



Programa de Pós Graduação em Ciências

**Coordenadoria de Controle de Doenças-CCD
Secretaria de Estado da Saúde – São Paulo/SP**

Infectologia em Saúde Pública – Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública



O meio ambiente como dispersor de resistência fúngica

DRA.MARCIA DE SOUZA CARVALHO MELHEM

Farmacêutica-Bioquímica

Pesquisadora Científica VI do Instituto Adolfo Lutz

Docente do Programa de Pós Graduação em Ciências da Secretaria Estadual da Saúde

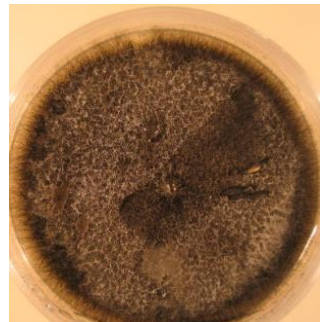
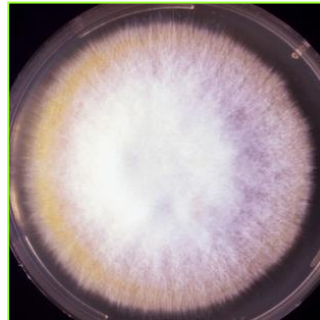
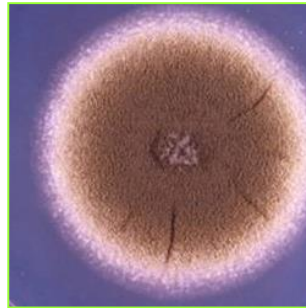
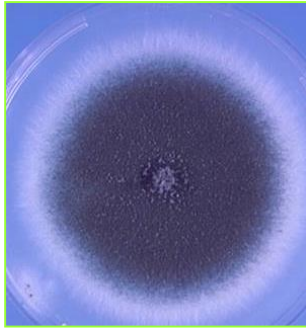
<melhemmr@uol.com.br>

Apresentação



- Fungos
- Antifúngicos
- Resistência a antifúngicos e outros compostos
- Fungos em meio ambiente
- Biofilmes por fungos
- Resistência fúngica ambiental e impacto na saúde
- Conclusões e perspectivas

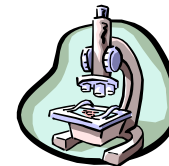
Fungos: 2 grandes grupos



Colonias com aspecto
veludo, penugem, algodão,
couro, poeira
cor única ou múltipla

**Fungos Filamentosos =
bolores = mofos**

Esporos e Filamentos

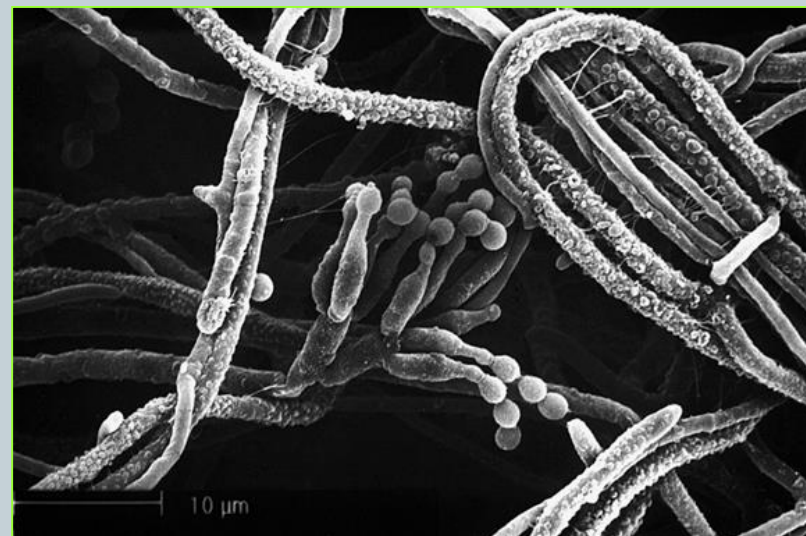


filamentos

Esporos

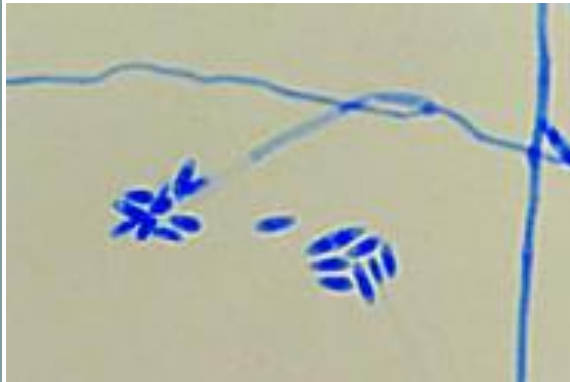
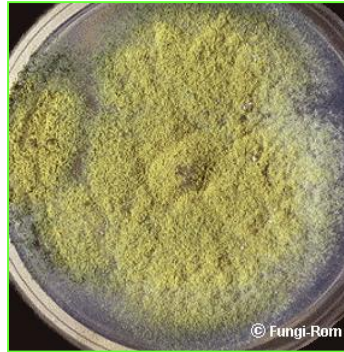
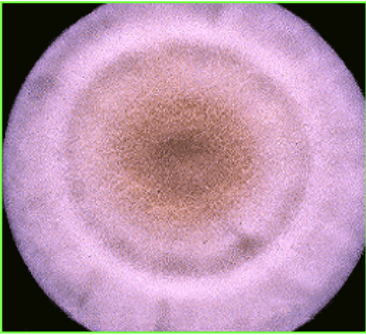


Lupa (x100)

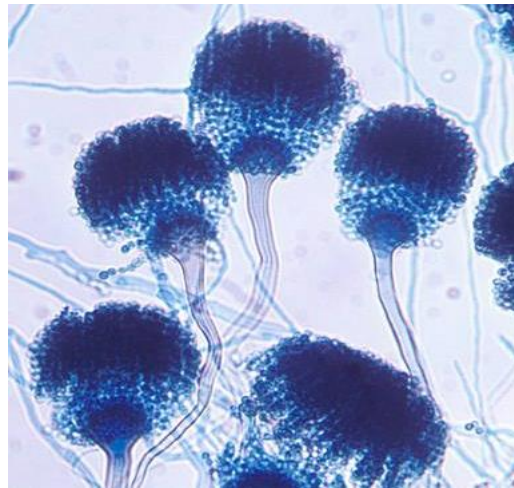


Microscópio Eletrônico (x8000)

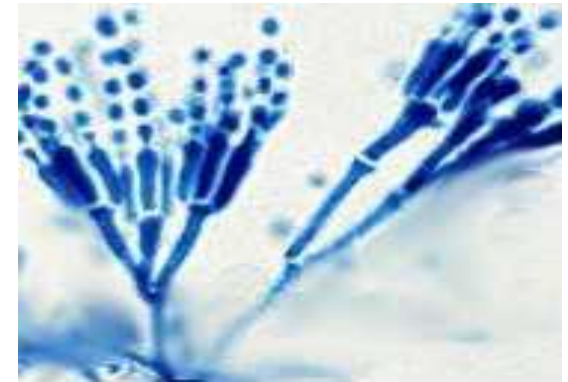
Filamentosos mais comuns em meio ambiente



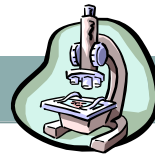
***Fusarium* spp.**



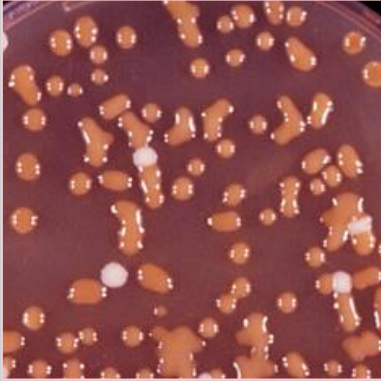
***Aspergillus* spp.**



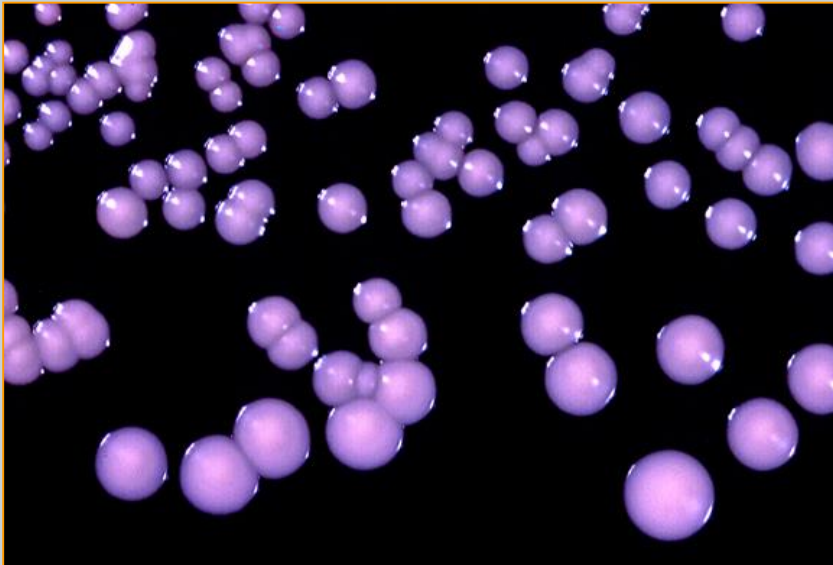
***Penicillium* spp.**



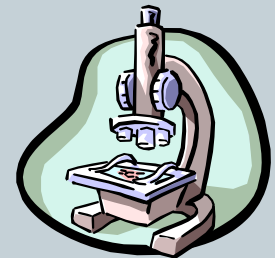
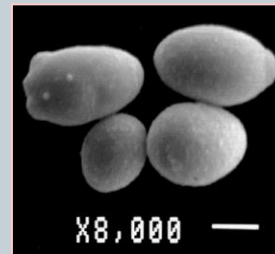
Leveduras



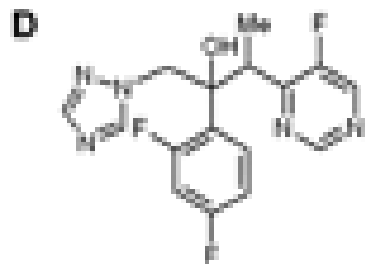
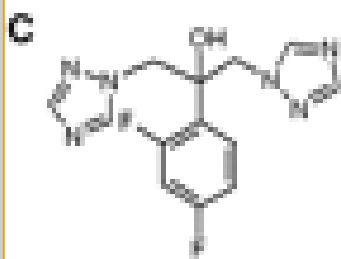
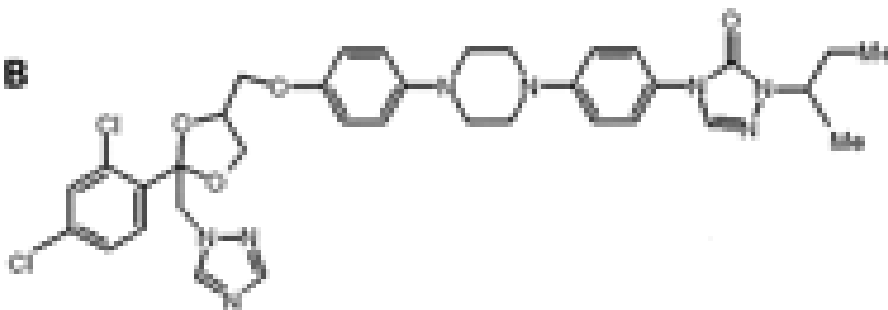
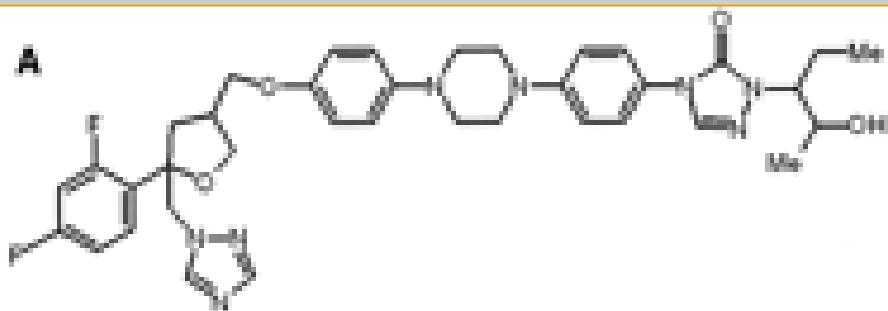
Textura/cor das colônias:
pasta, creme, gel ou muco/
branca, bege, salmão, rosa,
laranja ou vermelho



Mais comum: *Candida* spp



ANTIFÚNGICOS PRINCIPAIS



A -Posaconazol (2009 no Br)

B- Itraconazol (1990)

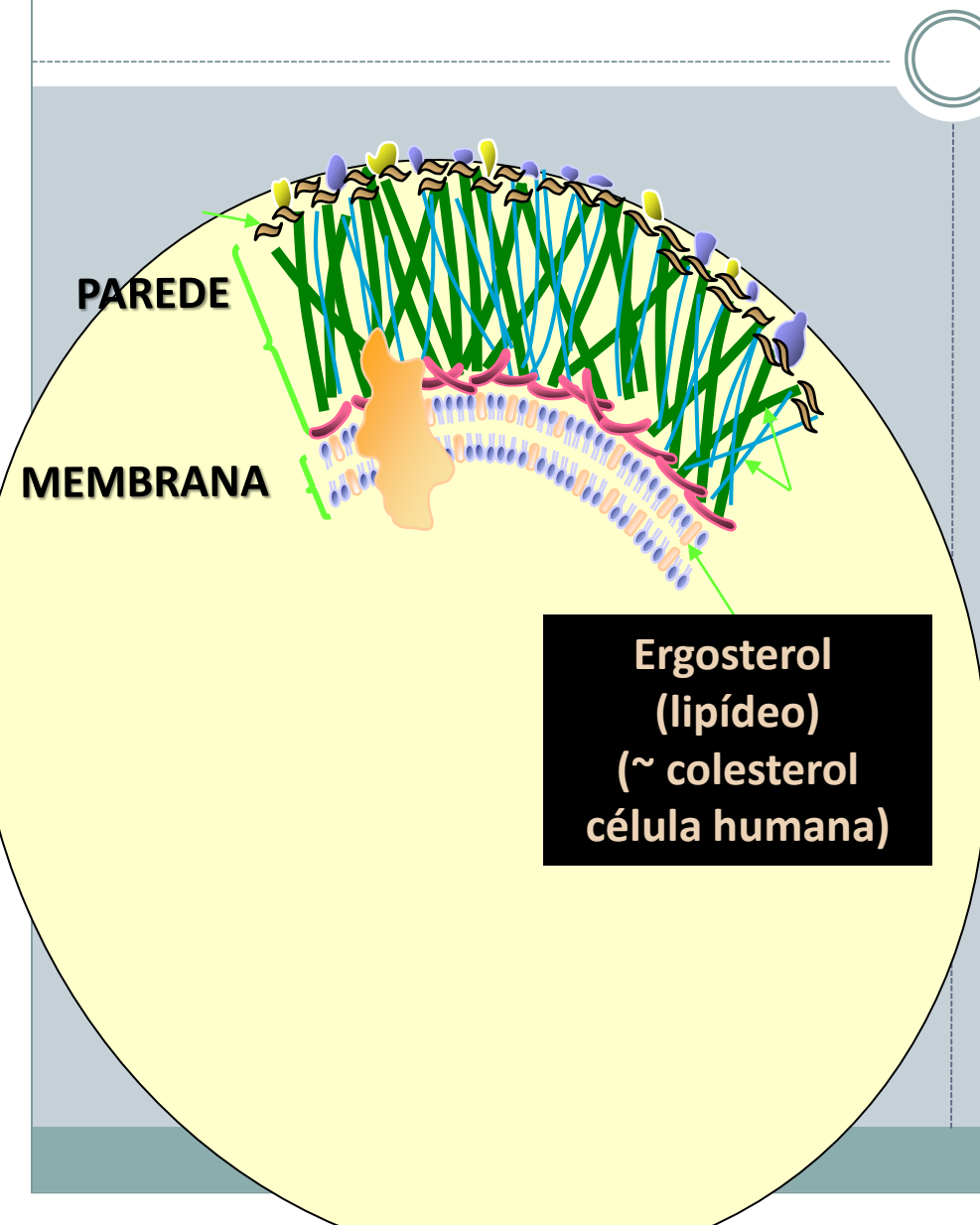
C- Voriconazol (2008 no Br)

D- Fluconazol (1990)

Ravuconazol

Isavuconazol

Ação dos azóis: impedir multiplicação dos fungos



- Como agem os medicamentos azólicos?
-Impedindo a formação do ergosterol.

A célula perde a capacidade de se reproduzir sem ergosterol.

Após um tempo ocorre morte celular.

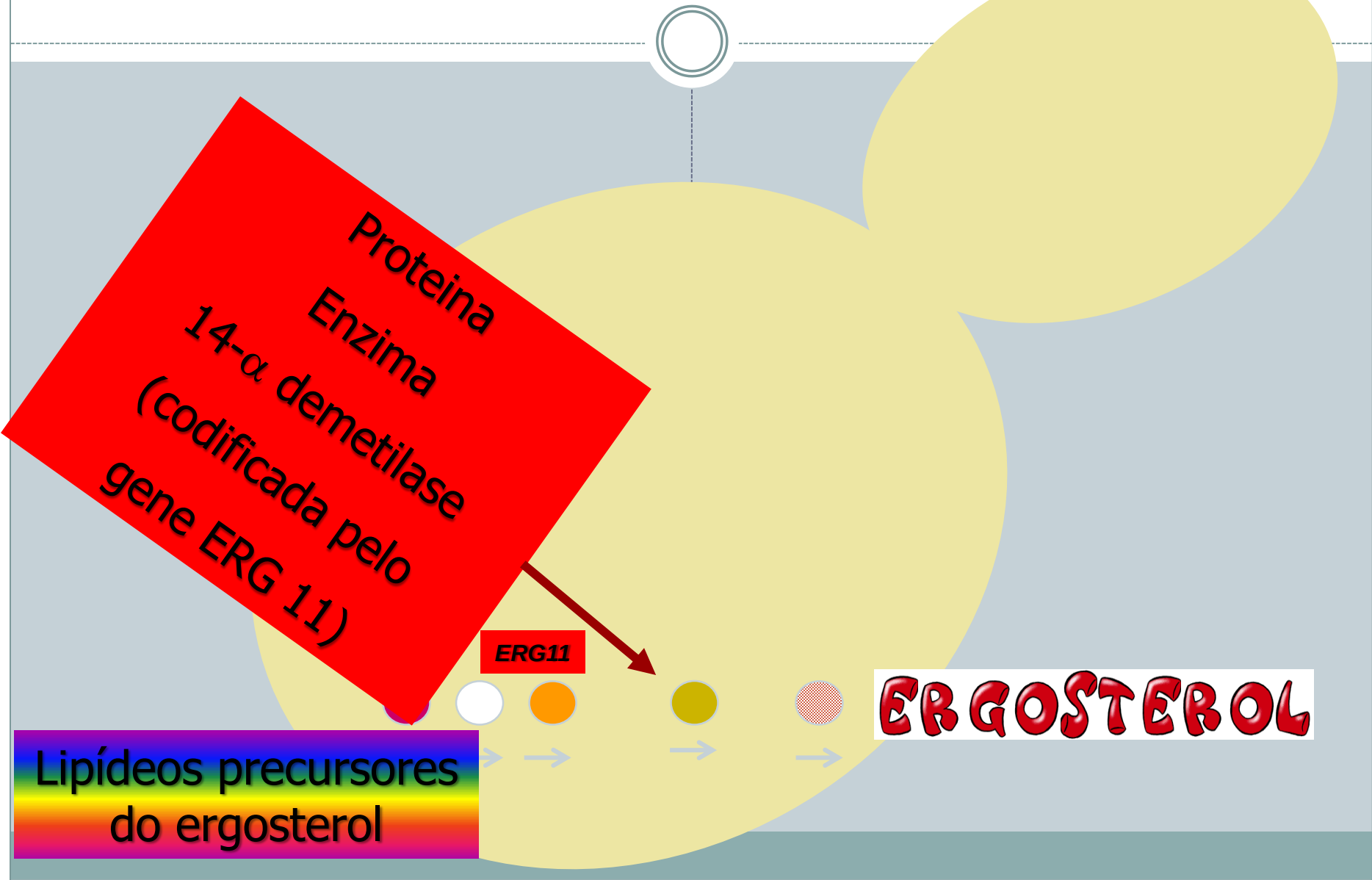
Como se forma o ergosterol?

Proteína
Enzima
14- α demetilase
(codificada pelo
gene ERG 11)

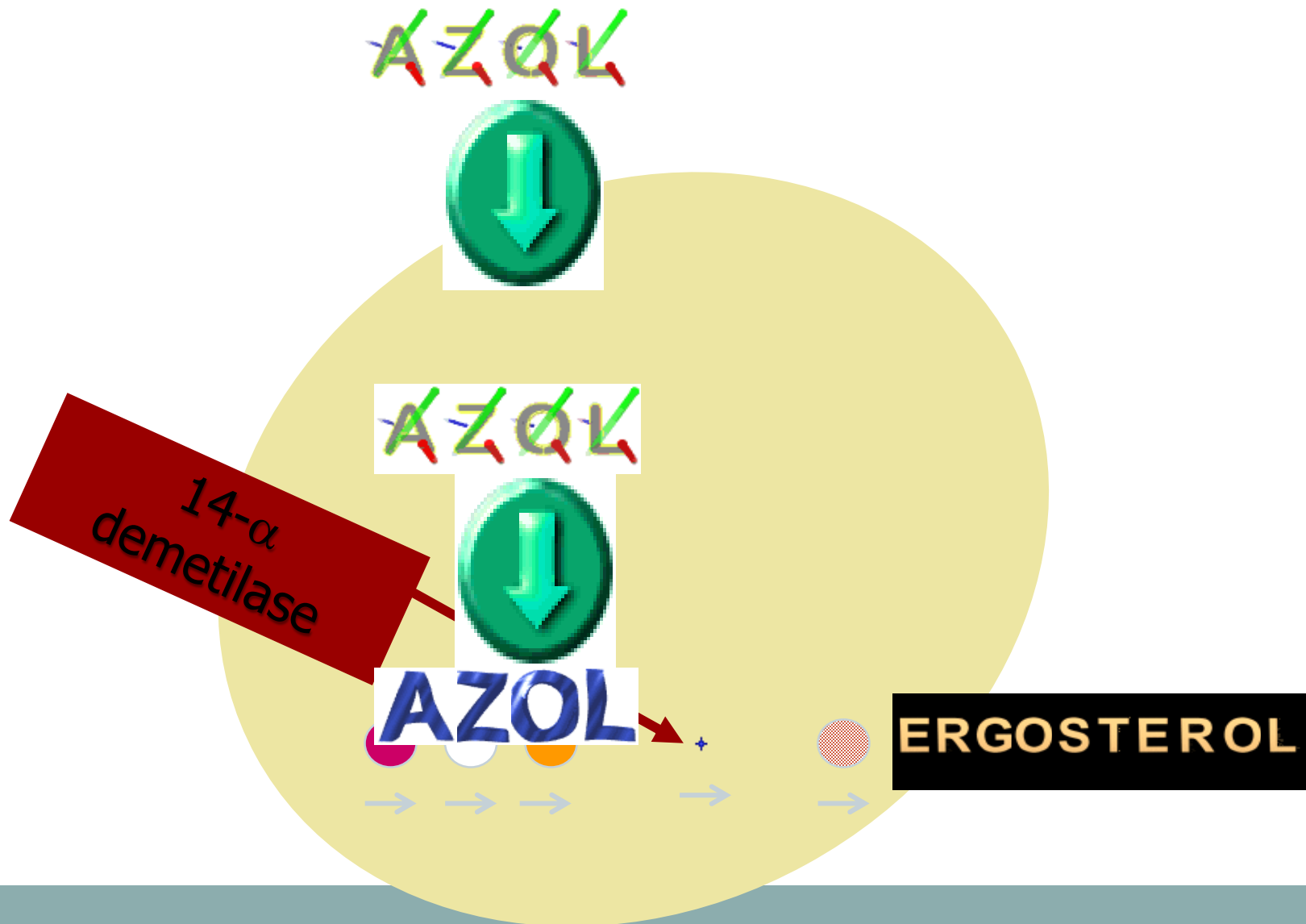
ERG11

Lipídeos precursores
do ergosterol

ERGOSTEROL



Mecanismo de ação dos azóis





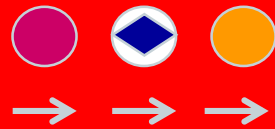
Como os fungos
conseguem resistir
à ação dos azóis?

Produzem enzima que não se acopla nos azóis

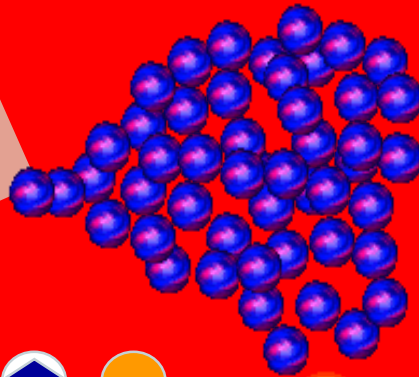


Produzem enzima em excesso

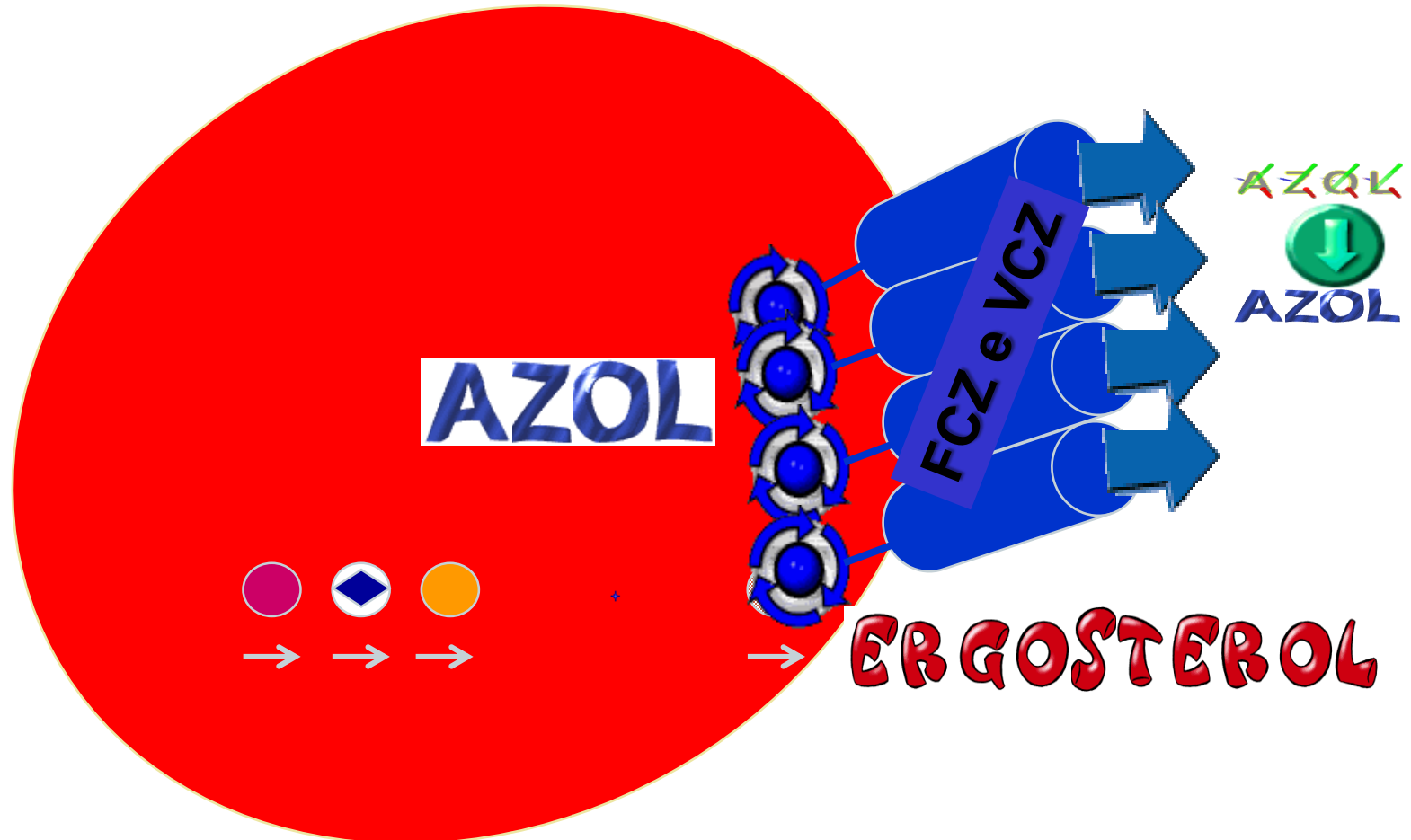
Super expressão de
ERG11



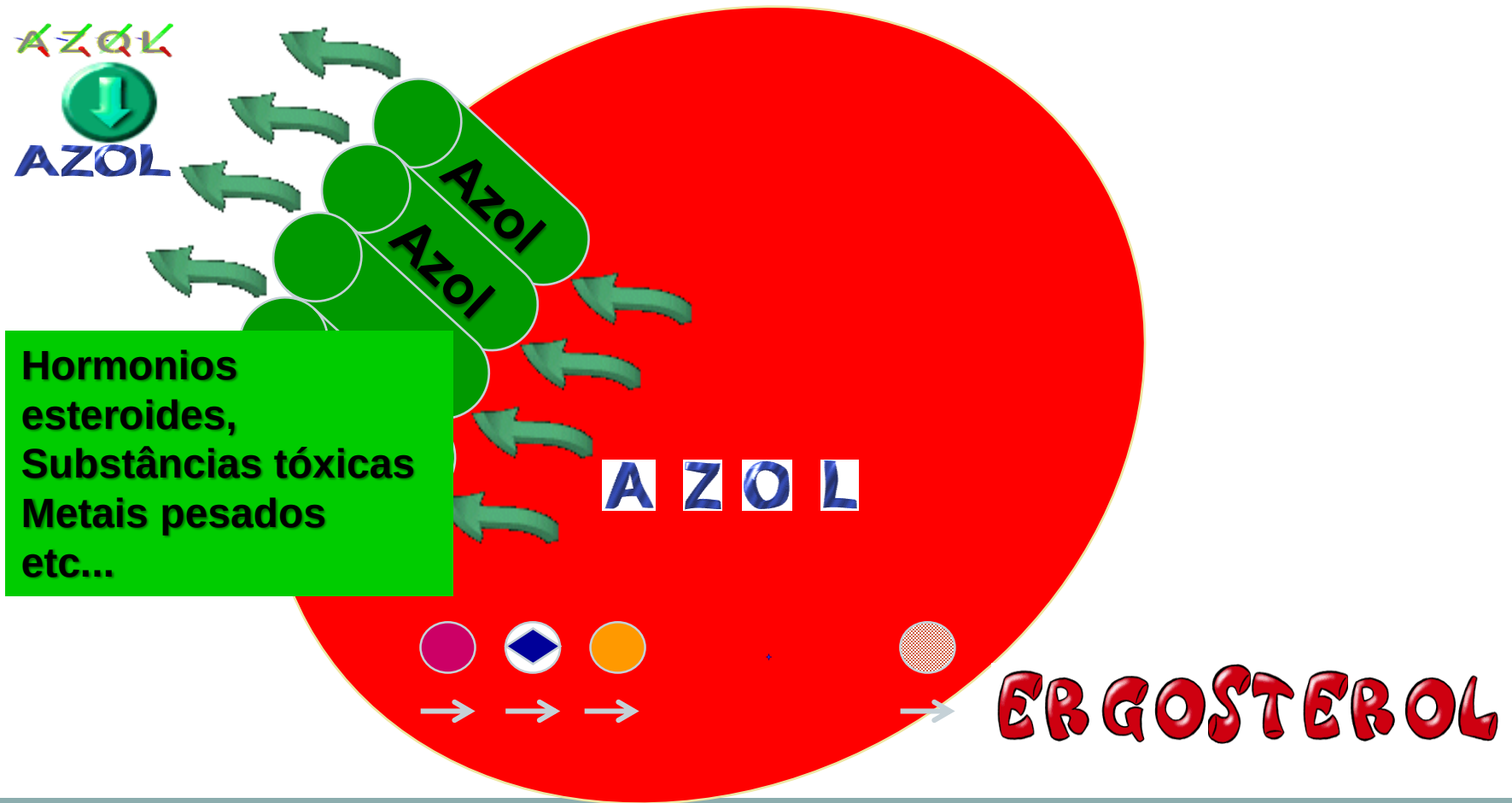
ERGOSTEROL



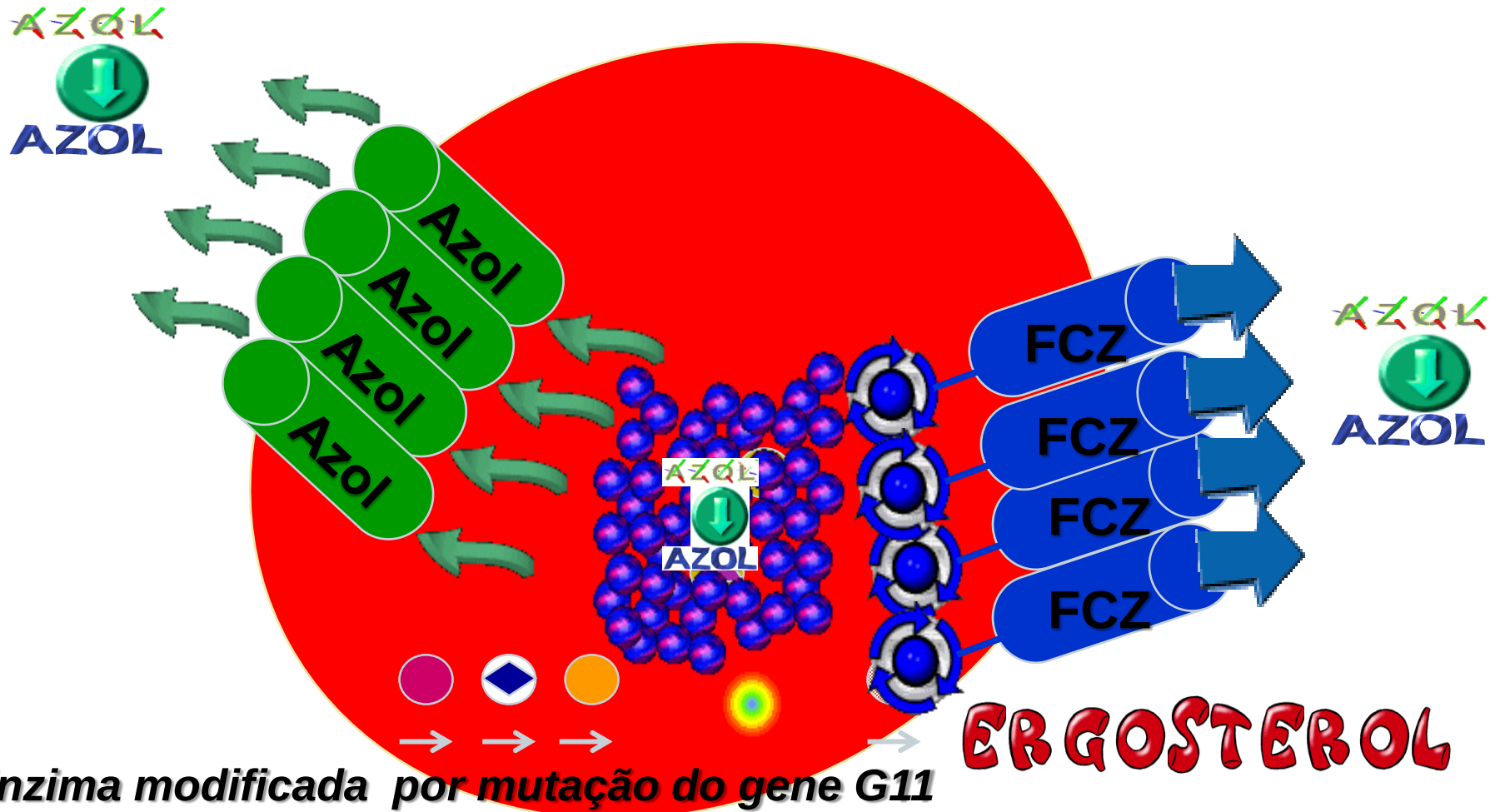
Aumentam atividade e produção de proteínas
que expulsam os fármacos
(bombas de expulsão)



Aumentam atividade e produção de proteínas
que expulsam fármacos e outras substancias
estranhas (bombas de expulsão)



Todos os mecanismos de resistência podem coexistir (super resistência)



Como descobrir se um fungo é resistente?

Fungo

Antifúngico

Microbiologistas

Concentração Inibitória Mínima

(MIC, *minimum inhibitory*)



Teste de microdiluição (IAL)



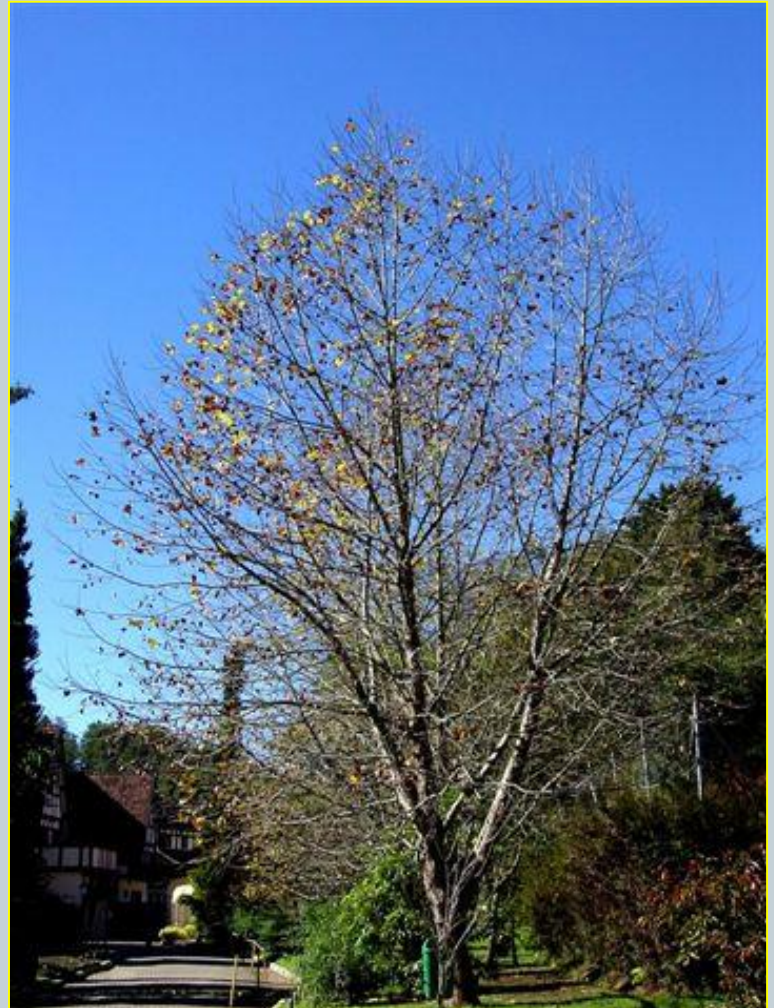
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, EUA, 2012)- normas para avaliar atividade de antifúngicos

Resultado:

Aspergillus ambiental = MIC de 5 mg/L para itraconazol
(normal é <2 mg/L)



Fungos em meio ambiente: decompositores



Animais selecionam os fungos mais resistentes e os devolvem ao meio ambiente



Microbial Invasions:

The Process, Patterns, and Mechanisms

Cyrus A. Mallon, Jan Dirk van Elsas and Joana Falcão Salles

Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences
University of Groningen



film by: Mark Winkel / DeMediaWinkel
biofilms | Bacteria | Fungi | DeMediaWinkel

Recolocam os fungos (e outros germes) no solo



Microbial Invasions:

The Process, Patterns, and Mechanisms

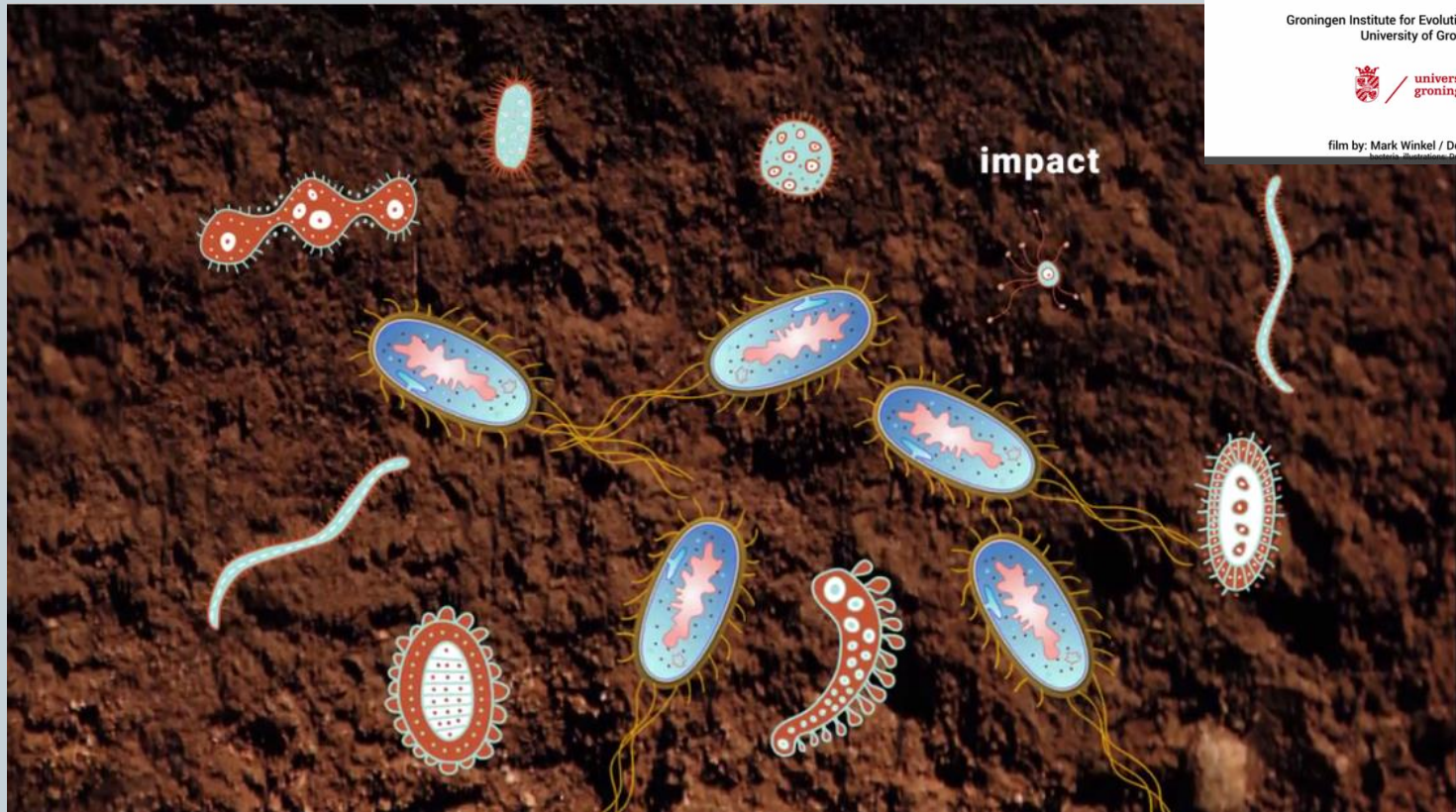
Cyrus A. Mallon, Jan Dirk van Elsas and Joana Falcão Salles

Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences
University of Groningen



film by: Mark Winkel / DeMediaWinkel

Há uma seleção e multiplicação dos fungos mais resistentes a produtos tóxicos do solo (fungicidas e poluentes químicos)



Microbial Invasions:
The Process, Patterns, and Mechanisms

Cyrus A. Mallon, Jan Dirk van Elsas and Joana Falcão Salles

Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences
University of Groningen



film by: Mark Winkel / DeMediaWinkel

Fungos em atmosfera



Poeira de chuva e atmosférica



Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology
January 2011, Volume 38, Issue 1, pp 13–20

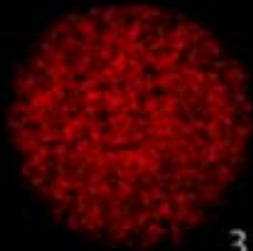
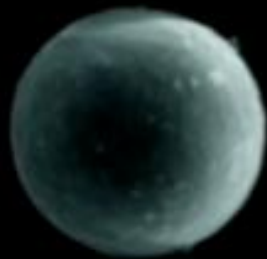
Fungal microbiota from rain water and pathogenicity of *Fusarium* species isolated from atmospheric dust and rainfall dust

Authors

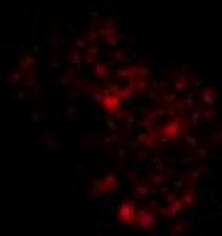
Authors and affiliations

D. Palmero , J. M. Rodríguez, M. de Cara, F. Camacho, C. Iglesias, J. C. Tello

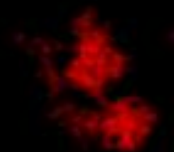
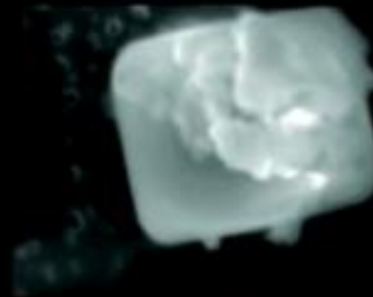
Tempestades carregam partículas de poeira por km ao redor do globo e com elas....**esporos de fungos**
(mais resistentes quando em ambientes poluídos)



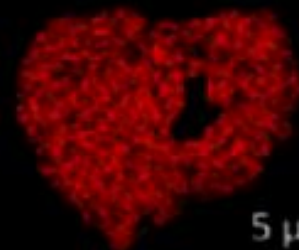
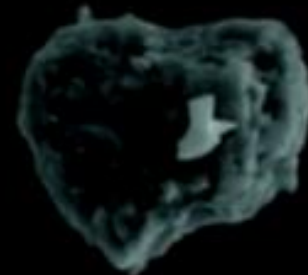
3 μm



4 μm



2 μm



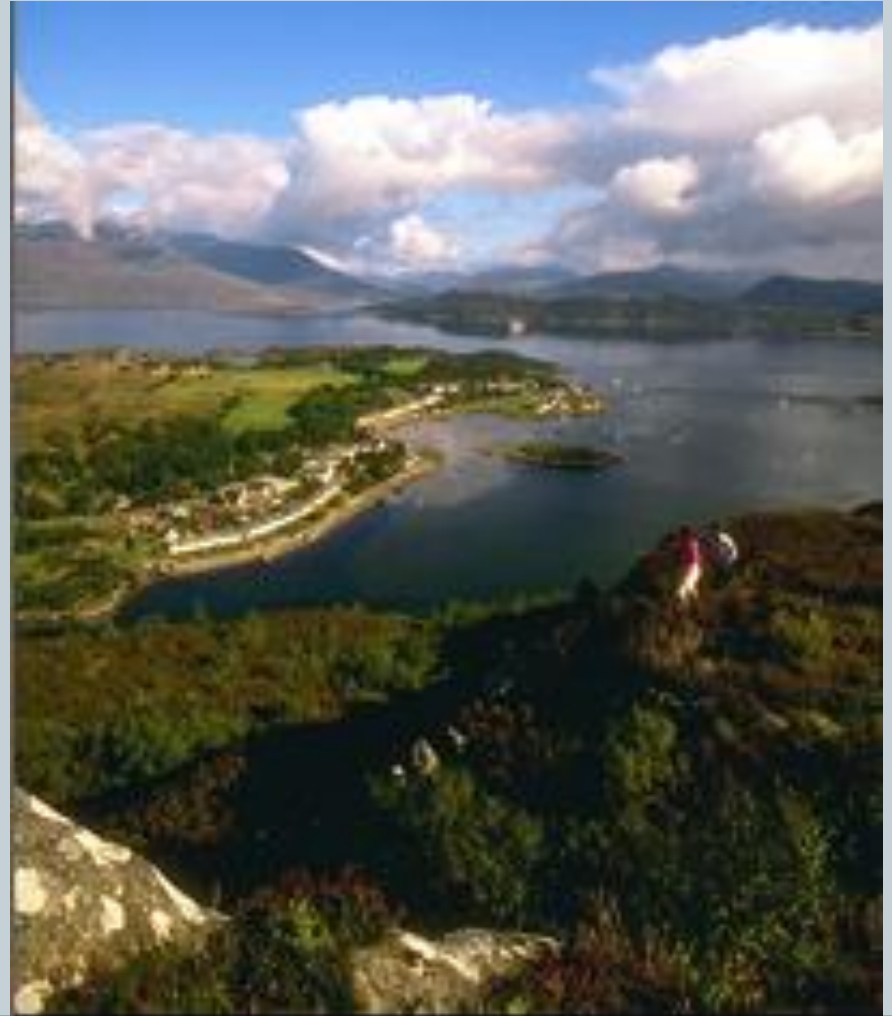
5 μm



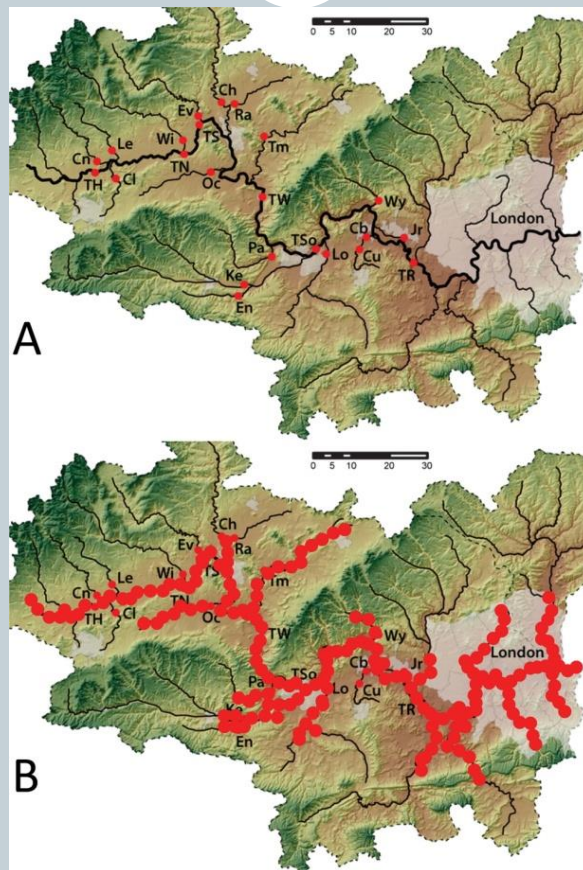
Correntes de ar e pássaros



Disseminam esporos fúngicos e os depositam, diretamente, em ambientes aquáticos ou em pedras e solo adjacente a cursos d'água



Fungos em rios, lagos e reservatórios: vindos do solo ou nativos da água

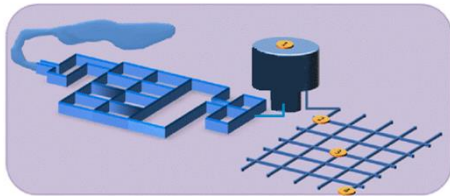


Coleta de amostras de rio (A) para isolamento de fungos. (B) para busca de DNA fúngico (mais abrangente)

Fungos em sistema de distribuição de água

Int. J. Environ. Res. Public Health **2011**, *8*

Figure 6. Drinking water distribution system. 1—Water treatment plant and reservoir; 2—beginning; 3—middle and 4—end of the network.



Ana B. Gonçalves, , R. Russell M. Paterson, , Nelson Lima
Survey and significance of filamentous fungi from tap water *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2006

Tothova L. Occurrence of microscopic fungi in the Slovak section of the Danube River. *Biologia*, 1999.

Int. J. Environ. Res. Public Health **2011**, *8*, 456–469; doi:10.3390/ijerph8020456

OPEN ACCESS
International Journal of
Environmental Research and
Public Health
ISSN 1660-4601
www.mdpi.com/journal/ijerph

Review

Filamentous Fungi in Drinking Water, Particularly in Relation to Biofilm Formation

Virginia M. Siqueira ¹, Helena M. B. Oliveira ², Cleide Santos ¹, R. Russell M. Paterson ¹, Norma B. Gusmão ² and Nelson Lima ^{1,*}

¹ IBB—Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal; E-Mail: virginiasiqueira@deb.uniminho.pt (V.M.S.); cleide.santos@deb.uniminho.pt (C.S.); russell.paterson@deb.uniminho.pt (R.R.M.P.)

² Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Manoel Rego, 1235, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil; E-Mail: helenaoliveira@yahoo.com.br (H.M.B.O.); normagusmao@gmail.com (N.B.G.)

Contém fungos saprófitas (degradam mat.orgânica) e podem produzir:

- micotoxinas
- pigmentação
- odor na água (Servais *et al.*, 1992)
- E fungos, potencialmente, patogênicos (Rosas *et al.*, 1992; Kinsey *et al.*, 1999; Garnett *et al.*, 2000; Petrucio *et al.*, 2005)

Country, Place, Year	Period of time	Type of water	Main isolation method	Most frequent fungal isolates	Refs.
United Kingdom, 1996	Autumn and Spring	Surface water and network	Membrane filtration, Direct plating and Bating	<i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Penicillium</i> and <i>Trichoderma</i>	[4]
Greece, Thessaloniki, 1998	One collection (126 samples)	Tap water (hospital and community)	Membrane filtration	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> and <i>Acremonium</i>	[14]
Greece, 85 haemodialysis units, 1998	One collection (255 samples)	Municipal water supplies of haemodialysis centres	Membrane filtration	<i>Penicillium</i> and <i>Aspergillus</i>	[15]
Germany, North Rhine-Westphalia, 1998/9	12 months	Drinking water	Pour-plating	<i>Acremonium</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Penicillium</i> and <i>Phialophora</i>	[5]
Norway, 14 networks, 2002/3	December, June and September	Drinking water (surface and groundwater)	Membrane filtration	<i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> and <i>Aspergillus</i>	[9,10]
Portugal, Braga, 2003/4	12 months	Tap water	Membrane filtration	<i>Penicillium</i> and <i>Acremonium</i>	[8]
Pakistan, Karachi, 2007	One collection (30 samples)	Water (and fruit juice)	Direct plating	<i>Aspergillus niger</i> and <i>A. clavatus</i>	[16]
Australia, Queensland, 2007/8	18 months	Municipal water	Membrane filtration	<i>Cladosporium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> and <i>Fusarium</i>	[13]
Brazil, Recife, 2009/10	5 months	Water treatment plant; tap water	Membrane filtration	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> and <i>Phoma</i>	[17]
Portugal, Lisbon, 2010	4 months	surface water; spring water; groundwater	Membrane filtration	<i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Penicillium</i>	[18,19]

 Applied and Environmental
Microbiology

 Yonsei University

A Clonal Lineage of *Fusarium oxysporum* Circulates in the Tap Water of Different French Hospitals

Virginie Delvenne¹, Marc Sautou², Rodolphe Gauthier¹, Julie Laurent¹, Serge Aho¹, Kim Breese², Nathalie Sini¹, Philippe Herveisen¹, Francois Cail¹, Christine Staudacher¹

DOI: 10.1093/aem/adv049 Advance Access publication 14 May 2015

© 2015 American Society for Microbiology. All rights reserved.



- Aspergillus* (mais comum 90%) e *Fusarium* (seria o mais comum no Br ???)

Laurence *et al.* High levels of diversity in *Fusarium oxysporum* from non-cultivated ecosystems in Australia Original Research Article Fungal Biology, 2012

Palmero *et al.* Species of *Fusarium* isolated from river and sea water of southeastern Spain and pathogenicity on four plant species. Plant Dis. 2009.

- *Fusarium* é encontrado em bacias e sistema de distribuição
- *F. oxysporum* é primariamente fitopatógeno (melão, tomates, etc), se adapta a qualquer solo.
- *F. acuminatum* (podridão caule do milho, cevada, rabanetes, tomates, melão, trigo, cevada, aspargos)
- Micoses de unhas, córnea e disseminada (sangue)
- **R**a vários azóis



European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases
December 2013, Volume 32, Issue 12, pp 1491-1500

Fusariosis, a complex infection caused by a high diversity of fungal species refractory to treatment

Authors
J. Guarro

Guarro J. Fusariosis, a complex infection caused by a high diversity of fungal species refractory to treatment. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013

Leveduras em água tratada

VOL. 31, n. 1, pp. 1-10, January 2007
ISSN 1516-8957 - Printed in Brazil

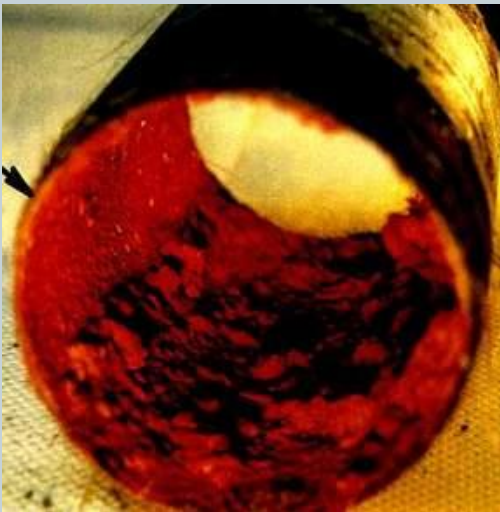
BRAZILIAN ARCHIVES OF
BIOLOGY AND TECHNOLOGY
AN INTERNATIONAL JOURNAL

Yeasts and Filamentous Fungi in Bottled Mineral Water and Tap Water from Municipal Supplies

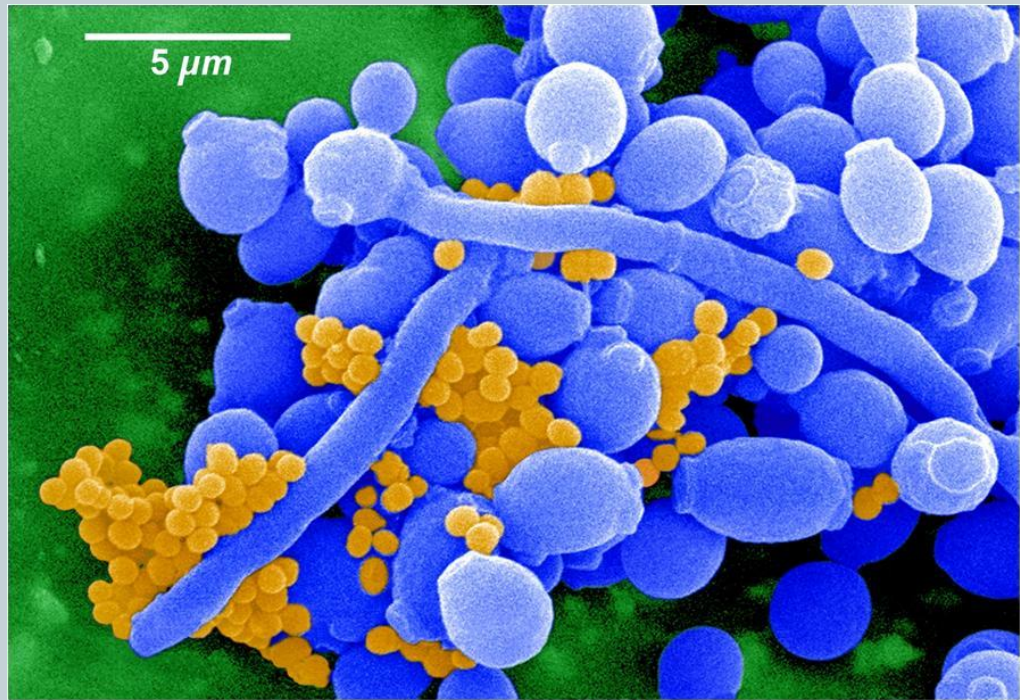
Miriam Ueda Yamaguchi¹, Rita de Cássia Pontello Rampazzo², Sueli Fumie Yamada-Ogata³, Celso Vataru Nakamura⁴, Tânia Ueda Nakamura⁴ and Benedito Prado Dias Filho⁵
¹Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790; 87030-800 Maringá - PR - Brasil; ²Departamento de Microbiologia; Universidade Estadual de Londrina; Rodovia Celso Garcia Cid, 28; 86051-900 Londrina - PR - Brasil; ³Departamento de Análises Clínicas; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790; 87030-800 Maringá - PR - Brasil

Espécies mais comuns: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* (Arvanitidou et al., 1999)

Apesar da extensa ocorrência, pouca importância é dada à presença e significância de leveduras e filamentosos (Souza et al., 2003)



BIOFILME

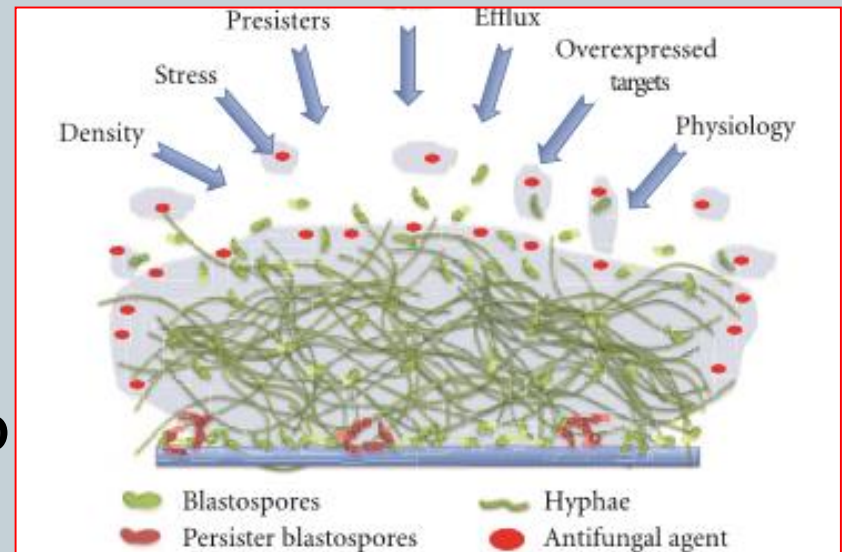


Fonte: José Antônio G.Ferreira, UFMG, 2009



Fungos formam biofilmes

- Santuários de micro-organismos
- Resistência física e química a *stress*
- Esporos do biofilme são mais resistentes do que os esporos planctônicos (livres)
- Estimativas **80%** de todos os micro-organismos vivam no meio ambiente como comunidades de biofilmes



Fungos formam biofilmes

SYNOPSIS

Fungal Biofilms and Drug Resistance

Mary Ann Jabra-Rizk,¹ William A. Fekier² and Timothy F. Meiller³

Int. J. Environ. Res. Public Health 2013, 10, 418–440; doi:10.3390/ijerph10040418

International Journal of
Environmental Research and
Public Health
ISSN 1660-4601
www.mdpi.com/journal/ijerph

Article

Filamentous Fungi in Drinking Water, Particularly in Relation to Biofilm Formation

Virginia M. Siqueira,¹ Rhonda M. R. Oliveira,¹ Chady Sato,¹ R. Russell M. Paterson,¹ Norma R. Gonsky,² and Nelson Lima^{1*}

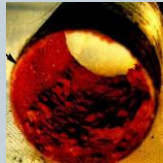
¹ IIR Institute for Biotechnology and Bioengineering, Center of Biological Engineering, University of Marília, Campus de Guará, 13107-000, Marília, Brazil

² E. Maly, Virginia M. Siqueira, Rhonda M. R. Oliveira, Chady Sato, R. Russell M. Paterson, Norma R. Gonsky, and Nelson Lima (eds.), *Fungal Biofilms and Drug Resistance*, Int. J. Environ. Res. Public Health 2013, 10, 418–440; doi:10.3390/ijerph10040418

Problemas no sistema de distribuição de água

- Proporcionam alta [de fungos]
- Protegem fungos da desinfecção
- Promovem disseminação de esporos

Características da superfície inerte

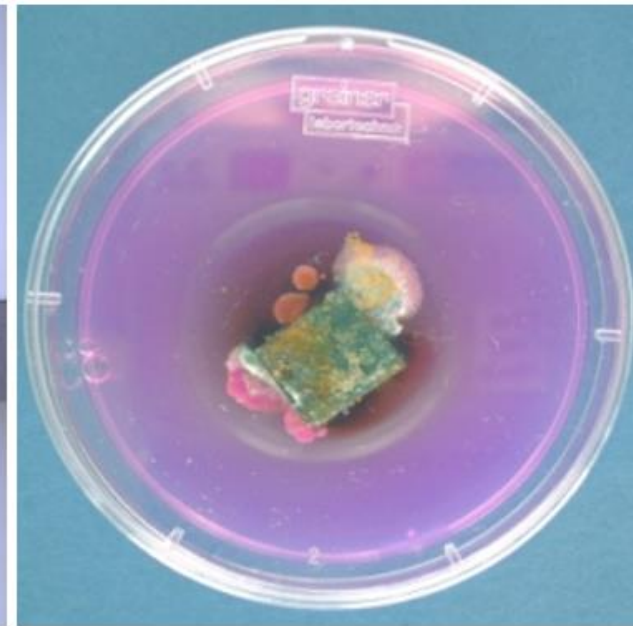


Temperatura

Nutrientes

Resíduo de desinfetantes

Regime hidráulico



Filamentous fungi recovered from the water distribution system of a Belgian university hospital

MARIE-PIERRE HAYETTE*, GENEVIEVE CHRISTIAENS†, JACQUES MUTSERS†, CHRISTOPHE BARBIER‡, PASCALE HUYNEN*, PIERRETTE MELIN* & PATRICK DE MOL*

*Medical Microbiology Department, University Hospital of Liège, Liège, and †Infection Control Department, University Hospital of Liège, Liège, Belgium

HEMODIÁLISE



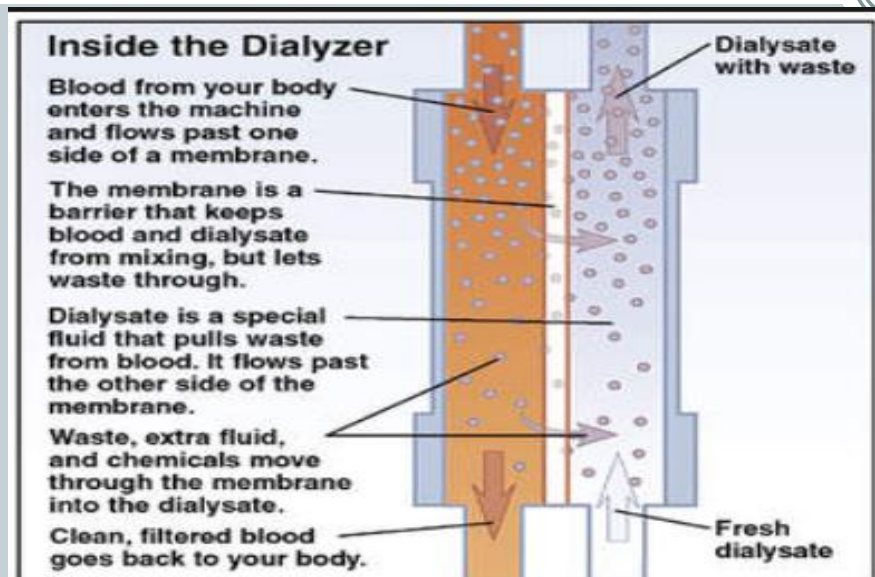
Isolamento de fungos filamentosos em água utilizada em uma unidade de hemodiálise

Isolation of filamentous fungi from water used in a hemodialysis unit

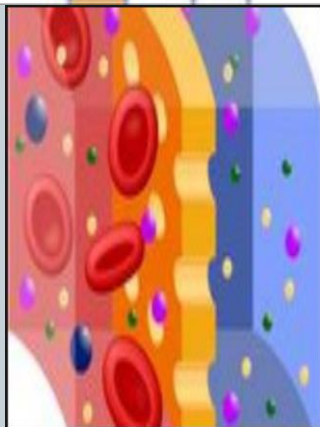
Samuel Dutra Viaro¹, Carlos Henrique Gomes Martins¹, Miguel Jorge de Oliveira Cardoso¹, Flávia Garcia Soriani², Lilian Buono Montanari¹ & Regina Helena Pires-Gonçalves¹

- Formação de biofilme na tubulação da máquina de hemodiálise
- Pacientes estão imunodeprimidos pela doença renal
- Sistemas de desinfecção podem ser ineficazes
- Análise bacteriológica de rotina da água usada nos procedimentos de hemodiálise não inclui a pesquisa e/ou identificação de fungos e, aos pouco, surgem estudos que têm relatado o encontro de várias espécies na água usada para hemodiálise.

Problema relacionado à água usada em hemodiálise



MEMBRANA DE DIÁLISE



Pode haver rompimento da integridade da membrana, com o reuso (para o mesmo paciente) após enxágüe para retirada do sangue restante, seguido de limpeza química e desinfecção → **contaminação do sangue.**

Outros problemas com fungos em água



- Existem fungos aquáticos (*Oomycota* e *Chytridiomycota*) que por irrigação em cultivos podem ser fitopatógenos (Shearer *et al.*, 2007; Raja *et al.*, 2009).
- Por ex.: batatas importadas da América do Sul, continham fungo (*Phytophthora infestans*) que quase devastou a colheita nacional da Irlanda (1846–1847), pois as batatas não tinham habilidade para resistir ao fungo desconhecido no país.
- Outro fungo aquático das Américas (*Plasmopara viticol*) quase exterminou os vinhedos franceses e a indústria do vinho na França (1870s). A infestação levou ao uso do primeiro fungicida, sulfato de cobre, protectante (filme na superfície da planta).
- E hoje, como está o uso de fungicidas agrícolas?

AGROTÓXICOS NO BRASIL

Brasil lidera uso mundial de agrotóxicos

O mercado girou US\$ 7,12 bilhões e, apesar do avanço, lua de mel entre indústria e produtores deve ser passageira

07 de agosto de 2009 | 0h



Cesar Koppe Grisolia

Agrotóxicos

MUTAÇÕES, CÂNCER & REPRODUÇÃO

Riscos ao homem e ao meio ambiente, pela avaliação de genotoxicidade, carcinogenicidade e efeitos sobre a reprodução



AGROTÓXICOS

O BRASIL ENVENENADO

Estimativas apontam 75 mil casos de câncer por ano causados por agrotóxicos

Em 2009 jogamos 1 milhão de toneladas de veneno na terra brasileira



CIÊNCIA PARA SURDOOS
Novos sinais são criados para melhor compreensão no ensino de biologia

TERRA DE AGROTÓXICOS
Brasil lidera consumo de substâncias banidas



Uso de agrotóxicos fungicidas no Brasil



Aumento de 190% no consumo de agrotóxicos (2010)

Hortaliças usam 8x-16x mais agrotóxicos do que monoculturas

Uso → aumento produção de alimentos Impacto → fungos ambientais

**Agrotóxicos específicos para fungos
agem, diretamente, na célula fúngica**

Triazólicos

Fungicidas : 14% do mercado nacional



17 tipos de fungicidas triazólicos

**Legislação
Brasileira**

Decreto 5981/2006

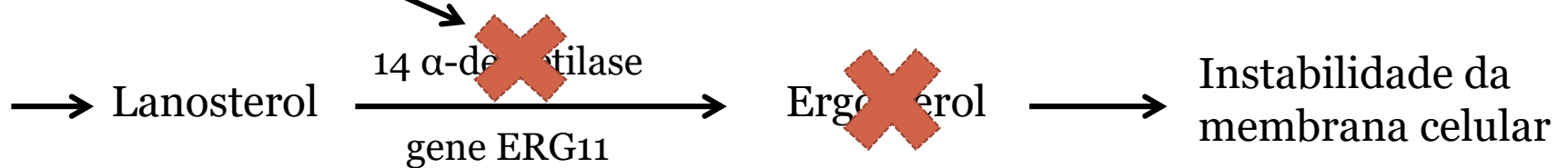
Lei Federal
9974/2000

Lei Federal
7802/1989

Compostos azólicos



Azóis



Fungicidas ambientais = antifúngicos clínicos = mesmo tipo de ação

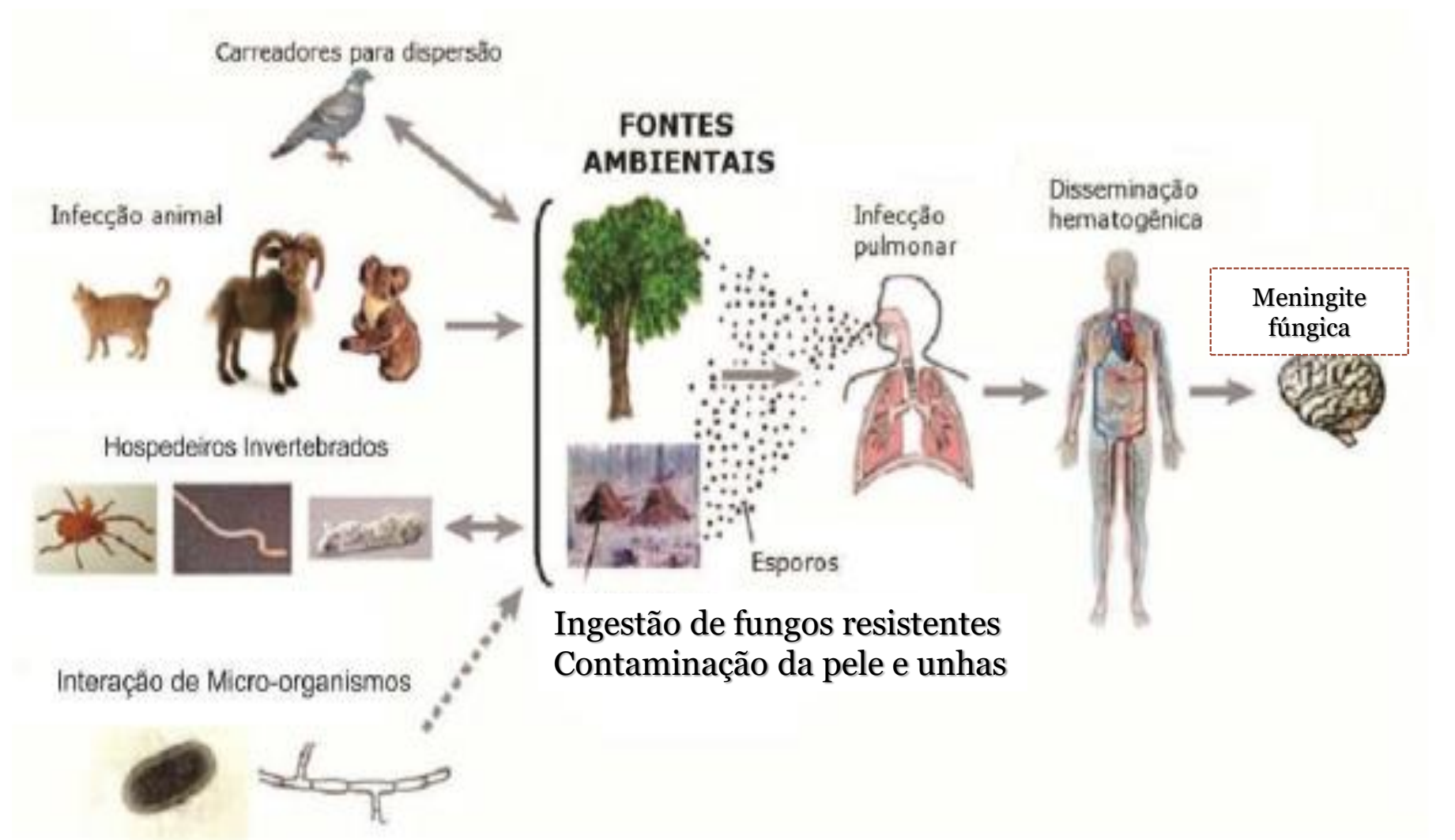
Quando aspergidos sobre plantações
agem sobre os fungos de solo,
ar e água (lixiviação).

Selecionam fungos resistentes (R) ?

Esses fungos seriam (R) aos fármacos ?

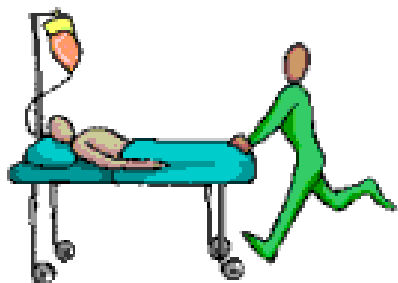


Dispersão de resistência e impacto no homem



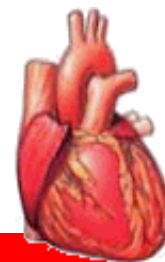
Dispersão de resistência e impacto no homem





UTIs

Aids

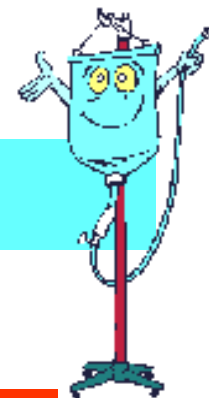


Transplante de órgãos sólidos e medula óssea

quimioterapia



Nutrição parenteral



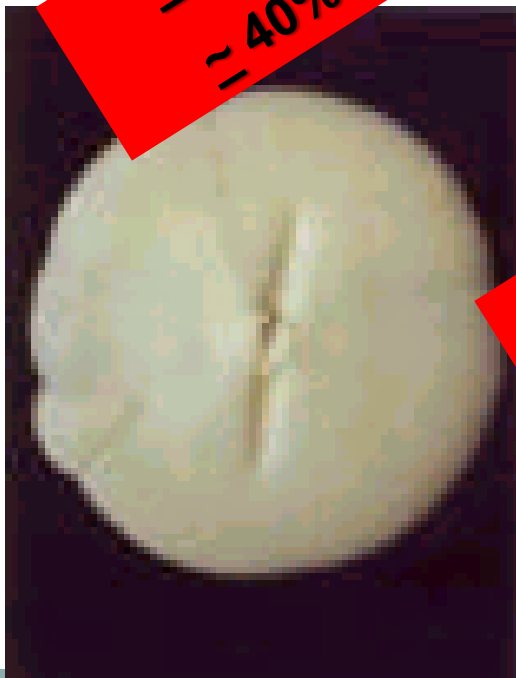
Antibióticos de largo espectro

Procedimentos invasivos

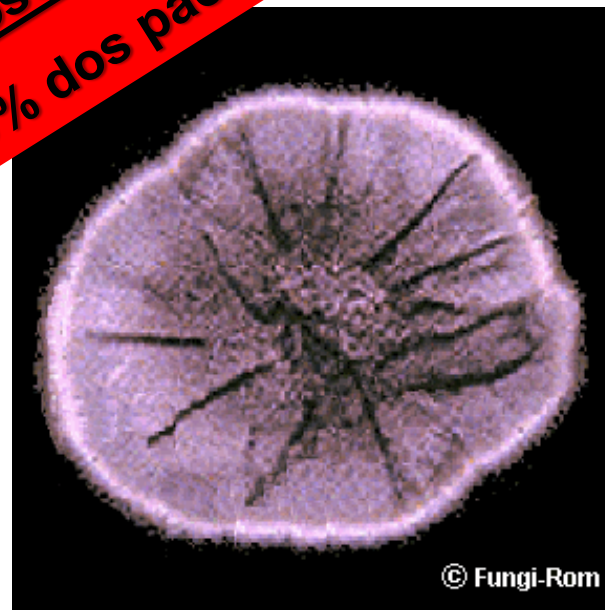


Mortalidade por fungos

Candidemia (sangue)
~ 40% dos pacientes



Aspergilose/Fusariose Pulmonar e Disseminada
~80% dos pacientes



© Fungi-Rom

Aspergillus em pneumonias

- 24% eram **R** a azóis
- 88% de mortes
- Registros : 9 países (incluindo Colombia)
- Em pacientes virgens de tratamento !
- Sem contato entre eles !
- Como esses *Aspergillus* tinham a **R** ?????



Probabilidade grande: *Aspergillus* **R** inalados do meio ambiente !

Alexandre Alanio, Blandine Denis,
Samia Hamane, Emmanuel Raffoux,
Régis Peffault de Latour, Jean Menotti,
Sandy Amorim, Sophie Touratier,
Anne Bergeron, Stéphane Bretagne



Mycosphaerella graminicola

contra o qual se usa
APENAS azóis !!!

Estudo global para busca desse tipo de **R** em pacientes com infecções resistentes



Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 21, No. 6, June 2015

Prospective Multicenter International Surveillance of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus*

J.W.M. van der Linden, M.C. Arendrup,
A. Warris, K. Lagrou, H. Pelloux, P.M. Hauser,
E. Chryssanthou, E. Mellado, S.E. Kidd,
A.M. Tortorano, E. Dannaoui, P. Gaustad,
J.W. Baddley, A. Uekötter, C. Lass-Flörl,
N. Klimko, C.B. Moore, D.W. Denning,
A.C. Pasqualotto, C. Kibbler, S. Arikan-Akdagli,
D. Andes, J. Meletiadis, L. Naumiuk,
M. Nucci, W.J.G. Melchers, P.E. Verweij

contributes to >90% of resistance mechanisms in azole-resistant aspergillus diseases (1,3). Azole resistance has been observed in patients with no recent history of azole therapy, and the mortality rate for patients with azole-resistant invasive aspergillosis was 88% (3).

The Study

Our objective was to investigate the prevalence of azole resistance in clinical *Aspergillus* isolates. A multicenter in-

Conclusões e Perspectivas

- A **R** a azóis é um problema emergente (até o momento em *Aspergillus*).
- Disseminada na Europa
- Seleção de **R** no meio ambiente contribui para ocorrência de doença **R** tratamento

Uso fungicidas azólicos em hortas na nossa região



Lixiviação



Disseminação, em bacias da nossa região, de fungos **R** a fungicidas azólicos?
Biofilmes na rede de distribuição? Aumento da **R** ?

Espécies **R** também a antifúngicos usados na prática médica, como
fluconazol, itraconazol, cetoconazol
(uso em micoses de pele, unhas, pneumonias e disseminadas)

Impacto para pacientes com micoses? Recidivas e insucesso no tratamento?

Respostas somente na próxima década!



Obrigada pela atenção!



Material e métodos



Rio Claro, SP



Horta A – uso de fungicidas

Horta B – sem uso de fungicidas



Água de lavagem

Água de irrigação

Água de irrigação

Água de lavagem

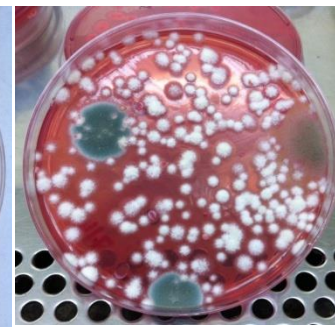
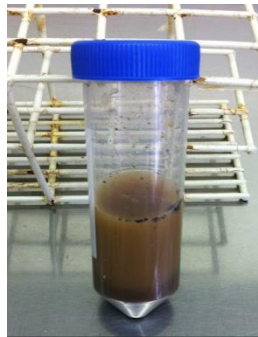
Coleta de Janeiro de 2012 a Setembro de 2014
12 dias de coleta = solo + água de lavagem + água de irrigação

Material e métodos

Método de STAIB
(1929)

$35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 7\text{d}$

12d x 2 hortas x 3
pontos x 5 placas =
360 placas



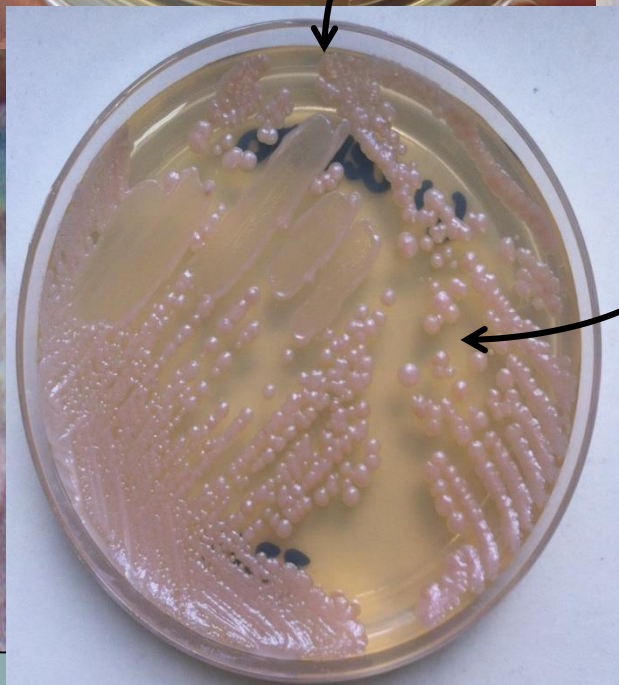
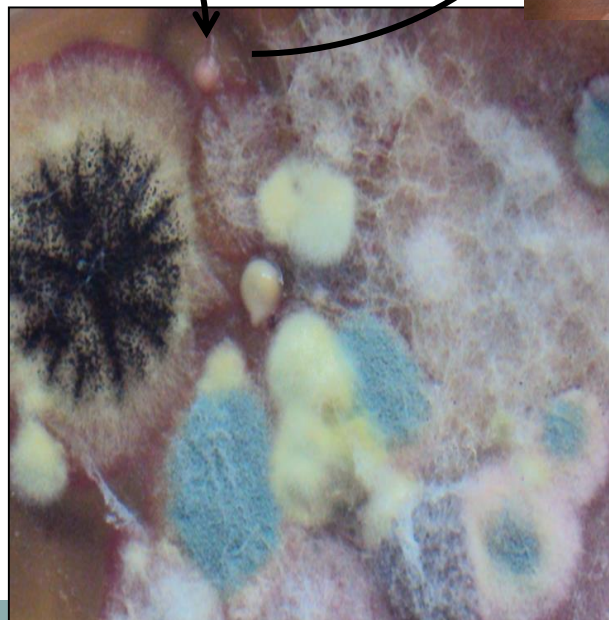
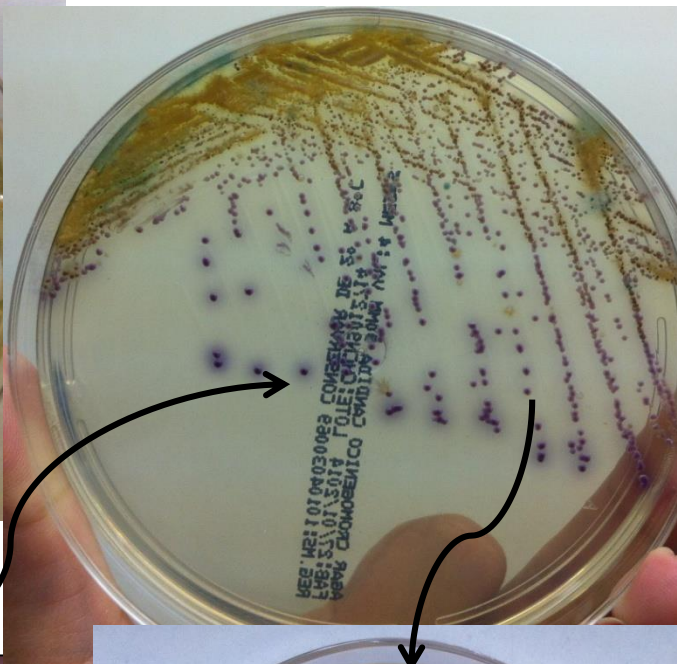
Solo coletado ~ 15 cm
de profundidade



3 pontos diferentes

Solução de penicilina (1.200.000 UI –
4,5mg/mL) e estreptomicina
(10mg/mL)

5 placas { Mycosel
DRBCm



Fotos: Arquivo pessoal

Resultados



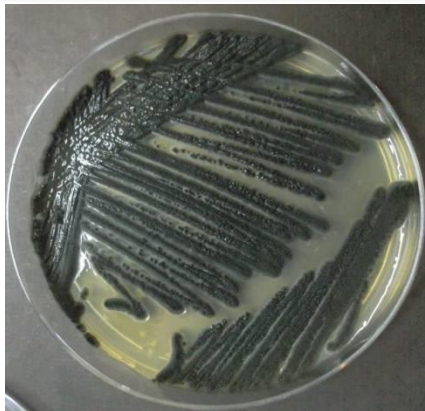
12 coletas (2012-2014)



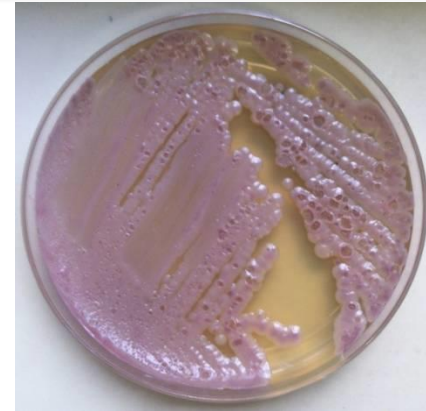
72 amostras de solo
36 amostras de água



9 isolados de *Exophiala* spp.

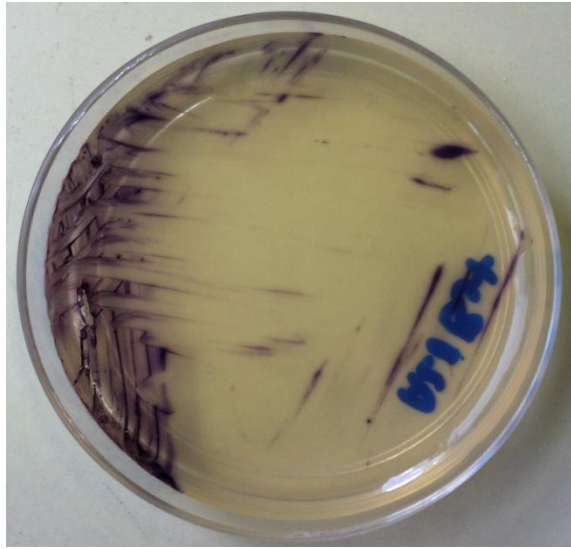


16 isolados de *Cryptococcus* spp.





C.flavescens



C.magnus



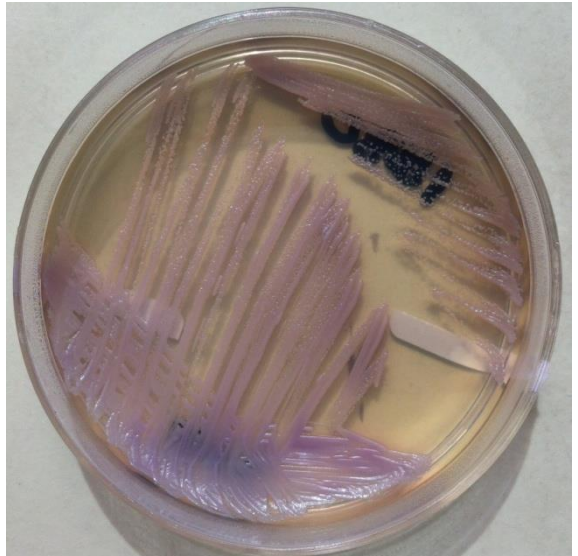
C.albidus



C.terrestris



C.laurentii

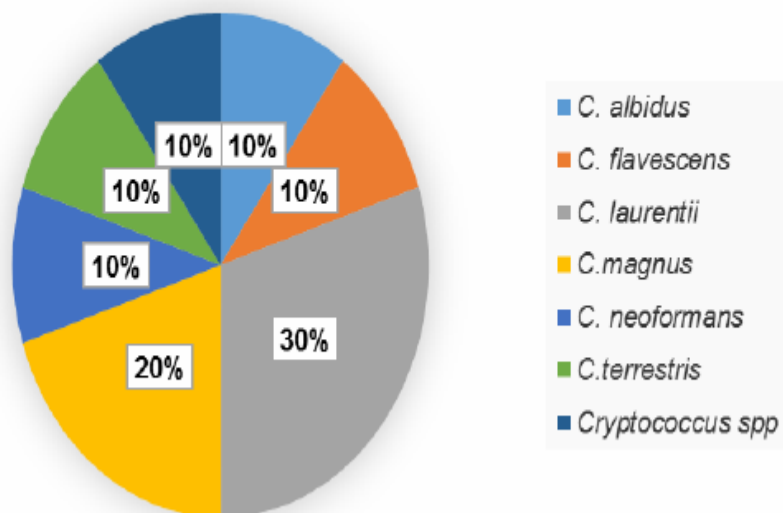


C.neoformans

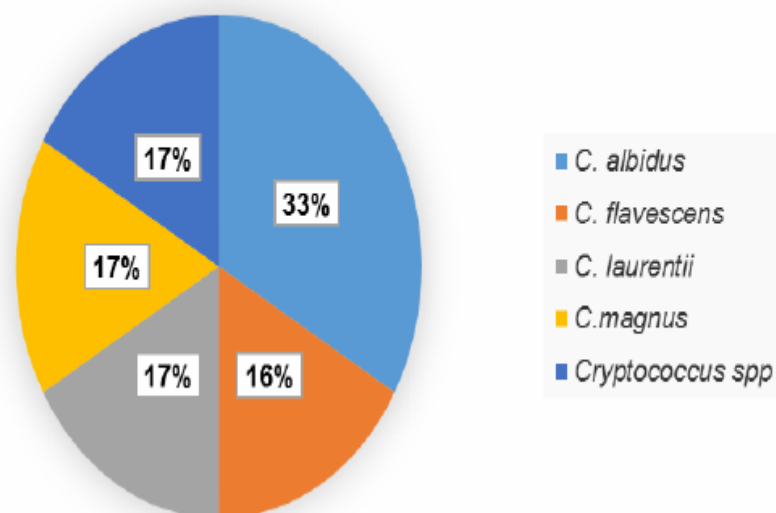
Distribuição das espécies - tipo de horta



Horta com fungicida



Horta orgânica



Concentração inibitória mínima (mg/L) de antifúngicos de uso clínico e fungicidas ambientais frente a cepas de *Cryptococcus* spp.



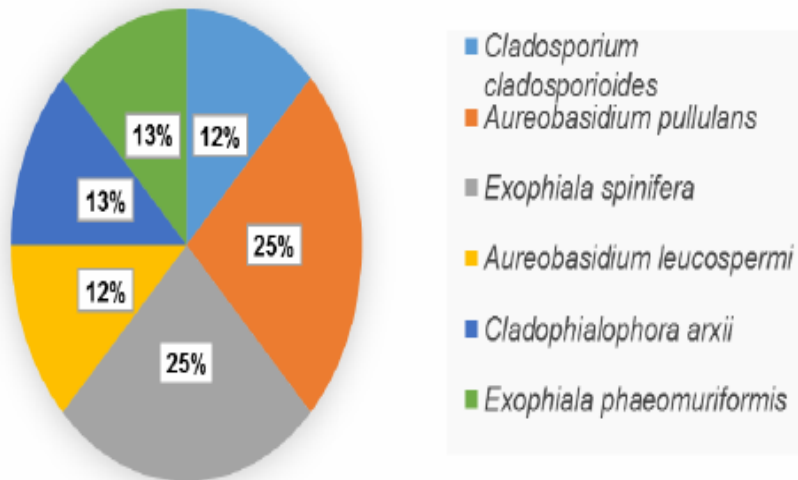
Espécies	Fluconazol	Itraconazol	Voriconazol	Difenoconazol	Ciproconazol	Ravuconazol
<i>C. neoformans</i> (JPT01)	32	0,12	0,03	0,12	0,06	0,03
<i>C. terrestris</i> (JPT08)	16	0,5	0,5	2	1	0,12
<i>C. albidus</i> (JPT10)	0,5	0,015	0,03	0,03	0,015	0,015
<i>C. albidus</i> (JPT16)	8	0,25	0,12	8	0,25	0,12
<i>C. albidus</i> (JPT17)	4	0,25	0,25	8	1	0,06
<i>C. laurentii</i> (JPT04)	8	0,25	0,25	1	0,5	0,25
<i>C. laurentii</i> (JPT23)	4	0,5	0,015	1	0,06	0,25
<i>C. laurentii</i> (JPT32)	0,5	0,5	0,12	1	0,015	0,5
<i>C. laurentii</i> (JPT153)	2	0,5	0,25	2	1	0,25
<i>C. flavescens</i> (JPT114)	8	0,25	0,25	1	0,5	0,015
<i>C. flavescens</i> (JPT112)			SC			
<i>C. magnus</i> (JPT115)			SC			
<i>C. magnus</i> (JPT117)			SC			
<i>C. magnus</i> (JPT119)			SC			
<i>Cryptococcus</i> spp. (JPT116)	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>Cryptococcus</i> spp. (JPT118)	NR	NR	NR	NR	NR	NR

SC, sem crescimento; NR, não realizado

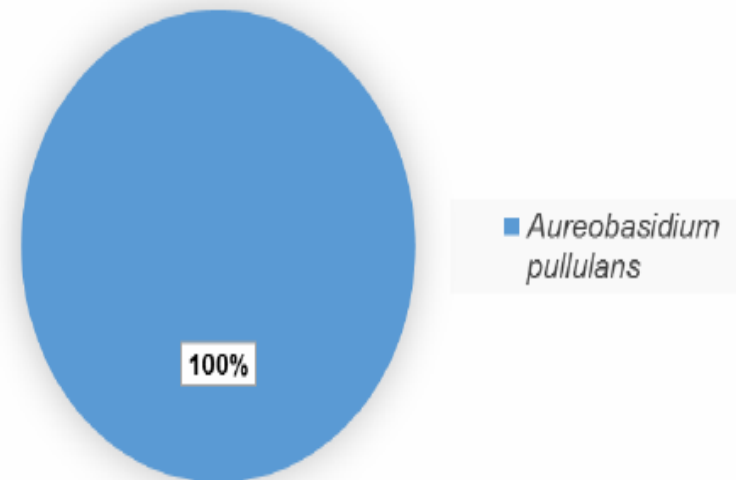
Distribuição de espécies – tipo de horta



Horta com fungicida



Horta orgânica



Concentração inibitória mínima (mg/L) de antifúngicos de uso clínico e fungicidas ambientais frente a cepas de leveduras negras



Espécie (Isolado)	Fluconazol	Itraconazol	Voriconazol	Difenoconazol	Ciproconazol	Ravuconazol
<i>Cladosporium cladosporioides</i> complexo (JPTAI1)				NR		
<i>Aureobasidium pullulans</i> complexo (JPTAI2)	4	0,015	0,03	0,015	0,5	0,015
<i>Aureobasidium pullulans</i> complexo (JPTAI3)				NR		
<i>Exophiala spinifera</i> (JPTAL4)				NR		
<i>Aureobasidium leucospermi</i> (JPTAL5)				NR		
<i>Aureobasidium pullulans</i> complexo (JPTS6)	4	0,03	0,12	0,015	0,5	0,015
<i>Cladophialophora arxii</i> (JPTS7)	>64	0,25	4	8	8	0,015
<i>Exophiala spinifera</i> (JPTS8)	32	0,03	0,25	0,25	1	0,06
<i>Exophiala phaeomuriformis</i> (JPTS9)	2	0,03	0,015	0,03	0,015	0,015

*NR – Não realizado

Cromatografia



Análise das amostras ambientais para ciproconazol e difenoconazol em HPLC e cromatografia gasosa



Identificação	Ciproconazol (mg kg ⁻¹)	Difenoconazol (mg kg ⁻¹)
Água de irrigação Horta Botacin 2	ND	ND
Água de Irrigação Horta Botacin 3	ND	ND
Água de Irrigação Horta Orgânica 2	ND	ND
Água de Irrigação Horta Orgânica 3	ND	ND
Água de Lavagem Horta Botacin 2	ND	ND
Água de Lavagem Horta Botacin 3	ND	ND
Água de Lavagem Horta Orgânica Nabo 2	ND	ND
Água de Lavagem Horta Orgânica Nabo 3	ND	ND
Solo Horta Botacin Cebolinha Sem Agrotóxico	ND	ND
Solo Horta Botacin Cebolinha 1	ND	ND
Solo Horta Botacin Cebolinha 2	ND	ND
Solo Horta Botacin Cebolinha 3	ND	ND
Solo Horta Orgânica Cebolinha 1	ND	ND
Solo Horta Orgânica Cebolinha 2	ND	ND
Solo Horta Orgânica Cebolinha 3	ND	ND
Solo Horta Orgânica Beterraba	ND	ND

ND = Não detectado

Conclusões



Uso de
fungicidas
azólicos em
outros países

Água de lavagem

Solo

Água de irrigação

Cromatografia líquida
(HPLC) e cromatografia
gasosa



Lixiviação?

Níveis residuais abaixo limite detecção?



Aprimoramento de métodos
Detecção multiresidual
Outras alternativas



Ministério da Saúde
Gabinete do Ministro

PORTARIA Nº 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011

Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

O MINISTRO DE ESTADO DA SAÚDE, no uso das atribuições que lhe conferem os incisos I e II do parágrafo único do art. 87 da Constituição, e

Considerando a Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, que configura infrações à legislação sanitária federal e estabelece as sanções respectivas;