fato que o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, considera-se que o impacto dessa parasitose sobre a cadeia de produção de carne e leite nacionais apresenta importante magnitude. Vários tipos de vacinas contra *N. caninum* têm sido avaliadas, contudo a proteção conferida é parcial e dependente dos adjuvantes utilizados. O diagnóstico laboratorial da neosporose é classicamente realizado com o teste de imunofluorescência indireto, que apresenta limitações como a interpretação subjetiva do observador. Objetivando avaliar o perfil de reconhecimento antigênico em bovinos com infecção por *N. caninum*, amostras de soro foram avaliadas por Western blot (WB). Após o tratamento das amostras sorológicas com 6M de ureia a banda de 42 kDa passou a não ser reconhecida em soros de fase aguda, indicando ser um possível marcador de infecção recente da neosporose. Quando realizada análise com amostras de fase crônica da doença, houve o surgimento de proteínas de baixo peso molecular, variando entre 23-29 kDa, reconhecidas por anticorpos de alta avidéz. Esses dados podem indicar que proteínas de baixo peso molecular possuem potencial para serem utilizadas na produção de insumos como marcadores de fase crônica da doença de neosporose. Para avaliar o perfil sorológico de reação cruzada entre *N. caninum* e *T. gondii*, o soro de animais infectados com ambos os parasitos foi submetido a WB contendo antígenos solúveis de *N. caninum* (NLA), a antígeno solúvel de *T. gondii* (STAg), a antígeno secretado/excretado de *T. gondii* (ESA) e a STAg sem a presença de antígeno secretado/excretado de *T. gondii* (STAg-ESA). Por ELISA, pode ser observado que soros de animais infectados com *N. caninum* não apresentaram reatividade cruzada com ESA (IE < 1,0), mas todos os animais apresentaram IE > 1,2 quando submetidos à reação com STAg-ESA. Por WB, as mesmas amostras de soro não reconheceram proteínas de baixo peso molecular de STAg, apresentando reatividade cruzada com bandas de 80, 53, 46 e 42 kDa. Ainda avaliando-se reatividade cruzada desses animais, foram constatadas reação cruzada com proteínas de 82 kDa de ESA e 82 e 75 kDa de STAg-ESA. Assim, o presente projeto apontou alvos proteicos para a confecção de ensaios específicos para o diagnóstico, bem como protocolos seguros e eficientes de vacinação contra a neosporose bovina.