

## Metodologias in vitro como alternativa ao uso de animais em avaliações toxicológicas de produtos cosméticos

**Adriana Tiemi Yamagata**

**José de Alsimir Gomes Júnior**

**Natane Castelo Branco Duarte**

Graduandos de Farmácia, Universidade de Brasília, Distrito Federal

**Izabel Cristina Rodrigues da Silva**

Professora orientadora, Universidade de Brasília, Distrito Federal

E-mail: belbiomedica@gmail.com

### Resumo

Atualmente, ensaios biológicos têm sido utilizados para avaliação da segurança de produtos cosméticos e gerado diversas discussões acerca do tema. Com o intuito de minimizar o sofrimento causado aos animais, têm-se buscado a validação de metodologias in vitro que sejam eficazes na determinação do potencial tóxico e garantam a segurança desses produtos e correlatos. O presente trabalho tem como objetivo descrever algumas técnicas in vitro utilizadas para avaliar o potencial toxicológico de produtos cosméticos disponíveis no mercado. Ao realizar as pesquisas bibliográficas, observou-se que há diversos tipos de testes in vitro que são realizados a fim de avaliar a toxicidade de produtos cosméticos, sendo esses uma alternativa ao uso de animais para o mesmo objetivo; no entanto, verificou-se que os testes in vitro são eficazes porém pouco eficientes quando comparados aos testes in vivo e por isso os animais ainda sejam tão utilizados em laboratório. Portanto, é necessário que a comunidade científica se concentre para que sejam realizadas novas pesquisas acerca do tema, para que sejam criados novos testes com eficácia maior ou que sejam otimizados os testes já existentes, para que ao longo do tempo possa ser extinto o uso de animais para testes em laboratório garantindo a segurança dos produtos testados.

**Palavras-chave:** Testes in vitro. Cosméticos. Toxicidade sem o uso de animal

### Abstract

Actually, to access the safety of cosmetic products non-free animal assays have been used, causing several discussions about it. Trying to minimize the suffering caused to those animals, had had been sought for a validation of an in-vitro methodologies that are effective in determining the toxic potential and the safety of these products. This paper aims to describe some techniques used in vitro to evaluate the toxicological potential of cosmetic products, available in the market. During the bibliographical studies, were found that there are several kinds of in-vitro tests that could be conducted to evaluate the toxicity of cosmetics, as an alternative to the use of animals for the same purpose. However, it was found that in vitro tests are effective but inefficient when compared to in vivo tests and so the animals are still often used in the laboratory. Therefore, it is necessary that the scientific community focus for new research on this subject, so possibly brand new tests can be created, or the existing one may be improved aim the extinction of animals use and the safety of the products.

**Key-words:** In vitro assay, cosmetics, toxicity, non-animal

## Introdução

A ciência cosmética vem evoluindo muito devido à contribuição e parceria de várias áreas das ciências básicas e aplicadas, entre elas a Farmacologia, Dermatologia, Histologia, Anatomia, Fisiologia, Microbiologia, Bioquímica, Química e Física. Seus aspectos tecnológicos têm sido extraídos, muitas vezes, de outros segmentos da indústria, especialmente o farmacêutico (LEONARDI, 2008).

O Brasil tem se tornado um dos maiores investidores e consumidores de produtos cosméticos do mundo (CHIARI et al, 2012). Com isso, a cada dia surgem novas matérias-primas de diferentes origens e purezas disponíveis no mercado, e conseqüentemente aumenta a probabilidade de aparecimento de reações adversas à novas substâncias; e por isso se faz necessário que os fabricantes garantam a segurança de seus produtos (CHORILLI et al, 2009).

Não é comum os produtos cosméticos estarem associados a sérios danos à saúde; entretanto, isso não significa que produtos cosméticos sejam sempre seguros, especialmente considerando os efeitos a longo prazo. Partindo do pressuposto de que estes produtos podem ser usados extensivamente durante um amplo período de nossa vida, é extremamente necessário garantir a segurança e eficácia dos mesmos, através do controle da toxicidade do produto final e dos seus ingredientes (ANVISA, 2002).

O potencial irritante de diversos produtos e substâncias químicas de uso tópico é avaliado desde a década de 1940 por meio de experimentos com animais de laboratório. Alguns dos ensaios adotados com o objetivo de determinar o grau de irritabilidade, chamados de testes de irritação ocular ou cutânea, foram descritos inicialmente por John H. Draize, ainda hoje adotados mundialmente por órgãos oficiais. (OLIVEIRA et al, 2012).

No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) estabeleceu normas e procedimentos para o registro de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes por meio da Resolução da Diretoria Colegiada nº 79 de 2000; no qual exige que o

fabricante responsável pelo produto cosmético empregue recursos técnicos e científicos a fim de garantir a qualidade do produto para o cliente bem como cumpra com o direito do consumidor, principalmente sua saúde (ANVISA, 2000).

Após o estabelecimento da RDC nº 79/00, houve um grande avanço no que diz respeito à jurisdição do uso de animais em testes biológicos. Atualmente existem diversos órgãos que controlam o uso de animais em experimentos, como por exemplo, os comitês de ética responsáveis pela avaliação e aprovação de projetos de pesquisa com animais. O decreto nº 6.899/09 dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), estabeleceu normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, sendo criado o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA, mediante a regulamentação da Lei nº11.794/08, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais (BEDNARCZUK et al, 2010).

Os ensaios biológicos in vivo utilizados para avaliação de segurança e eficácia de produtos cosméticos tem gerado cada vez mais críticas devido ao sofrimento gerado aos animais. Diante disso, o meio científico tem buscado diversas alternativas para minimizar estes problemas, como a validação de metodologias in vitro, que sejam capazes de determinar o potencial tóxico de ingredientes presentes nos produtos cosméticos. (CHORILLI et al, 2009).

Em 1959, Russel e Burch introduziram a política dos 3 Rs (CHORILLI et al, 2009). Esse programa é denominado 3 Rs pois significa Reduction (Redução), Refinement (Refinamento) e Replacement (Substituição) da experimentação animal, e busca métodos alternativos in vitro para a realização dos testes em produtos com potencial tóxico (BEDNARCZUK et al, 2010; MOURA et al, 2012).

Com o intuito de minimizar tais discussões, têm sido criadas várias abordagens alternativas a fim de validar metodologias in vitro para determinação do potencial tóxico de ingredientes presentes nos produtos cosméticos; no entanto, os relatos de literatura mostram que tais metodologias não foram suficientemente validadas para uso, portanto a

maioria dos métodos alternativos ainda não são 100% confiáveis (WORTH eBALLS, 2002). Por isso, o objetivo dessa revisão foi analisar artigos que contivessem metodologias alternativas ao uso de animais, que poderiam ser aplicadas para avaliação da segurança de produtos cosméticos na indústria.

## **Metodologia**

Realizou-se uma revisão sistemática da literatura para pesquisar artigos contendo testes disponíveis para se averiguar segurança e eficácia de compostos cosméticos e correlatos que são livres do uso de animais. Para a pesquisa foram utilizados as plataformas: Pubmed, Lilacs e Medline. Como critério de inclusão o artigo deveria ser em português ou em inglês, ser do ano de 2000 à 2013 e não utilizar animais na metodologia apresentada.

Foram utilizadas as seguintes palavras-chave: pele artificial, artificial skin, potencial de irritação ocular, eyeirritationin-vitroskinsensitization, irritation, sensibilidade pele irritação ,methodin vitro irritationandsensitization , métodos in vitro para testes em cosméticos ,phototoxicityin-vitrophotosafetyin vitro, photosafety , teste de fototoxicidade, teste de atividade mutagênica e genotoxicitytestingcosmetics. Foi utilizado o conector AND para todas as palavras chave.

## **Resultados e Discussão**

### **1) Teste de irritação e sensibilidade da pele**

O teste padrão para avaliar o potencial de irritabilidade de um composto em animais foi publicado por Draize et al. (1944) e o protocolo do teste permanece inalterado em sua essência (CHIARI et al, 2012; BEDNARCZUK et al, 2010; MOURA et al 2012). No entanto, o modelo descrito por ele utiliza animais vivos que são submetidos a testes com produtos cosméticos a fim de obter resultados que avaliem o grau de irritabilidade e

corrosão na pele (CHORILLI et al, 2009). Com o intuito de manter o grau de precisão dos testes in vivo, vários pesquisadores buscaram métodos alternativos que fossem eficazes tanto quanto em modelos in vivo. Vários métodos in vitro foram desenvolvidos até os dias atuais (CHORILLI et al, 2009; CHIARI et al, 2012).

No trabalho de Eun e Suh (2000) foi afirmado que embora a maioria dos modelos in vitro para verificação de irritação cutânea apresente grande número de estruturas celulares da pele humana, como os fibroblastos da derme e os queratinócitos da epiderme, eles não contêm outros tipos de células que estão envolvidas no mecanismo de inflamação da pele in vivo, como vasos sangüíneos endoteliais e células inflamatórias, o que dificulta o emprego destes métodos em substituição ao teste de Draize.

Entre os métodos utilizados para verificação in vitro de irritação da pele em cosméticos, vários artigos têm realizado estudos baseados em duas técnicas: o TER™ e o EPISKIN™. Essas duas técnicas são certificadas pelo Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos –ECVAM- (SPIELMANN et al, 2007).

No TER, a substância ou produto a ser testado é aplicado durante 24 horas em discos de epiderme de ratos. Tais discos são preparados a partir da pele dorsal de animais sacrificados. A pele é colocada sobre a extremidade de um tubo de politetrafluoroetileno, com o cuidado de garantir que a superfície epidérmica esteja em contato com o tubo. A pele é fixada na extremidade do tubo com borracha e elimina-se o tecido em excesso. Para cada substância a ser testada, são utilizados três discos de pele da epiderme de ratos. A substância teste é então removida por lavagem com jato de água (até 30°C). Antes de medir a TER, adiciona-se etanol 70%, com posterior hidratação com solução de sulfato de magnésio (154mM). Embora a concentração de álcool utilizada seja muito alta e com possibilidade de agredir a pele, ele é adicionado com o objetivo de reduzir a tensão superficial. A TER é então medida usando uma corrente alternativa de baixa voltagem, sendo os eletrodos colocados de cada lado do disco de pele para medida da resistência elétrica em KW/disco de pele. Identifica-se se um material é corrosivo pela sua capacidade em danificar a integridade do estrato córneo e da barreira funcional da pele. Se o valor de

TER for  $\leq 5$  KW, a substância teste é corrosiva. Se TER for  $\geq 5$  KW, a substância não é corrosiva (CHORILLI et al, 2009).

Atualmente, no teste EPISKIN™, a substância ou produto acabado é aplicado topicamente por mais de 4 horas num modelo de cultura de tecido, composto por epiderme e estrato córneo funcional. Identificam-se os materiais corrosivos pela capacidade de diminuição na viabilidade das células abaixo de níveis definidos em períodos de tempo específicos (CHORILLI et al, 2009). A viabilidade das células é avaliada pela medida da atividade mitocondrial, através de corante MTT (3-(4,5 dimethylthiazole-2yl)-2,5 diphenyltetrazoliumbromide) que forma um precipitado azul (formazan) sobre as células viáveis, o qual é quantificado por espectrofotometria em comprimento de onda entre 545 e 595 nm. O controle negativo do valor de densidade óptica representa 100% de viabilidade celular. Os valores obtidos para cada amostra podem ser usados para calcular uma porcentagem de viabilidade em relação ao controle negativo (STITZEL et al, 2002).

Nos anos 2002 a 2004, o protocolo de testes in vitro EPISKIN® foi desenvolvido e otimizado (KANDAROVA et al, 2005). Após a recomendação do Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos (ECVAM) em melhorar os testes in vitro para que pudessem substituir testes in vivo, foi protocolado que esse teste deveria utilizar pele humana reconstituída, no qual fosse constituído de células epiteliais (queratinócitos, melanócitos) para que o teste possa ser avaliado e validado a fim de obter resultados mais seguros (SPIELMANN et al, 2007).

## **2) Uso de pele artificial para ensaios in vitro em cosméticos**

O uso de pele artificial pode ser uma ótima alternativa a ensaios biológicos que utilizam animais para testar diversos tipos de irritação da pele, fototoxicidade e também genotoxicidade (HU, 2009). O desenvolvimento do modelo de pele humana deve permitir que ensaios in vitro de sensibilização possam ser utilizados para realizar testes de produtos cosméticos e farmacêuticos já acabados (MCKIM et al, 2012).

Este tipo de pele artificial oferece várias vantagens quando comparadas a métodos que utilizam apenas culturas em monocamadas de queratinócitos, pois nele é possível testar componentes com baixa solubilidade em água, além de que suas respostas à irritação são bem mais similares a respostas in vivo (MACNEIL, 2007).

Pesquisa realizada com um modelo de pele humana (EpiDerm 3D), avaliou o seu potencial para utilização em testes de genotoxicidade em substituição aos ensaios de genotoxicidade em animais. O modelo possui 200 construções de tecido, que são equivalentes a 0,64 cm<sup>2</sup> de pele humana, assemelhando-se à epiderme humana normal, foi realizado com culturas EpiDerm construídas utilizando prepúcio derivado de queratinócitos epidérmicos humanos a partir de quatro doadores diferentes. Os resultados foram bastante promissores, portanto esse método pode fornecer um sistema biologicamente mais relevante do que os outros métodos in vitro usados atualmente (HU, 2009).

Pesquisas realizadas com as peles do modelo MatTek e SkinEthic. O sistema foi testado avaliando produtos químicos que estão associados com a fabricação de dispositivos médicos. Em todos os casos, os modelos de pele humana foram melhores que o modelo in vitro de queratinócito humano, que utiliza a célula HaCaT, previamente avaliada. Este estudo demonstrou que, utilizando modelos de pele humana reconstruída, é possível avaliar extratos não polares a partir de dispositivos médicos e produtos acabados de baixa solubilidade (MCKIM et al, 2012).

### **3) Teste de irritação ocular**

Alguns ensaios in vitro são sugeridos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos e podem ser utilizados para fornecer informações a respeito da segurança do produto em nível ocular. (CHIARI et al, 2012). Como há mais de um mecanismo de irritação ocular, vários grupos de pesquisadores propõem a utilização de métodos alternativos in vitro para a determinação

da irritabilidade oftálmica, tais como o teste de membrana cório-alantóide do ovo de galinha (HET-CAM) e ensaio de permeabilidade e opacidade corneal bovina (BCOP) (CHORILLiet al, 2009). Consequências graves podem resultar da irritação ocular, incluindo danos permanentes nos olhos, daí a importância da realização de testes prévios ao uso humano (GRINDONet al,2008).

O objetivo do **HET-CAM** é avaliarsemi-quantitativamente o potencial irritante de um produto sobre a Membrana Cório-Alantóide de ovo embrionado de galinha, no décimo dia de incubação(ANVISA, 2013). Uma pesquisa realizada utilizou 4 ovos fertilizados de galinha da raça Leghorn, livres de patógenos específicos, por produto testado. No décimo dia de incubação foi removida a casca do ovo ao redor da câmara de ar, evidenciando, assim, a membrana da casca. Esta foi removida cuidadosamente, e a membrana cório-alantoide foi exposta, sendo aplicados nesta última 300 µL do produto. Depois de 20 segundos de contato, o produto foi removido, lavando-se a membrana cório-alantoide com solução salina isotônica a 37 °C. Durante 5 minutos, a membrana foi examinada e as reações fisiológicas observadas e graduadas. O ensaio apresentou 80% de precisão (OLIVEIRAet al,2012).

O objetivo do **BCOP** é avaliar quantitativamente o potencial irritante de um produto ou de uma substância química após aplicação sobre a córnea isolada de bezerro. (ANVISA, 2013). O ensaio é baseado na medida da opacidade após o contato com o produto teste, que é realizada com o auxílio de um opacitômetro, e baseia-se também na medida da permeabilidade da córnea de bezerro, realizada conforme o tempo de contato, adicionando fluoresceína. Obtém-se então uma escala que considera os fenômenos observados (ANVISA,2013).

Os olhos bovinos são colhidos logo após a morte do animal, e colocados em solução salina fria. As córneas são cuidadosamente examinadas a fim de selecionar aquelas que não têm nenhum tipo de lesão, e estas são colocados na câmara de BCOP especial juntamente com o meio essencial mínimo (MEM) que permanece em contato com o epitélio e endotélio da córnea. Após incubação durante 1 hora a 32 ° C, uma leitura



inicial da opacidade (pré-teste) é realizada utilizando opacitômetro. O ensaio de permeabilidade é feito através da medição da passagem do marcador através de fluoresceína da córnea. Uma média da amostra é feita a partir da câmara posterior e medida espectrofotometricamente (490 nm) para determinar a quantidade de fluoresceína disponível. Diferentes valores de densidades ópticas são medidas pela quantidade de fluoresceína que permeia através da córnea e acumula na câmara posterior. A intensidade da resposta aumenta com a quantidade de fluoresceína através da córnea (CAZEDEY et al, 2009).

O BCOP oferece diversas vantagens, como a redução do tempo de ensaio e baixo custo, além de proporcionar a avaliação histológica de tecido da córnea, e a quantificação da permeabilidade. É o primeiro método alternativo cientificamente validado para ser usado como um teste para a segurança dos olhos pelas agências reguladoras dos EUA (CAZEDEY et al, 2009).

#### **4) Testes de Fototoxicidade**

A fototoxicidade pode ser definida como uma reação tóxica sistema ou tópica de químicos, que pode afetar tecidos como olhos ou mucosas, e ocorre após exposição a luz natural ou artificial. Compostos fototóxicos podem ser encontrados em diversos produtos farmacêuticos como cosméticos, estes compostos quando excitados pela radiação ultravioleta (UV), pode provocar irritação, alergia e/ou genotoxicidade. Por causa da proibição de testes de cosméticos em animais, a utilização de testes de fotosegurança in-vitro como o teste de absorção do vermelho neutro ou o de espécies reativas de oxigênio podem ser de grande valia para informações quanto ao perfil fotoquímico dos compostos testados. (ONOUE et al, 2013).

### 6.1) 3T3 teste de fototoxicidade de absorção do vermelho neutro (3T3 Neutral RedUptaketest – 3T3 NRU PT).

Este teste in-vitro já foi descrito pela Economic, co-operation, and development (OECD). Fibroblastos Balb/C 3T3 são cultivadas em cultura por 24 h até formação de confluência, e então inoculadas em uma nova cultura para o teste do composto, este teste deve ser feito em várias concentrações do composto, as placas controle são mantidas em condições escuras e as outras placas são exposta a 5 J/cm<sup>2</sup> de radiação UVA. Após uma hora o meio de tratamento é repostado por um meio novo e então após 24 h de incubação a viabilidade celular é determinada pela absorção do vermelho neutro por 3 h. Esta absorção é mensurada em 540nm. Após os testes se calcula o fator foto irritante (photoirritation Factor - PIF) como se segue: (EUROPEAN COMMUNITIES, 2008).

$$PIF = \frac{IC_{50}(\text{abstenção de radiação UV})}{IC_{50}(\text{presença de radiação UV})}$$

Nesta equação IC<sub>50</sub> é a concentração do composto que diminuiu a viabilidade celular em 50% quando comparadas as células controles. PIF ≥ 2 são considerados como compostos possivelmente fototóxicos.: (EUROPEAN COMMUNITIES, 2008).

Em estudos de S. Onoue testando o método 3T3 NRU PT com 51 químicos com conhecida fototoxicidade ou não, sendo estes 33 cosméticos e 18 não-cosméticos, conseguiu uma predição de sensibilidade e especificidade, para casos positivos e negativos, de respectivamente 79.4%, 100%, 100% e 70.8%. (ONOU E et al, 2013).

### 5) Testes de espécies reativas de oxigênio

O teste de espécies reativas de oxigênio (ERO's) foi desenvolvido para se ter uma ideia da reatividade a luz, de substâncias farmacêuticas. O princípios do teste de ERO's é

de encontrar reações fotoquímicas do tipo I ou do tipo II, quando estas substâncias são expostas à luz do sol. (ONOU e TSUDA, 2006).

Reação do tipo I, é quando o elétron ou o hidrogênio transferem a energia da absorção da radiação solar em espécies radicalares. E as reações do tipo II transferem essa energia da molécula excitada para o oxigênio ou para outra biomolécula. Essas reações fotoquímicas podem dar origem a ERO's como oxigênios singletes e superóxidos, e estes podem ser mediadores da fototoxicidade da substância. (ONOU e TSUDA, 2006).

A radiação deste teste de ERO's deve ser similar ao espectro de luz solar, as amostras devem estar a 25°C com uma irradiação de ca 2.0 mW/cm<sup>2</sup>, este ensaio é feito tanto para a detecção da formação de oxigênios singletes quanto os superóxidos. Para monitorar a geração de oxigênios singletes as amostras devem conter o composto que está sendo testado e o imidazol que trabalha como um acceptor seletivo de ERO's, a absorção é mensurada na faixa de 440 nm. Para a determinação de superóxidos o composto testado e o nitrobluetetrazolium são colocados juntos ao meio e a absorção mensurados na faixa de 560nm. (ONOU et al, 2013).

Já foi demonstrado uma reprodutibilidade Inter laboratorial do teste de ERO's de predição de compostos fototóxicos e não fototóxicos de 100% e 70% respectivamente, e a predição positiva e negativa para 3 laboratórios diferentes onde alcançou-se 75.9% – 91.7% e 100% respectivamente.(ONOU e TSUDA, 2006). Em outro teste foi utilizando esta técnica conseguiu uma predição de 59% entre 34 substâncias conhecidas por serem fototóxicas, e este também discute que a concentração neste teste é muito importante, pois existem substâncias que em pequenas concentrações não suficientes para se conseguir mensurar os ERO's.(ONOU et al, 2013).

## **6) Testes de genotoxicidade**

Os testes de mutações do material genético podem ser vistos em diversas esferas, como ao nível do gene, em quebras de cromossomos ou rearranjo (clastogenia), e uma

aberração no número dos cromossomos. Devido a esta extensa faixas de mutações é difícil para um único teste poder detectar todas elas, por isso o Comitê científico para a segurança do consumidor (ScientificCommitteeonConsumerSafety - SCCS, mantido pela EuropeanComission), optou por mais de um teste para garantir que o produto testado é ou não genotóxico. (SCCP, 2009).

A SCCS recomenda 2 testes para mutação de genes (teste de reversão da mutação da bacterias– Bacteriareversedmutationassay“Ames” e o teste de mutação genica em células de mamíferos – in vitro), um teste utilizando micronúcleos, in vitro (micronucleustest –MNT) para se prever clastogenia e aneugenia.(SCCP, 2009).

### **6.1) Teste de reversão da mutação de bactérias – Ames**

Para este teste deve ser utilizado cepas de Salmonellatyphimurium e E. coli, estas cepas são dependentes de aminoácidos e na falta de uma fonte de histidina, as células dessas cepas não podem crescer na forma de colônias. Se houver algum crescimento em placa significa que houve uma reversão da mutação, essa reversão pode ser espontânea ou induzida com a substância teste se a diferença das colônias testes para o controle for de  $\leq 1.6x$  sem aparente curva dose resposta o resultado deste teste deve ser negativo, se for  $>1.6x \leq 1.9x$  deve ser considerado indeterminado e  $\geq 2.0$  deve ser considerado como sendo o testado uma substância com potencial mutagênico.(KIRKLAND, 2005).

Kirkland et al, testou 541 conhecidos carcinógenos e 318 conhecidos não carcinógenos em roedores, e deste ele obteve com o Ames uma sensibilidade de 58.8% em predizer a mutagênicidade destes compostos e uma especificidade de 73.9%. (OECD, 2007).

## **6.2) Teste de mutação genica em células de mamíferos – in vitro**

Este teste tem o propósito de indicar aberrações in vitro no cromossomo ou na cromatina em células somáticas de mamíferos, quando expostos a uma substância teste. A cultura é tratada após certo período com uma substância que para a mitose na fase de metáfase, fazendo com que seja possível identificar alguma aberração cromossômica.(OECD, 2007).

Em um estudo foram testados 245 conhecidos carcinógenos e 179 conhecidos não carcinógenos em roedores, e destes com o teste de mutação gênica em células de mamíferos foi conseguido uma sensibilidade e uma especificidade de 73.1% e 39.0% respectivamente. (OECD, 2007).

## **6.3) Teste in vitro de micronúcleos– NMT**

O teste in vitro de micronúcleos serve para detectar micronúcleos no citoplasma ou em células em interfase. Estes micronúcleos se originam de fragmentos de cromossomos ou de todo o cromossomo que não foi capaz de migrar do polo durante a anáfase. Este teste detecta a formação de micronúcleos após exposição a substâncias eugênicas e clastogênicas, através de testes citoquímicos.(KIRKLAND, 2005).

Em estudo foram testados 89 conhecidos carcinógenos de roedores e 70 conhecidos não carcinógenos a sensibilidade e a especificidade foram respectivamente de 78.7% e 30.8%. (KIRKLAND, 2005).

## **6.4) Especificações para teste de genotoxicidade.**

De acordo com os requerimentos do SCCS o teste com células de mamíferos é utilizado quando o teste de Ames e o NMT derem negativos, se este terceiro confirmar a negatividade de genotoxicidade não serão necessários testes adicionais. Estudos anteriores já demonstraram que o uso destas 3 metodologias juntas

tem uma sensibilidade de 90.7% na detecção de carcinógenos conhecidos. (KIRKLAND, 2005).

## Conclusão

A utilização de modelos *in vitro* em substituição ao uso de animais para pesquisas em cosméticos é uma alternativa que está de acordo com a tendência a ser adotada mundialmente, evitando, assim, a dor e o desconforto de animais experimentais. Porém, ainda há dificuldades na avaliação de riscos toxicológicos dos cosméticos por não existir um único teste capaz de substituir os modelos animais, tornando-se necessário a realização de uma série de testes que se complementem para que seja possível obter os mesmos resultados alcançados em relação aos modelos *in vivo*. Por isso, faz-se necessário a realização de estudos para a criação e validação de novos testes que possam garantir a segurança dos produtos cosméticos de uma forma mais eficaz.

## Referências bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para Avaliação de produtos cosméticos.** [Acesso em 25 out. 2013]. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/html/pag05.htm>.>

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RDC ANVISA nº 215,/05. **Aprova o regulamento técnico listas de substâncias que os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes não devem conter exceto nas condições e com as restrições**

**estabelecidas, que consta como anexo e faz parte da presente Resolução.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 jul. 2005. Seção 1, p.42-5.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RDC ANVISA nº 79/00. **Estabelece normas e procedimentos para registro de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e adota a definição de produto cosmético.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 31 ago. 2000. Seção 1, p.34.

CAZEDEY, E.C.L. *et al.* **Corrositex<sup>®</sup>, BCOP and HET-CAM as alternative methods to animal experimentation.** São Paulo, Brasil. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* v. 45, n. 4, out./dez., 2009. [Acesso em 25 nov. 2013]. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-82502009000400021&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-82502009000400021&script=sci_arttext)>.

CHIARI, B. G. *et al.* **Estudo da segurança de cosméticos: presente e futuro.** *Rev.Ciênc. Farm. Básica Apl.*v.33,. n. 3,2012. [Acesso em 20 nov. 2013]. Disponível em <[http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewFile/2161/1251](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/2161/1251)>.

CHORILLI, M. *et al.* **Ensaio biológicos para avaliação de segurança de produtos cosméticos.** *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* v. 30, n. 1, 2009. [Acesso em 20 nov. 2013]. Disponível em <[http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewFile/869/768](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/869/768)>.

DRAIZE, J.H. *et al.* **Methods for study of irritation and toxicity substances applied to the skin and mucous membranes.** *J.Pharmacol. Exp. Ther.* v. 82, 1944.[Acesso em 20 nov. 2013]. Disponível em <<http://jpet.aspetjournals.org/content/82/3/377.full.pdf>>.

EUN, H.C.; SUH, D.H. **Comprehensive outlook of *in vitro* tests for assessing skin irritancy as alternatives to draize tests.** *J.Dermatol.Sci.v.* 24, 2000. [Acesso em 25 nov. 2013]. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11064242>>.

GRINDON, C. *et al.* **An Integrated Decision-tree Testing Strategy for Eye Irritation with Respect to the Requirements of the EU REACH Legislation.** *ATLA.* v.36, 2008. [Acesso em 25 nov. 2013]. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19025335>>.

HU, T.*et al.* **Intralaboratory and interlaboratory evaluation of the epiderm 3D human reconstructed skin micronucleus (RSMN) assay.** *Mutat. Res. Gen. Tox. and Env. Mut.v.* 673, n. 2, 2009. [Acesso em 25 nov. 2013]. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571809000060>>.

KANDAROVA, H.*et al.* **EpiDerm Skin Irritation Test protocol — Ass - assessment of the performance of the optimised test.** *ATLA.* v. 33, 2005. [Acesso em 20 nov. 2013]. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16185104>>.

KIRKLAND, D. *et al.* **Evaluation of the ability of a battery of three *in vitro* genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens: I. Sensitivity, specificity and relative predictivity.** *Mutat. Res.v.* 584, 2005. [Acesso em 03 dez. 2013]. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15979392>>.

LEONARDI, G.R. **Cosmetologia aplicada.** Livraria e Editora Santa Izabel Ltda. 2º Ed. São Paulo. 2008. P.2-11.



MACNEIL, S. **Progress and opportunitis for tissue-engineered skin.** *Rev.Nature.v.* 445, 2007. [Acesso em 03 dez. 2013]. Disponível em <<http://www.nature.com/nature/journal/v445/n7130/full/nature05664.html>>.

MCKIM, J.M; KELLER, D.J; GORSKI, J.R. **An in vitro method for detecting chemical sensitization using human reconstructed skin models and its applicability to cosmetic, pharmaceutical, and medical device safety testing.***Cutan. Ocul. Toxicol.* v. 31, n. 4, 2012. [Acesso em 25 nov. 2013]. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22494060>>.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD )(1996), Education at a Glance, OECD, Paris. **Guidelines for the Testing of Chemicals: Genotoxicity, Revised and new guidelines adopted ofcosmeticingredientswithout animal experiments.**

OLIVEIRA, A.G.L; SILVA, R.S; ALVES, E.N; PRESGRAVE, R.F; PRESGRAVE, O.A.F; DELGADO, I.F. **Ensaio da membrana cório-alantoide (HET-CAM e CAM-TBS): alternativas para a avaliação toxicológica de produtos com baixo potencial de irritação ocular.** *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* São Paulo, v. 71, 2012. [Acesso em 03 dez. 2013]. Disponível em <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/??IisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=680442&indexSearch=ID>>.

ONOUÉ, S; TSUDA, Y. **Analyticalstudiesonthepredictionofphotosensitive/ phototoxic potential of pharmaceutical substances.** *Rev. Pharm. Res.* v. 23, 2006. [ Acesso em 20 nov. 2013]. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16308671>>.

ONOUE, S. *et al.* **Establishment and intra-/interlaboratory validation of a standard protocol of reactive oxygen species assay for chemical photo safety evaluation.** *J. Appl. Toxicol.* v. 33, 2013. [Acesso em 03 dez. 2013]. Disponível em <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM337572.pdf>>.

ONOUE, S.*et al.* **Non-animal photo safety assessment approaches for cosmetics based on the photochemical and photobiochemic al properties.** *Toxicology in Vitro.* v. 27, 2013.

SCCP/1212/09: Position statement on genotoxicity / mutagenicity testing of cosmetic ingredients without animal experiments, adopted by the SCCP during the 19th plenary meeting of 21 January 2009.

WORTH, A; BALLS, M. **The principles and procedures of validation.** *ATLA.* v. 30, 2002. [Acesso em 20 nov. 2013]. Disponível em <[http://www.siop.org/\\_Principles/principlesdefault.aspx](http://www.siop.org/_Principles/principlesdefault.aspx)>.

## **Pesquisa de cistos de protozoários e ovos de helmintos em cédulas de dinheiro na cidade do Gama-DF**

**Narayane Sales Aguiar**

Graduada em Biomedicina na Universidade Católica de Brasília (UCB)

**Thaís Alves da Costa Lamounier**

Universidade Católica de Brasília (UCB)

### **Resumo**

As doenças infecciosas parasitárias apesar de apresentarem uma fácil profilaxia são consideradas um grave problema de saúde pública. Estas possuem relação direta com os fatores socioeconômicos e hábitos culturais de uma população e são facilmente disseminadas de um local para outro. Dentre os principais meios de disseminação como água, alimentos, insetos e poeira, a transmissão interpessoal e o repasse de objetos como as cédulas de dinheiro torna-se um importante veículo de contaminação. O objetivo deste trabalho foi realizar a pesquisa de cistos de protozoários e ovos de helmintos em cédulas de dinheiro na cidade do Gama - DF e determinar a possibilidade de disseminação de parasitoses intestinais por meio do manuseio das cédulas. Foram coletadas 120 cédulas de dinheiro em vários locais da cidade onde há uma grande circulação de pessoas e conseqüentemente elevada rotatividade. Após análise das cédulas coletadas verificou-se a presença de cistos de protozoários, ovos de helmintos e outros micro-organismos em 33 cédulas, o que corresponde a 27,5% do total das cédulas avaliadas. Embora a grande maioria dos micro-organismos encontrados seja considerada não patogênica existe a possibilidade real da contaminação do dinheiro com material fecal provavelmente por falta de higiene adequada das mãos.

**Palavras-chave:** Parasitoses. Cédulas de dinheiro. Protozoários. Helmintos.

### **Abstract**

The parasitic infectious diseases despite having an easy prophylaxis, are considered a serious public health problem. Those have a direct relationship with socioeconomic factors and cultural habits of a population, being spread from one location to another. The principal dissemination vehicles are water, food, insects, dust and especially by interpersonal transmission or transfer of objects such as paper money. The objective of this research was to evaluate the presence of helminth eggs and protozoan cysts in paper money in the city of Gama, DF and define a possible vehicle for the spread of intestinal parasites. We collected 120 banknotes in various places in town where there is a large movement of people and consequently high turnover of money. After the analysis of the collected notes, it was found in 120 notes the presence of cysts of protozoa, helminths and eggs of other microorganisms in 33 banknotes, which corresponds to 27.5% of banknotes evaluated. Although the vast majority of microorganisms found were considered nonpathogenic exists a real possibility that the money was contaminated with fecal material probably due to lack of proper hand hygiene.

**Keywords:** Parasites. Paper money. Protozoa. Helminths.

## Introdução

Os micro-organismos e os parasitas estão presentes nos animais, ar, alimentos, solo e água, com a possibilidade de serem transportados por objetos que entram em contato com as pessoas, como por exemplo, o dinheiro. As cédulas de dinheiro por representarem um dos objetos de grande rotatividade entre a população e pelo fato de passarem um longo período em circulação até serem renovadas, podem ser consideradas um reservatório de parasitas, bactérias e fungos. Quando associadas ao manuseio com pouca ou nenhuma higiene das mãos, podem ameaçar o bem-estar do indivíduo causando infecções. (KRANZ, 2010)

De acordo com Gasparini e Portella (2004) a frequência de parasitoses possui relação direta com as condições socioeconômicas do país. O mesmo foi observado por Nolla e Cantos (2005) que verificaram a prevalência de parasitoses variando de acordo com a região estudada e a relação entre às classes menos favorecidas. Estes fatores estão relacionados à falta de saneamento físico das áreas rurais, assistência médica, grau de escolaridade, hábitos de higiene, faixa etária, clima, estado nutricional do hospedeiro, contaminação do solo e da água, manipulação imprópria de alimentos, disponibilidade de vetores e contato interpessoal. (ASSIS, 2010; BRITO *et al*, 2010; FELÍCIO, 2007; FRAVET, 2010; GURGEL *et al*, 2005; MARQUES *et al*, 2005; OMS, 2011; SILVA, PARENTE ; BURGOS, 2010)

Os parasitas conservam a capacidade de infecção devido às formas de resistência desenvolvidas durante o ciclo de transmissão. Com relação às resistências parasitárias correlacionadas às diversas agressões ambientais, tornou-se necessário o estudo da relação de objetos inanimados (ou fômites) como transmissores da infecção parasitária, pois os ovos e cistos podem contaminar os objetos e permanecerem viáveis, sendo considerados focos de contaminação. De acordo com Montanholi e Gonçalves (2007), o principal modo de transmissão das enteroparasitoses são os fômites que acumulam resíduos orgânicos, ovos e cistos de parasitas e várias espécies de bactérias. Um exemplo de fômites encontrados na população são as cédulas de dinheiro, pois, devido à elevada

circulação, veiculam com mais frequência parasitas e bactérias causando graves doenças infecciosas nos humanos. (BRITO, LOPES & VELHO, 2006; ESCREMIN, 2005; PICCOLO ; GAGLIANI, 2008)

O dinheiro é considerado um instrumento indispensável à sociedade, isso o torna objeto de maior circulação entre as pessoas e verdadeiro reservatório de microrganismos. Portanto, as cédulas de dinheiro, na visão de Piccolo e Gagliani (2008) e Levai *et al* (1986), constituem um meio de transmissão de parasitas intestinais, principalmente as notas de pequeno valor, de grande rotatividade e de alta difusão entre os indivíduos. Considerando diferentes hábitos ou costumes, higiene e nível socioeconômico, a exposição destas cédulas gera um ciclo de transmissão que possui as mãos como principal veículo de contaminação, que pode ser caracterizada como problema de saúde pública. (INOCENTE ; GOMES, 2004, SOUZA et al, 2006)

As principais enteroparasitoses encontradas em cédulas de dinheiro são os helmintos como o *Ascaris lumbricoides* e a *Taenia sp.* e os protozoários como amebas, *Giardia lamblia* e *Balantidium coli*. (BRITO, LOPES ; VELHO, 2006; LEVAI *et al*, 1986; MONTANHOLI ; GONÇALVES, 2007; PICCOLO ; GAGLIANI, 2008)

### **Aspectos socioeconômicos da cidade do Gama**

A cidade do Gama ocupa, segundo a Secretaria de Estado de Planejamento do DF, uma área de 276,3 km<sup>2</sup> e segundo a Pesquisa Distrital de Amostras por Domicílios– PDAD (2011), a população urbana residente na cidade é de aproximadamente 127.121 pessoas. De acordo com as características de serviços de infraestrutura urbana, 100% da população possui coleta de lixo em suas residências, 95,6% possuem abastecimento de água pela rede geral e 95,4% apresentam esgotamento sanitário. (CODEPLAN, 2011; DISTRITO FEDERAL, 2011)

Uma vez que boas condições de saneamento refletem diretamente na melhoria da expectativa de vida, os baixos rendimentos da cidade com relação ao acesso de

conhecimento (0,942) e PIB (0,720) vão refletir diretamente no aumento de parasitoses se comparados a outras cidades satélites. Assim, com o baixo nível de educação, as parasitoses não são prevenidas e com uma baixa renda *per capita* as famílias não possuem condições de melhorias na alimentação, moradia, saúde e educação. (DISTRITO FEDERAL, 2011; DISTRITO FEDERAL, 2011)

A porcentagem referente a 27,1% ou 12.778 de pessoas residentes na cidade do Gama utilizam o setor de comércio como principal atividade remunerada por dez ou mais anos. Sendo assim, é de extrema importância a pesquisa de parasitoses em cédulas de dinheiro nesta região devido ao fato de haver uma grande circulação de dinheiro na cidade, uma vez que a principal fonte de renda gira em torno de atividade comercial. Somado a esta característica, os menores níveis de educação e PIB podem favorecer um bom parâmetro entre a relação dinheiro *versus* disseminação de enteroparasitas. (CODEPLAN, 2011; DISTRITO FEDERAL, 2011)

Desta forma, apesar de as infecções parasitárias possuírem fácil profilaxia, ainda continuam sendo negligenciadas e são consideradas um grave problema de saúde pública. A relação direta entre os fatores socioeconômicos e hábitos culturais de uma população devem ser considerados como a transmissão interpessoal ou repasse de objetos como as cédulas de dinheiro. (BUSNELLO ; TEIXEIRA-LETTIERI, 2009; BRITO, LOPES ; VELHO, 2006; ESCREMIN, 2005; GASPARINI ; PORTELLA, 2004; MONTANHOLI ; GONÇALVES, 2007; NEVES, 2005; PICCOLO ; GAGLIANI, 2008)

O objetivo deste trabalho foi realizar a pesquisa de ovos de helmintos e cistos de protozoários em cédulas de dinheiro na cidade do Gama, DF e avaliar a possibilidade de disseminação de parasitoses intestinais para os riscos do manuseio do dinheiro com relação a doenças parasitárias.

## Metodologia

O estudo foi realizado no período de março a abril de 2012, na cidade do Gama - Distrito Federal. Foram coletadas 120 cédulas, dentre as quais 60 cédulas no valor de R\$ 2,00, 30 de R\$ 5,00, 20 de R\$ 10,00, 5 de R\$ 50,00 e 5 de R\$ 100,00 em vários locais da cidade onde existe elevada circulação de pessoas e rotatividade de dinheiro, como feira livre, padaria, supermercado, restaurante e ônibus.

As cédulas foram coletadas com luvas e armazenadas individualmente em sacos plásticos para evitar contaminação de uma cédula com outra e posteriormente encaminhadas para o Laboratório de Parasitologia e Microbiologia da Universidade Católica de Brasília (UCB) – Campus I. A metodologia aplicada foi baseada segundo Levai *et al*, 1986, Nascimento *et al*, 2010 e Alves *et al*, 2010.

1. Tubos cônicos de 15 mL do tipo Falcon e cubas de vidro foram lavados primeiramente com detergente e água corrente;
2. Em seguida foram desinfetados com álcool 70% e posteriormente enxaguados com água destilada e secos à Temperatura Ambiente (TA);
3. As notas foram colocadas individualmente em cubas de vidro e imersas em 13 mL água destilada;
4. As cédulas foram lavadas cuidadosamente com o auxílio de escovas de dente novas, com cerdas macias para não danificar ou rasgar as notas. Para apoiar a lavagem, foi utilizada uma pinça, a qual foi flambada entre as lavagens para evitar contaminação;
5. Após a lavagem, as notas ficaram imersas em água destilada durante 10 minutos;
6. O líquido resultante de cada lavagem foi colocado em tubos cônicos de 15 mL do tipo Falcon para a sedimentação espontânea por um período mínimo de 24 horas;

7. Após as lavagens, as cubas de vidro foram higienizadas com água, sabão, álcool 70%, água destilada e secos à TA para a realização de cada bateria de análises. Em cada bateria eram analisadas cerca de 25 notas.
8. As escovas permaneceram no hipoclorito de um dia para o outro e posteriormente lavadas e higienizadas com álcool 70%;
9. Após 24 horas, os sedimentos originados da lavagem das notas foram centrifugados a 2.000rpm durante um minuto, visando uma melhor concentração das partículas;
10. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e o sedimento coletado com uma pipeta Pasteur estéril e colocado entre lâmina e lamínula com uma gota de lugol. As lâminas foram observadas ao microscópio óptico nas objetivas de 10x e 40x.

As cédulas foram cedidas inicialmente pelo comércio Airton Confecções e trocadas nos locais já descritos por notas de mesmo valor. Foi realizado o Controle de Qualidade de Duplo Observador para as amostras consideradas positivas.

Os resultados da análise foram registrados em forma de tabelas, gráficos e analisados a partir de dados estatísticos.

## **Resultados**

Após análise das 120 cédulas verificou-se em 33 notas a presença de cistos de protozoários, ovos de helmintos e outros microrganismos como ácaros e fungos (hifas e leveduras), o que corresponde a 27,5% do total de notas consideradas positivas.

Levando em consideração somente a presença de cistos de protozoários e ovos de helmintos que foram encontrados perante o total de 120 notas, a positividade foi de 15%, ou seja, 18 notas contaminadas.



Destas 18 amostras, o parasita enterocomensal *Endolimax nana* foi o mais prevalente na forma de cisto presente em 8 notas representando 42,10%. A ameba *Entamoeba coli* em forma de cisto foi observada em 36,84% das amostras positivas mesmo considerando as cédulas com maior e menor sujidade. Cistos de *Iodamoeba butschlii* foram encontrados em 10,52% das amostras. Em uma cédula foi visualizado um cisto de *Balantidium coli* e em outra cédula um ovo de *Ascaris lumbricoides*, resultado equivalente a 5,27% do total das cédulas positivas.

Dentre os locais estudados, a feira foi o estabelecimento onde se verificou um maior índice de contaminação parasitária em cédulas de dinheiro, seguida pelas notas coletadas nos ônibus, restaurante, supermercado e padaria. Na feira, em 22 notas coletadas 22,72% (5 notas) foram positivas para os parasitas *Endolimax nana*, *Entamoeba coli*, *Iodamoeba butschlii* e *Balantidium coli*.

Nas cédulas obtidas no ônibus, constatou-se que 18,18% (4 notas) de um total de 22 notas estavam contaminadas por *Endolimax nana* e *Entamoeba coli*. No restaurante, os parasitas *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* e *Ascaris lumbricoides* foram encontradas em 4 das 26 notas coletadas, ou seja, 15,38%. No supermercado, das 26 notas coletadas apenas 3 (11,54%) foram encontradas positivas para parasitas como *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii* e *Entamoeba coli*. A padaria foi o estabelecimento aonde foi encontrada a menor incidência de parasitas nas notas coletadas, apenas 8,33% (2 notas) das 24 notas coletadas demonstraram-se positivas.

Quanto à positividade das notas em relação ao seu valor e aspecto antes da lavagem, foi observado que das 18 notas positivas para parasitas, 9 possuíam o valor de R\$ 2,00, 7 possuíam o valor de R\$ 5,00 e 2 as eram de R\$ 10,00. Com relação ao aspecto, as notas consideradas sujas ou muito sujas foram positivas para parasitas em 55,55% das 18 positivas. Apesar de terem sido descritos na literatura não foram encontrados ovos de *Taenia sp.* e cistos de *Giardia lamblia*.

## Discussão

Os resultados obtidos por meio da análise dos materiais demonstraram a contaminação em cédulas de dinheiro e confirmam a capacidade dos micro-organismos de colonizar e sobreviver nos objetos ou fômites. As cédulas de dinheiro, objetos do presente estudo, passam a atuar como veiculadores de micro-organismos podendo ser consideradas como potenciais focos de contaminação. (RODRIGUES, NISHI ; GUIMARÃES, 2006)

Embora a cidade do Gama tenha uma rede de serviços de infraestrutura que atenda a grande parte da população, ainda assim foi evidenciada uma positividade de 15% nas notas analisadas para parasitas intestinais. Entretanto a maioria dos parasitas evidenciados é considerada comensal como cistos de *E. coli*, *E. nana* e *I. butschlii* e segundo Rey (2001) a alta prevalência destes protozoários é justificada pelo fato de serem parasitas cosmopolitas que possuem uma relação direta com fatores socioeconômicos, culturais e principalmente bons hábitos de higiene.

Outro achado nas notas positivas que pode ser considerado relevante foi à presença de um ovo de *A. lumbricoides* e um cisto de *B. coli*. Estes dois parasitas já tiveram sua patogenicidade descrita por Rey (2001), Pessôa e Martins (1988) e Neves (2005). Neste estudo não foi possível comprovar pela microscopia se o ovo de *Ascaris lumbricoides* estava ou não viável ou fértil, porém, isto não muda a questão da contaminação da nota com este helminto.

A presença de *Ascaris lumbricoides* e *Balantidium coli* são de extrema importância para a saúde pública principalmente quando são relacionados à saúde infantil. As crianças não apresentam o sistema imune totalmente desenvolvido e este tipo de infecção pode se desenvolver de forma grave ou vir a provocar atrasos no desenvolvimento intelectual, desenvolvimento físico devido à anemia, emagrecimento e até mesmo a morte. (REY, 2001)

A maior prevalência de parasitas nas notas oriundas de feira livre pode estar correlacionada com o fato de que no Brasil, a comercialização de produtos em feiras tem se tornado cada vez mais comum. Soma-se a isto o fato que os indivíduos geralmente habitam em locais desprovidos de infraestrutura básica e de que nestes locais há uma constante manipulação de dinheiro e produtos alimentícios favorecendo a contaminação por parasitas e conseqüentemente tornando o dinheiro como uma possível fonte de dispersão parasitária. (NOLLA ; CANTOS, 2005; SOARES ; CANTOS, 2005)

Outro fator que também deve ser levado em consideração é a produção de hortaliças, devido ao acondicionamento e transporte, pois pode haver a contaminação dos vegetais por meio da poeira, água contaminada e principalmente devido à manipulação dos alimentos sem luvas ou realização de adequadas técnicas de higienização. (NOLLA ; CANTOS, 2005; SOARES ; CANTOS, 2005)

No transporte público a situação é semelhante, pois há uma grande circulação de pessoas, sendo assim, a possibilidade de ocorrer a transmissão cruzada entre objeto/hospedeiro ou até mesmo objeto/objeto é bastante viável e constitui um importante fator no estabelecimento de patologias. (MURTA ; MASSARA, 2009)

Estabelecimentos como o restaurante, supermercado e padaria são hoje considerados pontos de referências comerciais para os consumidores por oferecerem uma ampla demanda de alimentos e produtos. Por esse motivo estes estabelecimentos são os principais alvos da Vigilância Sanitária que atua de maneira rigorosa de modo a minimizar os riscos de contaminação nos produtos e conseqüentemente uma infecção alimentar. (SOARES; CANTOS, 2005)

Entretanto, a presença de parasitas coletadas nas notas oriundas destes locais corrobora com as pesquisas de Picollo e Gagliani (2008), Montanholi e Gonçalves (2007), Levai *et al* (1986), Nascimento *et al* (2010) e Alves *et al* (2010) e demonstra que grande parcela da população colabora com a dispersão destes microrganismos devido a má higienização das mãos. Estes microrganismos apresentam uma grande capacidade de

resistência, uma vez que cistos de amebas conseguem resistir até 20 dias em locais não expostos ao sol e com pouca umidade e os ovos de *Ascaris lumbricoides* resistem de 4 a 6 meses quando a temperatura ambiente varia entre 20 e 30°C. (BRITO, LOPES ; VELHO, 2006; GASPARINI ; PORTELLA, 2004; PESSÔA ; MARTINS, 1988)

A relação de positividade parasitária e o aspecto das notas foram analisadas, entretanto, características de sujidade como manchas, dobras, riscos e pregas não tiveram correlação no com uma maior presença de parasitas. Foi ainda avaliada a relação parasita *versus* cédula de dinheiro de menor valor, sendo que a prevalência de parasitas principalmente em cédulas de R\$ 2,00 e R\$ 5,00 reais demonstram que estas apresentam uma maior rotatividade e conseqüentemente maior risco contaminação.

## **Conclusão**

Com os resultados obtidos no presente estudo, evidencia-se que mesmo a cidade do Gama apresentando índices satisfatórios com relação à porcentagem da população que é atendida por serviços básicos de infraestrutura, ainda possui chances de desenvolver doenças infecciosas parasitárias na comunidade com a manipulação de cédulas de dinheiro.

Embora a grande maioria dos micro-organismos encontrados seja considerada não patogênica, isto comprova que houve contaminação do dinheiro com material fecal provavelmente por falta de higiene adequada das mãos, já que o ciclo de vida dos parasitas é fecal-oral. As formas parasitárias encontradas como *Ascaris lumbricoides* e *Balantidium coli* requerem uma maior atenção, pois mesmo sendo encontradas em pequena porcentagem no presente trabalho, as mesmas podem ocasionar graves problemas de saúde, principalmente em crianças.

## Referências Bibliográficas

ALVES, M. P. *et al.* Identificação de ovos de helmintos e protozoários em papel moeda circulantes nos mercados públicos da cidade de Parnaíba, Piauí. **XII Congresso Brasileiro de Biomedicina**, Recife. [2010?]

ASSIS, E. M. de. **Prevalência de enteroparasitoses e condições sanitárias na comunidade indígena Maxakali**. 2010. 105 f. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas) - Universidade Vale do Rio Doce, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Biológicas, Governador Valadares, MG, 2010.

BRITO, F. M.; LOPES, K.; VELHO, N. C. Freqüência de ovos de helmintos e cistos de protozoários em dinheiro. **X encontro latino-americano de iniciação científica**. Universidade do Vale do Paraíba. 2006.

BRITO, L. L. *et al.* Fatores de risco para anemia por deficiência de ferro em crianças adolescentes parasitados por helmintos intestinais. **Rev. Panam. Salud Publica**, v. 14, n.6, p. 422-431, 2003.

BUSNELLO, M. I., TEIXEIRA-LETTIERI, M. Prevalência de enteroparasitas em estudantes de duas escolas de ensino fundamental. **Rev Fac Farm**. 2009; v. 51, n. 2, p. 33-35.

DISTRITO FEDERAL. I. M. D. **Coletânea de informações socioeconômicas: Região Administrativa RA II - Gama**. Disponível em: <<http://www.codeplan.df.gov.br/sites/200/216/00000200.pdf>>. Acesso em: 07 set 2011.

DISTRITO FEDERAL. CODEPLAN. **Pesquisa distrital por amostra de domicílios – Gama – PDAD 2011**.

DISTRITO FEDERAL. Governo do Distrito Federal. **Índice de Desenvolvimento Humano - Distrito Federal**. Disponível em: < [http://www.districtofederal.df.gov.br/005/00502001.asp?ttCD CHAVE=1621](http://www.districtofederal.df.gov.br/005/00502001.asp?ttCD%20CHAVE=1621)>. Acesso em: 01 set 2011.

ESCREMIN, C. Isolamento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em Telefones Públicos de Duas Localidades de Curitiba, Paraná. In: **XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos – SP**. 2005.

FELÍCIO, V. P. T. **Fatores associados à prevalência de enteroparasitoses em crianças de 0 a 4 anos do município de Patos de Minas, MG.** 2007. 73 f. Dissertação (Mestre em Promoção de Saúde)- Universidade de Franca. Franca, 2007.

FRAVET, A. M. M. F. **Qualidade da água utilizada para irrigação de hortaliças na região de Botucatu - SP e Saúde Pública.** 2006. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Irrigação e Drenagem) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

GASPARINI, E. A., PORTELLA, R. B. **Manual de parasitoses intestinais.** Rio de Janeiro: Livraria e Editora Rubio, 2004.

GURGEL, R. Q. *et al.* Creche: ambiente expositor ou protetor nas infestações por parasitas intestinais em Aracaju, SE. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 3, p. 267-269, maio/jun.2005.

INOCENTE, F. R.; GOMES, F. de R. Incidência de *Staphylococcus aureus* e de bactérias da família *Enterobacteriaceae* em cédulas de R\$ 1,00, R\$ 5,00, R\$ 10,00 e R\$ 50,00. **Revista Estudos de Biologia**, Curitiba, v. 26, n. 56, p. 21- 26, jul./set. 2004.

KRANZ, F. **Isolamento de Staphylococcus aureus, Streptococcus sp, Pseudomonas sp e de bactérias da família Enterobacteriaceae encontradas em cédulas de dinheiro circulante na cidade de Chapecó – SC.** 2010. 41 f. Dissertação (Bacharel em Farmácia) - Universidade Comunitária Da Região De Chapecó – Unochapecó. Chapeco, 2010.

LEVAI, E.V. *et al.* Pesquisa de ovos de helmintos e de cistos de protozoários em dinheiro. **Rev Saúde Públ** 1986; 20: 33-6.

MARQUES S. M. T. *et al.* Prevalência de enteroparasitoses em Concórdia, Santa Catarina, Brasil. **Parasitologia Latinoamericana.** Chile, 60, p.78–81, 2005.

MOTANHOLI, F. A. F; GONÇALVES, R. V. do V. Avaliação da infestação por agentes infecciosos e parasitários em dinheiro na cidade de Catanduva-SP. **7º Congresso Nacional e Internacional de Iniciação Científica**, Sorocaba. [2007?].

MURTA, F. L. & MASSARA, C. L. Presença de ovos de helmintos intestinais em ônibus de transporte público em Belo Horizonte – Minas Gerais, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. Vol. 38 (3): 207-212. jul.-set. 2009.

NASCIMENTO, J. H. F. *et al.* Estudo da contaminação de cédulas de dinheiro por parasitas intestinais, no Município de Itabuna, BA. **XII Congresso Brasileiro de Biomedicina**, Recife. [2010?].

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11 ed., São Paulo: Atheneu, 2005. 494 p.

NOLLA, A. C.; CANTOS, G. A. Prevalência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos, Florianópolis, SC. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 6, pp. 524-525, nov./dez. 2005.

OMS, Organização Mundial de Saúde. **Division of Control of Tropical Diseases; intestinal Parasites Control, Geographical Distribution 2006**. Disponível em: <<http://www.who.int/ctd/html/intestburtre.html>>. Acesso em: 16 de ago de 2011.

PESSÔA, S. B. & MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica**. – 11. Ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

PICCOLO, L.; GAGLIANI, L. H. Estudo da prevalência de helmintos e protozoários em notas de dinheiro (papel moeda) em circulação na Baixada Santista. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**, v.5, n.9, jul/dez, 2008.

REY, L. **Parasitologia**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RODRIGUES, A. P. da C.; NISHI, C. Y. M. & GUIMARÃES, A. T. B. Levantamento de bactérias, fungos e formas de resistência de parasitos em duas rotas de ônibus do transporte coletivo de Curitiba, Paraná. **RUBS**, Curitiba, v.2, n.2, p.24-31, abr./jun. 2006

SILVA, J. E. C.; PARENTE, B.; BURGOS, V. O. Prevalência de parasitas intestinais em crianças de 05 a 12 anos, em Nova Alvorada do Sul-MS. **Interbio**, v. 4, n. 1, 2010.

SOARES, B.; CANTOS, G. A. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 8, n. 4, p. 377-384. 2005.

SOUZA, A. C. de *et al.* Microrganismos encontrados em dinheiro brasileiro coletado em feira livre. Revista **NewsLab**, São Paulo, v. 77, p. 178-186, 2006.