

# Monitoramento ambiental do *Vibrio cholerae* Importância e Resultados

Café com Saúde “Estratégias paulistas na prevenção da cólera em tempos de eventos de massa”

Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD) e a Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DDTHA), do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE)



SECRETARIA DO  
MEIO AMBIENTE



GOVERNO DE  
SÃO PAULO

# HISTÓRICO – Participação da CETESB

Criação em 1973 : Comissão de Prevenção e Combate à Cólera

## **Pontos de coleta:**

Portos, Aeroportos, Estações rodoviárias, ferroviárias, poços de visitas, ETEs, hospitais

**RESULTADOS:** 1974 a 1983 - 12867 amostras de esgoto analisadas

<b>Local de coleta</b>	<b>Data</b>	<b>Número de Linhagens O1</b>
Orquidário municipal, EEE José Menino, Santos	12/04/1978	1
PV, rua Jurubatuba, Santos	12/05/1978	2
EEE. Zona central da cidade, São Sebastião	10/03/1980	1
ETE José Menino, coletor Rebouças, Santos	09/05/1983	1

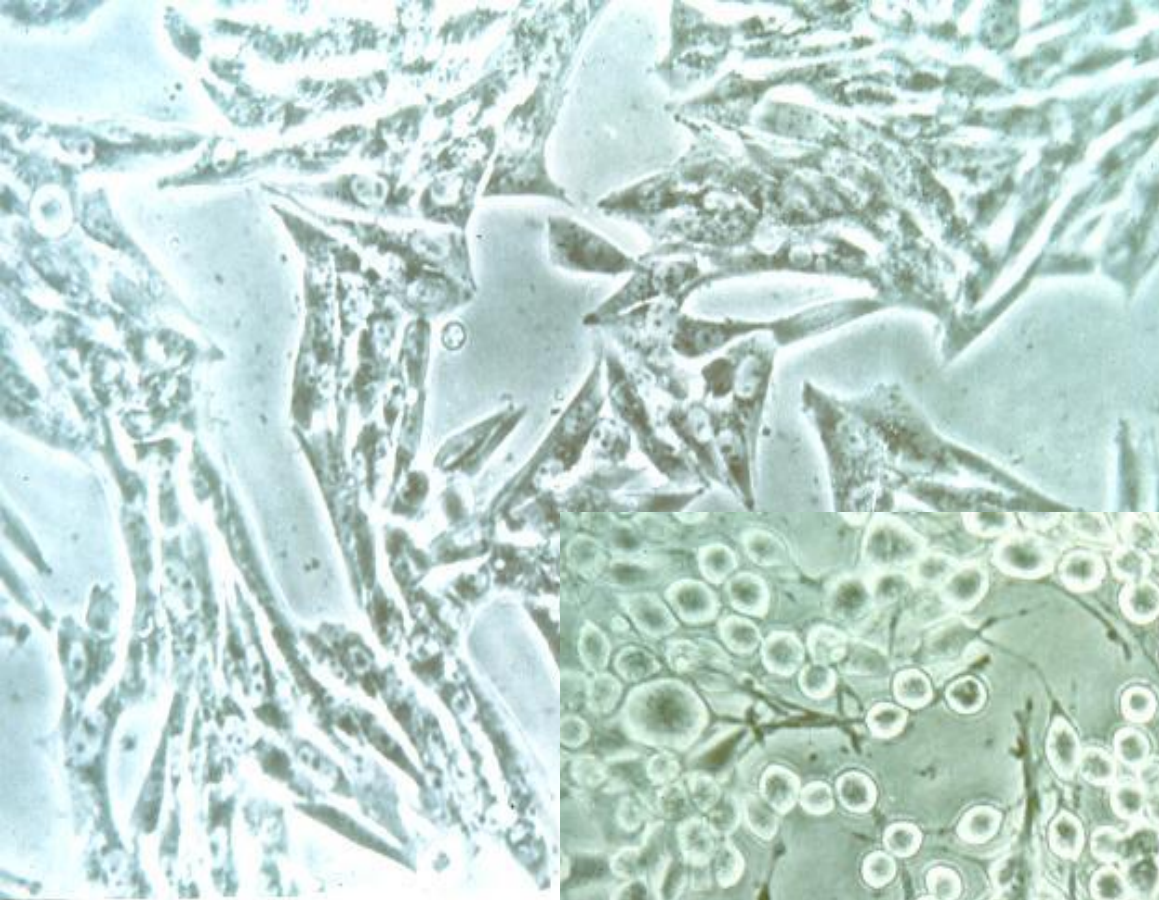
## Detection of cholera (*ctx*) and zonula occludens (*zot*) toxin genes in *Vibrio cholerae* O1, O139 and non-O1 strains

I.G. Rivera, M.A.R. Chowdhury, P.S. Sanchez, M.I. Sato, A. Huq, R.R. Colwell\* and M.T. Martins

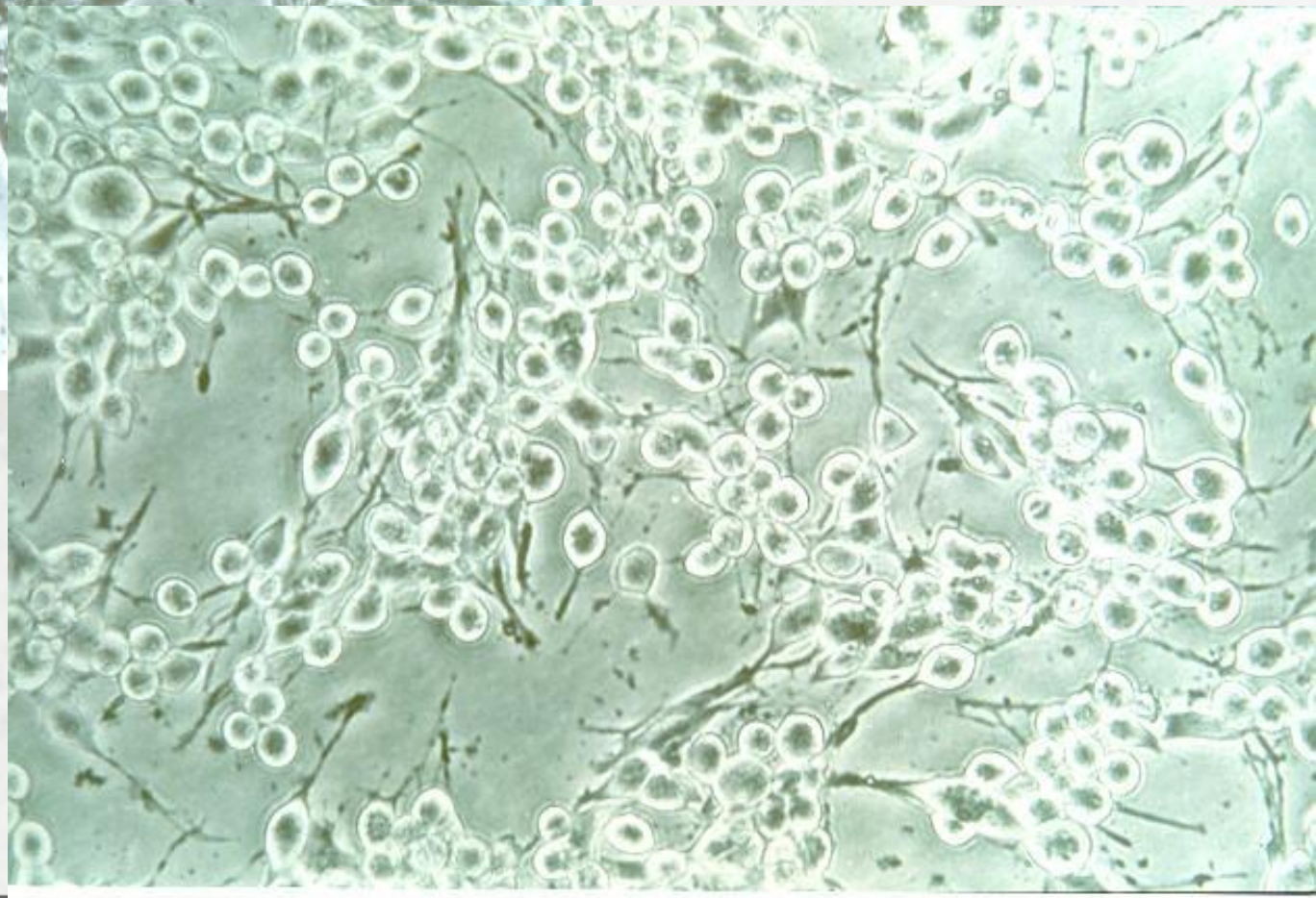
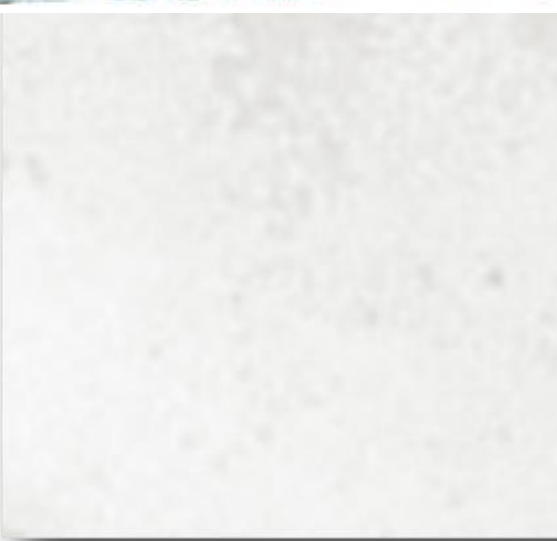
*Vibrio cholerae* O1 and *V. cholerae* non-O1 strains isolated from environmental samples collected in São Paulo, Brazil, during cholera epidemics and pre-epidemic periods were examined for the presence of toxin genes. *V. cholerae* O1 strains isolated from clinical samples in Peru and Mexico, and *V. cholerae* O139 strains from India were also examined for the presence of *ctx* (cholera toxin gene) and *zot* (zonula occludens toxin gene) by polymerase chain reaction (PCR). A modified DNA-extraction method applied in this study yielded satisfactory recovery of genomic DNA from vibrios. Results showed that strains of *V. cholerae* O1 isolated during the pre-epidemic period were *ctx*<sup>-</sup>/*zot*<sup>-</sup> whereas strains isolated during the epidemic were *ctx*<sup>+</sup>/*zot*<sup>+</sup>. All *V. cholerae* non-O1 strains tested in the study were *ctx*<sup>-</sup>/*zot*<sup>-</sup>, whereas all *V. cholerae* O139 strains were *ctx*<sup>+</sup>/*zot*<sup>+</sup>. Rapid detection of the virulence genes (*ctx* and *zot*) can be achieved by PCR and this can serve as an important tool in the epidemiology and surveillance of *V. cholerae*.

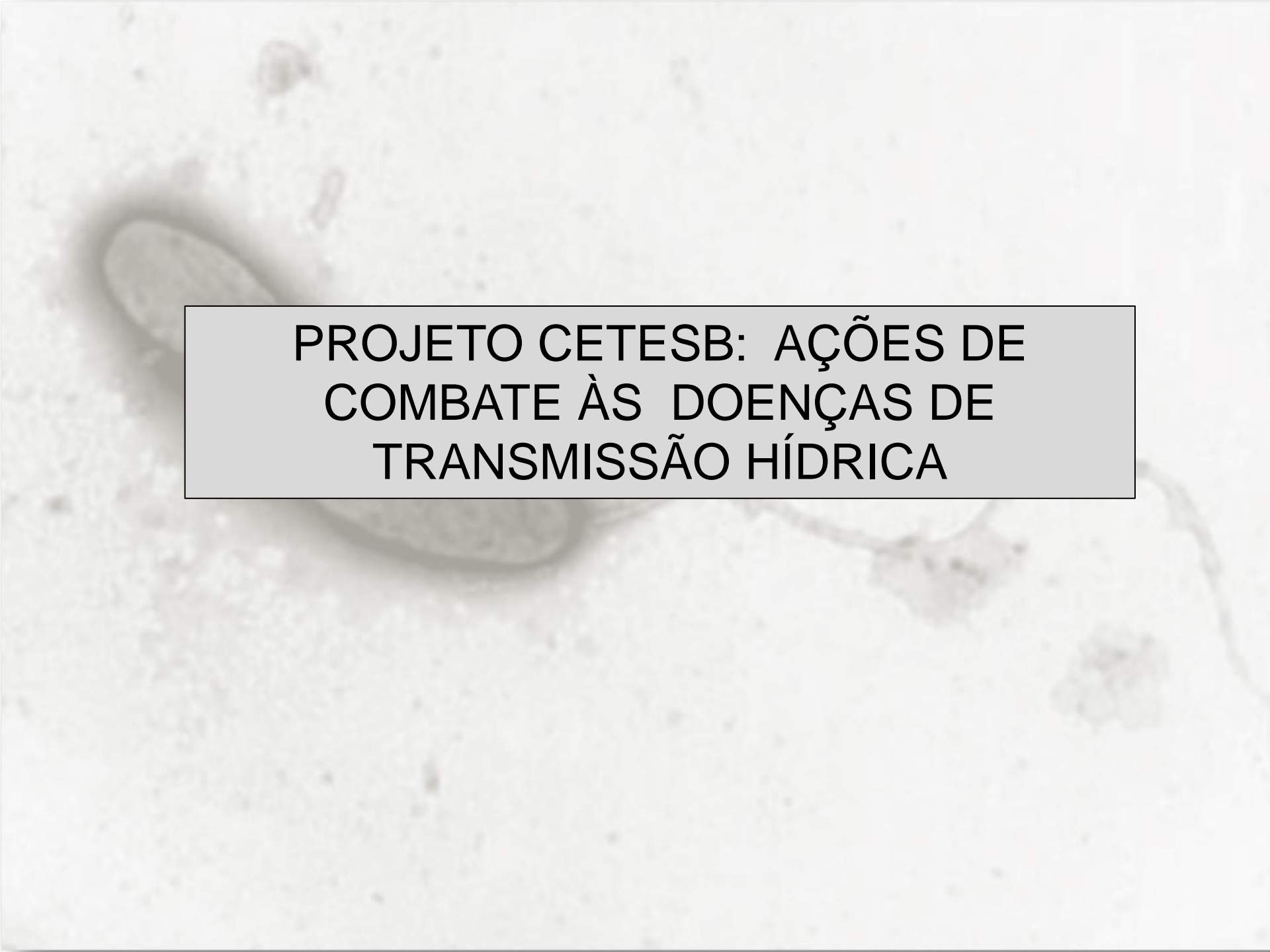
**Key words:** Cholera toxin, PCR, *Vibrio cholerae* non-O1, *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O139, Zonula occludens toxin.

Linhagens de *Vibrio cholerae* O1 isoladas durante o período pré-epidêmico foram negativas para toxinas CTX e ZOT. Linhagens clínicas e ambientais isoladas durante os períodos epidêmicos foram positivas para CTX e ZOT.



**Cultura celular**  
**Células Y-1 de Adrenal de**  
**Camundongo**





**PROJETO CETESB: AÇÕES DE  
COMBATE ÀS DOENÇAS DE  
TRANSMISSÃO HÍDRICA**

# AÇÕES DE COMBATE ÀS DOENÇAS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA

- OS 11.200.900
- Atividade da Sub Ação 11 (Monitoramento da qualidade ambiental)
- Apoio técnico aos trabalhos de dois grupos de trabalho coordenados pela Secretaria da Saúde:
  - 1) Cólera e outras Doenças Transmitidas por Alimentos (ampliada em 1999).
  - 2) Segurança Alimentar e Saúde (criada em 1998)

# Ações da CETESB

## 1991 a 1996

31 locais monitorados em regiões críticas

### Pontos de coleta

Entrada de ETEs  
Elevatórias  
Hospitais  
Terminais rodoviários  
Aeroportos  
Favelas  
Poços de visita  
Represa Billing  
Represa Guarapiranga  
Porto de Santos  
Porto de São Sebastião

### Municípios

São Paulo  
Santos  
São Vicente  
Campinas  
Bertioga  
Araçatuba  
Baruru  
Aparecida do Norte

# Ações da CETESB

## Resultados do monitoramento 1991 a 1996

<b>Local de coleta</b>	<b>Nº de amostras positivas</b>	<b>Porcentagem de amostras positivas*</b>
Aeroportos	3	9,4
Rodoviárias	13	40,6
ETE/EEE		
São Paulo	8	25,0
Litoral	6	18,7
Rio Pinheiros	2	6,2

\* Total de amostras coletadas e analisadas: 6954



# Pesquisa de *Vibrio cholerae* na ocorrência de casos clínicos

1994 – aumento dos casos autóctones registrados em Santos e São Vicente

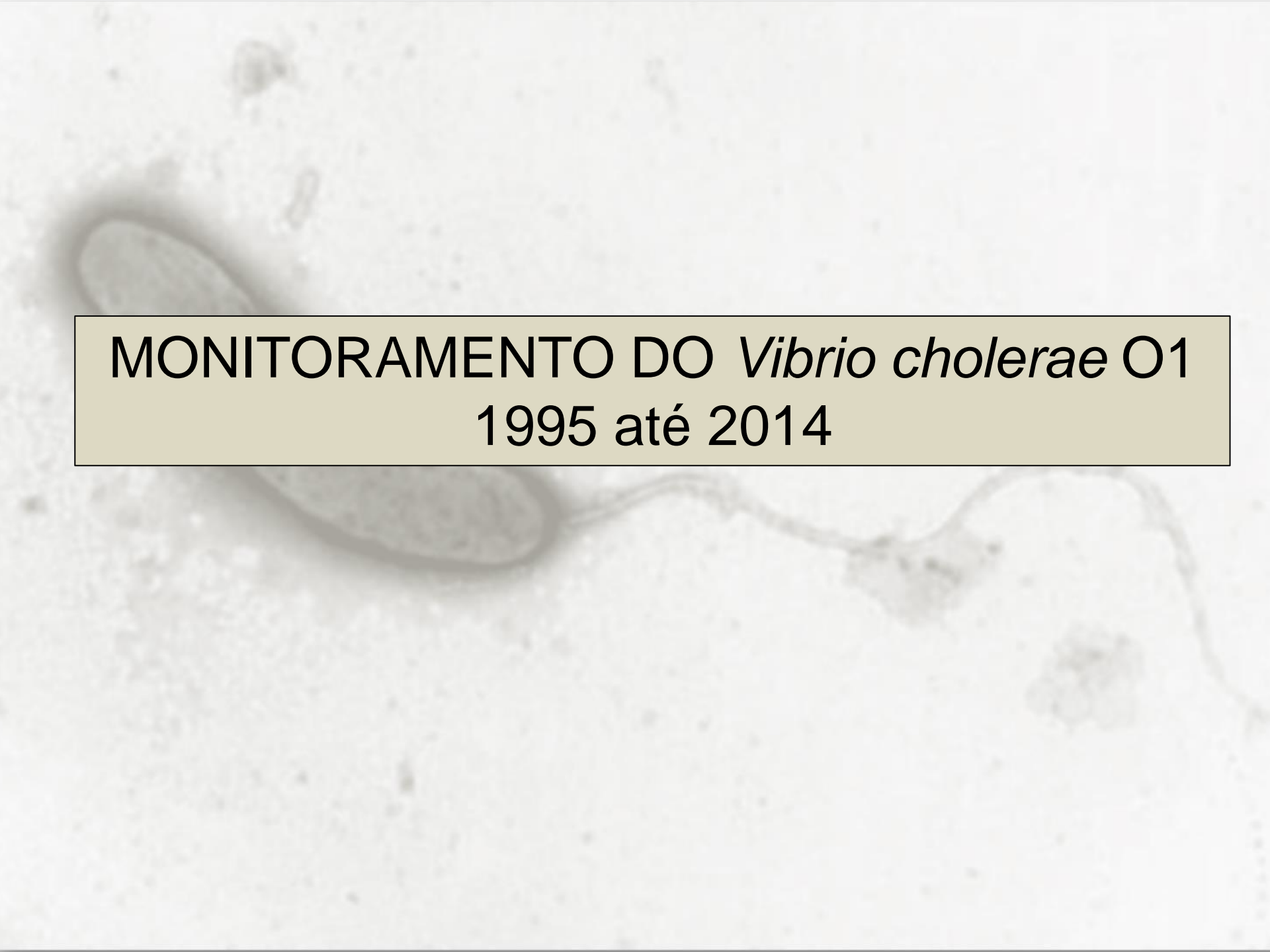
Notificação do caso – CVS - CETESB

Coleta e pesquisa de *Vibrio cholerae* em **678** ocorrências de casos clínicos



Isolamento de 7 amostras positivas em esgoto (*V. cholerae* O1, biotipo El Tor, sorotipo Inaba ) e uma amostra sorotipo Ogawa

Coleta e análise de esgoto e eventualmente água de consumo humano próximo a residência do caso confirmado

A microscopic image of Vibrio cholerae O1 bacteria, showing several curved, comma-shaped organisms with flagella. The bacteria are light-colored and set against a dark, grainy background.

MONITORAMENTO DO *Vibrio cholerae* O1  
1995 até 2014

# PONTOS DE MONITORAMENTO

Pontos de entrada potenciais do vibrião no Estado

Terminal rodoviário do Tietê

Terminal rodoviário da Barra Funda

Aeroporto de Cumbica

Aeroporto de Congonhas

Aeroporto de Viracopos

Porto de Santos – Emissário Rebouças

Porto de Santos – Estaleiro da CODESP

Porto de São Sebastião

ETE Barueri\*

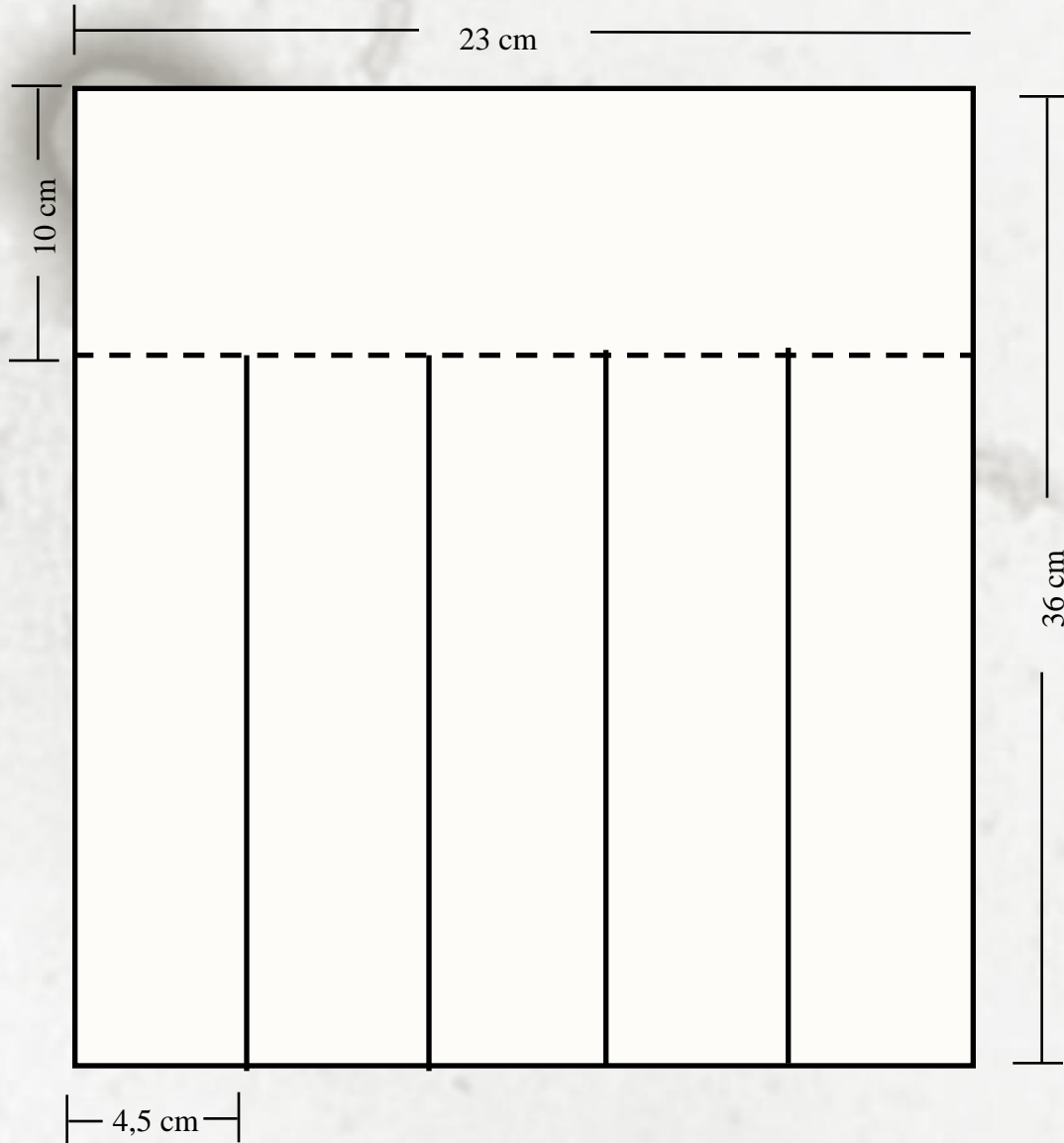
ETE Parque Novo Mundo\*

\* Incluídas em janeiro de 2014



**MÉTODOS DE COLETA DAS  
AMOSTRAS**

# Mecha de Moore



# COLOCAÇÃO E RETIRADA DA MECCHA DO POÇO DE VISITA



A microscopic image of a nematode worm, likely a nematode, showing its characteristic cylindrical body and head region. The worm is positioned horizontally across the frame. A semi-transparent yellow rectangular box is overlaid on the worm's body, containing the text "MÉTODOS ANALÍTICOS" in black, bold, uppercase letters.

# MÉTODOS ANALÍTICOS



CETESB

# NORMA TÉCNICA

L5.507

PCW1502  
55 PÁGINAS

Isolamento e identificação de vibrio cholerae em água e esgoto.

Baseada na técnica publicada nas Seção 9260 do Standard Methods

Método qualitativo, com etapas de enriquecimento, isolamento das colônias em meio seletivo, identificação bioquímica e sorologia



ÁGUA OU ESGOTO

Técnica de Moore

Membrana Filtrante

Inoculação direta

Água Peptonada Alcalina

Concentração Dupla ; 6 a 8 horas / 35°C

Agar TCBS

18 a 24 horas / 35°C

Água Peptonada Alcalina Conc.. Simples

6 a 8 horas / 35°C

Agar TCBS

18 a 24 horas / 35°C

IAL e Agar Nutriente

18 a 24 horas / 35°C

OXIDASE

Sorologia (Soro polivalente anti-*V.cholerae*)

Série Bioquímica

Lisina, Arginina, Ornitina, Manose, Arabinose,  
Sacarose, Manito, Inositol, Gelatina, OF

SOROLOGIA PARA DETERMINAÇÃO  
DOS SOROTIPOS OGAWA, INABA E  
HIKOJIMA

# INOCULAÇÃO DA AMOSTRA

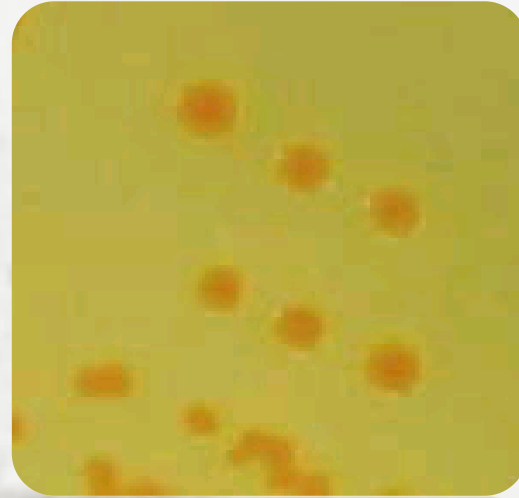
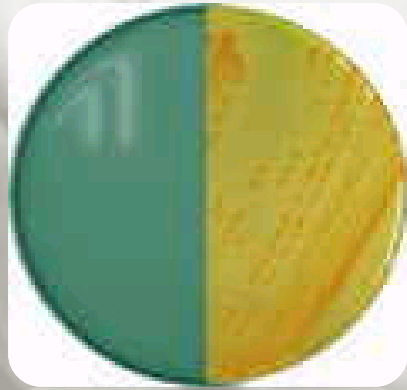


# ENRIQUECIMENTO

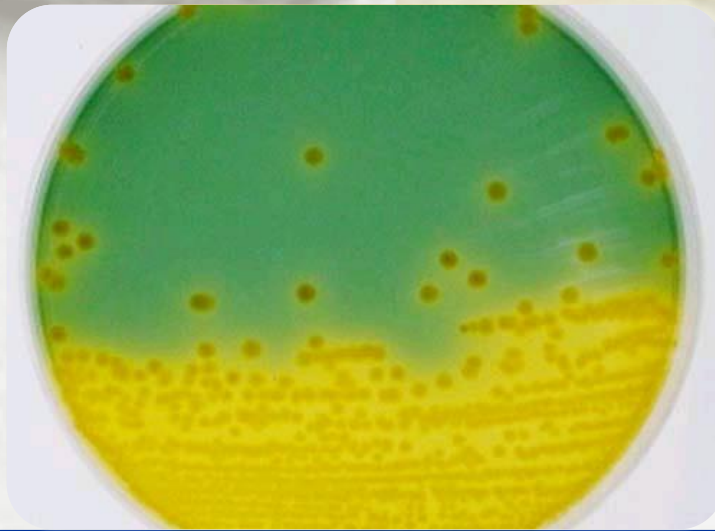


Água peptonada  
alcalina

# ISOLAMENTO DAS COLÔNIAS TÍPICAS



Ágar TCBS



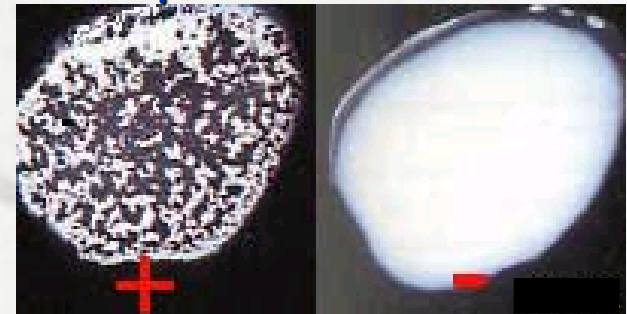
# IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA



# SOROLOGIA



**Soro específico**      **Controle**



**SOROLOGIA +**

OBRIGADA PELA ATENÇÃO!!!!

PERGUNTAS????

Elayse Maria Hachich  
Divisão de Microbiologia e Parasitologia  
CETESB[  
Elp\_cetesb@sp.gov.br



SECRETARIA DO  
MEIO AMBIENTE



GOVERNO DE  
SÃO PAULO