

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

VOL. I • DEZEMBRO DE 1941 • NÚM. 2



AV. DR. ARNALDO, 3
SÃO PAULO - BRASIL

A Revista do Instituto Adolfo Lutz é publicada sob a forma de fascículos, que serão reunidos em volume, e não tem data certa de aparecimento.

Será enviada, mediante solicitação, às instituições científicas interessadas, ou por permuta com publicações congêneres.

Toda a correspondência referente à Revista deve ser dirigida ao Diretor do Instituto Adolfo Lutz:

DR. J. P. DE CARVALHO LIMA

Avenida Dr. Arnaldo, 3
São Paulo — Brasil

DEPARTAMENTO DE SAUDE DO ESTADO DE
SÃO PAULO

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAUDE PÚBLICA

VOL. I

DEZEMBRO DE 1941

N.º 2



AVENIDA DR. ARNALDO, 3
SÃO PAULO — BRASIL

SUMÁRIO

	PÁGINA
PROF. RAUL BRIQUET — Adolfo Lutz	203
NICOLAU ROSSETTI — Um novo problema sanitário em S. Paulo. Primeiros resultados de um inquérito sobre as Tinhãs	217
A. FRANCIA MARTINS — Sobre o padrão bacteriológico do leite em São Paulo	304
BRUNO RANGEL PESTANA, MARIA ARANTES E ETTORE RUGAI — Pasteurelose humana	357
HASSIB ASHCAR — Considerações sobre os animais de laboratório ETTORE RUGAI — Estudo comparativo entre o meio de Levine e Vaughn e um novo meio, isento de peptona, para determinação da produção de H ₂ S pelas bactérias	361
J. O. COUTINHO — Dados epidemiológicos sobre a doença de Chagas, em uma zona restrita do Estado de São Paulo	381
MARCELO OSVALDO ÁLVARES CORRÊA — Técnica do preparo da vacina e antígeno para a Leishmaniose tegumentar americana ...	389
FLORIANO DE ALMEIDA, CARLOS DA S. LACAZ e OLGA DE BARROS — Orientação prática para a identificação das leveduras	396
JOÃO MONTENEGRO — Nodosidades juxta-articulares de Lutz-Jeanselme	447
MÁRIO SAMPAIO MELO — Teores de acidez em farinhas	457
RENATO FONSECA RIBEIRO e ANA GOMES — Teor de ácido ascórbico em tomates frescos (<i>Lycopersicum esculentum</i>) e massas de tomates	476
Índice geral do Volume I	483

ADOLFO LUTZ *

“Exemplo e Glória da Ciência Médica Brasileira”

PROF. DR. RAUL BRIQUET

Professor Catedrático da Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo

Muito acertada nos parece a realização desta sessão conjunta do Instituto Adolfo Lutz, da Sociedade Paulista de História da Medicina e da Sociedade Sul-Riograndense de S. Paulo que se reúnem, hoje, afim de comemorarem, aquelas, o primeiro aniversário da morte de um dos seus mais insígnos patronos, e, esta, de enaltecer um exemplo da culminância a que atingiu, no Brasil, a ciência nos domínios da biologia e da medicina experimental.

Para justificativa deste nosso juízo encomiástico sobre Adolfo Lutz, ouçamos, preliminarmente, as opiniões de alguns seus companheiros de trabalho, que com ele conviveram cerca de trinta anos.

Define-o Miguel Osório de Almeida: “Um grande e verdadeiro homem ao serviço de coisas muito elevadas, e superiores: a ciência, a humanidade. Lutz foi para todos nós um mestre, um exemplo, uma lição. Se o seu nome está há muito incorporado à história das ciências no Brasil, as suas descobertas e seus trabalhos pertencem ao patrimônio do saber humano, tivemos nós, os de Manguinhos, esse privilégio de viver a seu lado, de receber diretamente os seus ensinamentos, de conhecer de perto esse homem extraordinário e singular. Cada um de nós deve a ele alguma coisa de muito precioso: idéias, fatos, críticas, observações... Lutz era para nós um símbolo: era o sábio, o grande e autêntico sábio, uma criação constante e ininterrupta da ciência, feita pela inteligência na alma sincera de um homem bom e sensível”. (1)

Para Henrique B. Aragão é: “individualidade científica de inegalável capacidade e valor, que por mais de 60 anos, primeira-

* Conferência realizada no Instituto Adolfo Lutz, em 6-10-41, em comemoração à data do primeiro aniversário da morte de Adolfo Lutz.

mente no estrangeiro, logo depois no Instituto Bacteriológico, e, finalmente, conosco em Manguinhos, vem mantendo um nível de labor e produtividade único e que talvez jamais sejam superados". (2)

A Celestino Bourroul empolga: "a obra de Lutz, que aturde a imaginação diante de sua grandeza, de sua solidez, de seus frutos". (3)

Carlos Chagas, nas Memórias do Instituto Osvaldo Cruz, em 1925, exalta: "Tanta luz e tamanha perspicácia, a visão divinatória e o gênio criador desse homem singular, tanto descortínio e tão raro discernimento. A obra científica de Adolfo Lutz é sem dúvida a mais notável que haja sido realizada, em nosso país, por um só pesquisador". (4)

Olimpio Fonseca Filho tem-no como: "Figura impar no cenário da medicina brasileira. Exemplo edificante para as gerações futuras que se entregam à investigação científica em nosso país". (5)

Ao ver da Candido de Melo Leitão é: "O mais completo homem de ciência que, no domínio da Biologia, já possuiu o Brasil". (6)

Carvalho Lima assegura que: "Dificilmente se penetra em assunto de Microbiologia ou Protozoologia sem que por aí tenha passado Lutz... Tornou-se a maior fator da organização de Manguinhos e da formação científica dos seus pesquisadores". (7)

Exalta-o Otávio Magalhães como: "Digno de respeito e admiração pelo heroísmo obscuro de todos os dias, de todas as horas, na luta pelos homens, na sua defesa dos seus semelhantes". (8)

Artur Neiva reconhece que nele: "uma força interior mantinha, no homem excepcional que foi, a chama viva de um entusiasmo que o acompanhou até os últimos dias". (9)

Aroeira Neves declara: "Nada no domínio da medicina humana e veterinária lhe passou despercebido, tudo perscrutando e analisando". (10)

Rangel Pestana (Bruno) considera: "O Instituto Bacteriológico de São Paulo", obra de Adolfo Lutz e seus discípulos, padrão de glória e da higiene paulista, como sendo "a primeira Escola de Medicina Experimental do Brasil". A Adolfo Lutz é que se deve a orientação da maior parte dos trabalhos efetuados no Instituto Bacteriológico. Trabalhando dia e noite, com amor e dedicação, esse sábio médico e biólogo, não só estudava questões de bacteriologia e higiene, como a zoologia médica, ensinando sempre a todos que procuravam ouvir a sua opinião de mestre". (11)

Para Travassos, A. Lutz é: “uma impressionante individualidade, uma das figuras mais perfeitas de sábio e um grande exemplo de dedicação ao estudo”. (13)

E, para terminar, Eduardo Vaz relembra: o “pesquisador excepcional, que durante sessenta anos trabalhou ininterruptamente”. (15)

Depreende-se das citações supra que não fomos hiperbólicos ao cognominá-lo exemplo e glória da ciência médica brasileira.

Não privamos propriamente com Adolfo Lutz, sem embargo de havermos, por vezes, frequentado a sua casa e o Instituto Bacteriológico entre 1906 e 1907. Fôramos apresentados à sua exma. esposa — Dna. Ana Lutz, pelo Rev. Pe. Jacinto Lacomme, superior dos Dominicanos em Uberaba, figura suavíssima, que recordamos com saudade, e que se votara à catequese dos índios do Araguáia, em um arroubo místico que o libertou já moço da terrenidade desta vida. A sra. Lutz era em extremo católica, e, com tal apresentação, concedeu-nos a honra de participar mais de uma vez do jantar da família. Bem nos lembra a figura do sábio, à cabeceira, pendida sobre uma revista ou livro, indiferente aos circunstantes; terminava a refeição como a tinha começado — absorto na leitura.

A vocação de naturalista madrugou em Lutz. Informou-nos sua filha, exma. Dona Berta, que, desde pequeno, interessava-se pelas coisas da natureza. Teria oito anos quando leu a notícia de que, nos arredores de Berna, um hoteleiro havia apanhado belíssima e rara borboleta. O menino não se conteve; jantou e lá se foi, a pé e às pressas, à busca do tesouro anunciado. Qual não foi o espanto do dono da casa ao lhe bater à porta, já noite, um menino fatigado, poeirento, pedindo-lhe para ver o inseto. Não só lhe satisfez a sofreguidão, deixando que se fartasse de contemplar o lepidóptero, como também, levou-o de carro, para casa.

Lutz resolveu problemas numerosos e complexos de biologia animal e de medicina experimental por possuir, ao lado de singular capacidade investigadora, sólida formação não só científica como também clínica. Entre outros, foram seus mestres — Lister (1879-1888), em Londres, com quem aprendeu a prática antisséptica, e Unna, de Hamburgo (1886), que tanto concorreu para o progresso da dermatologia moderna.

Guardava desse tirocínio uma soma marcada de conhecimentos, sempre utilizável graças a ótima memória. Certa vez, em Belo Horizonte, o Dr. Otávio Magalhães mostrava-lhe alguns casos de

diagnóstico difícil, e, apresentando-lhe um doente com caroços no antebraço, disse: "Este, com certeza, o sr não diagnostica". O Dr. Lutz examinou as tumefações, fez algumas perguntas ao doente, e, voltando-se para o colega, respondeu: "Abra, que muito provavelmente encontrará um cisticerco". Com efeito, a incisão confirmava o diagnóstico.

Formado em Berna, no ano de 1879, veio para o Estado de S. Paulo, onde clinicou na Limeira durante cerca de quatro anos, e com tal êxito que grangeou logo grande fama e bons proventos financeiros. A despeito, aceitou a indicação para diretor do Leprosário de Molucaí, no arquipélago de Havai, onde esteve em 1890 e 1891, de lá regressando definitivamente para o Brasil. A sua indicação para Havai partira de Unna, que o recomendara ao Governo holandês, e lá desenvolveu estudo intenso, sob todos os aspectos, do terrível flagelo. Assim se explica o interesse que sempre nutriu pelos problemas da lepra.

Conforme nos disse a sua exma. filha, conhecia a fundo o grego e o latim, falava e escrevia corretamente o português, o francês, o alemão e o inglês, e aprazia-se em recitar, no original, Homero, Shakespeare, e os clássicos alemães, principalmente Chamisso, que fôra botânico.

Lutz preenchia o requisito indispensável do pesquisador que é a harmonia entre a teoria e a prática. "O experimentador digno desse nome, dizia Cl. Bernard, deve ser a um tempo teórico e prático. Se deve possuir, de modo completo, a arte de instituir os fatos da experiência, que são as matérias da ciência, deve ter bem claros no espírito os princípios científicos que dirigem o raciocínio no decurso tão variado do estudo experimental dos fenômenos da vida. Seria impossível separar a cabeça da mão. A mão habil sem a cabeça que a dirija é instrumento cego; a cabeça sem a mão que execute fica impotente". (Introd. Et. Med. Exp., 2.^a ed. p. 18). Essa formação humanística e essa cultura, tão raras hoje em dia, criaram as condições magníficas para o aturado trabalho que sustentou durante doze lustres.

Tinha aprendido com toda a nitidez e segurança a unidade na variedade dos fenômenos biológicos; distinguia o essencial do secundário; não se detinha em considerações pseudo-científicas, e possuía o dom, que Chagas chamou de visão divinatória, de ferir diretamente o ponto decisivo do problema.

Sabia que, se a cultura deve ser geral, a especialidade requer o aperfeiçoamento técnico. Aquí ainda obedecia ao preceito de Cl. Bernard: "Compreende-se, com efeito, que, em certas ciências, os meios de observação e de experiência havendo-se tornado instrumentos de todo especializados, o manejo deles exija certo hábito e reclama habilidade manual ou o aperfeiçoamento de determinados sentidos. Admite-se a especialidade para tudo quanto seja prático na ciência, mas rejeita-se, de modo absoluto, para tudo que seja teórico". (op. cit., pg. 43). Por isso, aludindo aos especialistas escotomizados para a apreciação sintética, Lutz considerava: "São uns seres felizes; presumem saber ilimitadamente todo o setor científico em que trabalham, e se arrogam o direito de poder ignorar tudo o mais". (Neiva, op. cit.).

A bibliografia de Lutz é extensíssima. Na publicada em Maio de 1941 (Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, t. 36, F. 1), com que Neiva completa a de Lent, de 1935, e à qual se deve reportar necessariamente o leitor, registam-se 211 trabalhos.

Podem-se distinguir na vida científica de Lutz dois grandes períodos: o de S. Paulo e o de Manguinhos.

I — Em S. Paulo, destacam-se, entre outros problemas que mereceram a argúcia da sua observação, os da febre amarela, febre tifóide, peste bubônica, cólera e malária, sobrelevando o da febre amarela.

Cabe a Lutz e glória de ter sido o primeiro cientista no mundo que repetiu e confirmou as experiências dos médicos norte-americanos em Havana. Sem dúvida, para a realização dessas experiências célebres, precisava, e obteve, a entusiástica colaboração do muito ilustre diretor do Serviço Sanitário — Emílio Ribas, e de colegas dedicados à causa da ciência e da Humanidade, — Pereira Barreto, Silva Rodrigues e Adriano Barros, — que se submeteram, com Ribas e Lutz, à picada de mosquito infectado. A comprovação da teoria havanesa só foi possível, todavia, graças ao seu espírito prevenido e preparado, pelas experiências e pela meditação, para captar a conjunção de circunstâncias favoráveis, — condição essa a que Pasteur atribue grande papel nas descobertas. "Se não tivesse feito as observações já citadas sobre os mosquitos de Campinas (1889), declara ele, não me teria sido possível, mais tarde, logo que recebi, por carta, as primeiras notícias sobre as experiências demonstrativas, feitas em Havana, designar, sem hesitação, o mosquito culpado

entre nós, mas que não existia na cidade de S. Paulo". (Reminiscências sobre a febre amarela no Est. S. Paulo, Memórias do Inst. O. Cruz).

Realça, pois, o mérito de Lutz o haver precedido a experiências com mosquitos que não tinham *habitat* em S. Paulo, e que eram transportados de pontos epidêmicos distantes.

Estabeleceu as duas seguintes condições para as experiências:

- 1.º — Os pacientes seriam voluntários, e neles se incluíam o diretor do Serviço Sanitário, Dr. Emílio Ribas, e a ele próprio.
- 2.º — Não seriam picados por mosquitos que houvessem sugado doentes que vieram a falecer, afim de excluir o vírus mais violento, e evitar, quanto possível, infecções fatais. Daí a demora de quasi um ano antes de iniciadas as experiências, porque não só a maioria dos casos que serviam para alimentar os mosquitos tiveram desfecho fatal, como também porque os mosquitos infectados, procedentes de logares muito distantes, morriam antes que a picada deles fosse infectante.

Como contra-prova, foram colocadas as pessoas voluntárias em contacto com as roupas servidas, poluídas por secreções ou dejeções dos pacientes, afim de demonstrar a não transmissibilidade da doença por tais meios.

Não é aqui ocasião de referir os pormenores das experiências descritas na publicação "Reminiscências da Febre Amarela no Estado de São Paulo em as Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, (tomo n. 3, 1930)". Em 1902, vai ao Rio, por ocasião da epidemia de febre amarela, e tenta persuadir o antecessor de Oswaldo Cruz sobre a necessidade da extinção dos mosquitos (Bourroul). E insiste no postulado: "Cada moléstia infecciosa ou parasitária requer uma profilaxia baseada na biologia do parasito ou do seu transmissor".

Em 1903, estava extinta a febre amarela em S. Paulo. No mês de Março desse ano, Oswaldo Cruz tomava posse do cargo de diretor da Saude Pública do Rio de Janeiro e encetava a campanha sanitária que tão justamente lhe glorificou o nome.

Nas Reminiscências, acima mencionadas, Lutz refere-se à febre amarela silvestre, nos seguintes termos: "em uma aldêia de índios,

do Rio Verde, por ocasião da construção da via férrea de Funil a Campinas, encontrou, nos trabalhadores, febre amarela sem vestígios de larvas ou adultos de *Stegomyia*, não faltando, porém, mosquitos do mato. Acha o fato interessante porque, na África, descobriu-se a febre amarela transmitida por mosquitos diferentes do *Stegomyia* caseiro. Embora rara, não deixa de ser interessante verificar a existência de outras espécies que podem transmitir o vírus". A nota, adverte Soper, da Rockefeller Foundation, merece um único reparo, a saber: o de que o fato não é raro e excepcional, como supunha Lutz". (12)

Disse Bruno Rangel Pestana que Lutz fundou a primeira Escola Brasileira de Medicina Experimental. Com efeito, ao substituir Le Dantec na direção do Instituto Bacteriológico, deu-lhe marcada orientação experimental. Graças às suas investigações, dissipou o mito das "febres paulistas", consideradas como formas especiais de malária, peculiares ao nosso estado. Demonstrou que se tratava de casos de febre tifóide, comprovada pela autópsia e pelo exame sorológico. Enviou a Eberth a cultura da *Eberthella typhosa* e preparações do intestino com lesões características, que receberam a sanção do patologista alemão.

Igualmente provou a existência da cólera-morbo em S. Paulo, mandando culturas para o Prof. Dumbar, do Instituto de Higiene de Hamburgo, que aprovou o diagnóstico.

Do mesmo modo, assegurou a presença da peste bubônica em Santos (1899), afirmação aceita por Chapot Prevost e Osvaldo Cruz. Remeteu as preparações de cultura e de suco ganglionar a Patrick Manson, em Londres, a Metchnikoff, em Paris, e a Dumbar e Nocht, em Hamburgo, havendo todos concordado com o diagnóstico. (Resumo dos Trabalhos do Inst. Biol. de São Paulo, de 1892 a 1906, em Rev. Med. S. Paulo, 1907).

Vê-se, nesses três exemplos, da febre tifóide, da cólera e da peste bubônica, a prudência com que fundamentava o diagnóstico, ao depois confirmado pelos grandes especialistas no assunto.

Descobriu, em 1897, nas matas do Alto da Serra, quando se fazia a duplicação das linhas da S. Paulo Railway, a forma silvestre da malária, transmitida pela *Myomyia Lutzii*, e que descreveu no artigo "Waldmosquitos und Waldmalária" (1903).

Encontrou mosquitos nos depósitos de água de chuva, nas bromeliáceas "verdadeiros pântanos aéreos" na expressão elegante de

Bourroul. Foi ainda Lutz quem, em 1928, preveniu o perigo de transporte de *Anopheles Gambiae* pelas malas postais vindas de Dakar; dois anos depois Schannon confirmava a presença, em Natal, do temível inseto.

Em Manguinhos, a produção de Lutz avulta impressionante. De 1909 a 1939 contam-se 126 contribuições.

Citaremos dois problemas que lhe despertaram atenção especial: o da lepra e o da esquistomose.

1) — A lepra interessa a todos, como problema médico-social, mormente ao médico nos países tropicais. A ele se voltou Lutz sempre com entusiasmo; em 1886, já havia publicado uma contribuição para a morfologia do micobactério ao qual denominava *coccothrix Leprae*, trabalho esse em que provou a existência de granulações que, portanto, não justificam o nome de bacilo.

Parece-nos um dos pontos luminosos do espírito de Lutz o modo como aconselha orientar as investigações no sentido de se averiguar a transmissão da lepra pelo mosquito. De começo, lembra a regra áurea da Medicina Experimental: “O animal sugador de sangue é o meio normal de passagem de parasitos do sistema circulatório de um indivíduo para outro”. (Transmissão da Lepra por Mosquitos e sua Profilaxia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, t. 34, 1934, p. 475).

“Na lepra, a lesão inicial, em muitos casos incipientes, é uma placa eritematosa que caracteriza talvez o ponto de inoculação. Essa lesão ocupa, em geral, regiões da pele habitualmente descobertas, e, para muitos seria consecutiva a desordens nervosas e vasculares. As máculas que ocupam a linha mediana do corpo não falam, todavia, em favor desta teoria. Pelo contrário, parece que o processo se alastra como a dermatomicose ou a mancha de azeite em folha de papel”. (Reminiscência Dermatológicas. Folha Médica, 1921, 2.º v., p. 145-146).

Na “Transmissão da Lepra e suas Indicações Profiláticas” (Memórias Inst. O. Cruz, 1936, v. 31) adverte que: “Todas as experiências de contágio direto falharam salvo em um ou outro caso, aliás duvidoso. Tais resultados contradizem por completo a idéia de que a emissão de germes pelos doentes, por descamação, secreção ou excreção, possa infectar outro indivíduo. Concordam, pois, com a observação anteriormente feita de que os morféticos não são infecciosos nas grandes capitais européias. Qual o elemen-

to, então, pergunta Lutz, encontrado nos países europeus, e que desapareceu atualmente daquelas regiões, onde a lepra reinava intensa conforme demonstram os antigos leprosários ali existentes? — Uma única resposta a essa pergunta se impõe. Deve ser um agente vivo, que depois de sugar o sangue ou a linfa de doentes leprosos, em condições apropriadas, pode infectar pessoas sãs. A infecção não se produzirá necessariamente logo após, mas depois de um período de transformação e multiplicação do germe. Logo, o essencial é descobrir esse agente vivo intermediário.

“Não interessam os sugadores ubiquitários (pulga, persevejo, piolho), porque são encontrados tanto nos países infectados como nos indenes de lepra. Os únicos sugadores de sangue que podem ser tomados em consideração são os dípteros, principalmente os mosquitos”. Explicando o motivo por que a teoria dele não tem sido experimentada, recorda que “cada noção nova de patologia, que surge, encontra resistência tenaz por parte dos que se satisfazem com as explicações falhas anteriores”.

Entende que as experiências feitas com o *Aedes Egypti*, o *Culex fatigans* ou *quinquefasciatus* não obedeceram ao necessário determinismo: daí os resultados negativos cujas causas enumera e analisa. Entre outras, acentua o fato que o vírus também existe sob a forma granular, e pode até ter ação mais infectante do que sob a forma bacilar.

Tais considerações coincidem com as conclusões a que chegou J. Maria Gomes, em Agosto de 1940, sobre a fase evolutiva e involutiva do ciclo vital do micobactério da lepra. Na primeira, sucedem-se o vírus, o bacilo ácido-resistente homogêneo, depois o granuloso, a granulação ácido-resistente e a poeira ácido-resistente. Na segunda, o bacilo ácido-resistente homogêneo, o fragmentado, o ácido-sensível, a granulação ácido-sensível e a destruição. (Rev. Med. Bras. Ag. 1940, p. 161-162).

“Tanto quanto sabe, dizia Lutz, ainda não foi pesquisado o desenvolvimento ulterior do germe da lepra no mosquito”. Indica dois mosquitos a serem estudados — o *Culex quinquefasciatus* e o *Culex ochlerotatus*. No seu entender, “não é aconselhável fazer experiências com o germe da lepra humana senão com o bacilo de Stefansky da lepra murina”.

Para Lutz, o isolamento dos doentes, sem a profilaxia anticulicidiana, não extinguirá a lepra; na China, que é um dos focos mais

intensos no mundo, não produziu os resultados esperados. Surgem anualmente, no universo, 100.000 casos novos.

Falariam em favor da transmissão culicidiana os fatos seguintes:

a) Pessoas que adquirem a doença, embora não tenham visto ou conhecido leproso algum; b) Formação de focos em lugares determinados, e ausência deles em outros; a introdução, por exemplo, do mosquito em Havai antes do aparecimento da lepra, a formação de focos de mosquitos que encontravam um *habitat* apropriado nas plantações de arroz; c) Dezenas de doenças conhecidas como sendo transmitidas por sugadores de sangue; d) Semelhança com a malária e com a febre amarela, que precisam de transmissor alado e hematófago.

É a única teoria de Lutz que ainda não foi comprovada, e como as suas afirmações obedecem sempre a um critério de prudência e de segurança inexcedíveis, cumpre proceder-se ao estudo experimental, que propõe, afim de solucionar-se tão magno problema.

As publicações de Lutz sobre a lepra constituem, por conseguinte, precioso repositório de conselhos, que deveriam ser meditados pelos que se interessam por tal assunto. Consulte-se, v. gr., o "Entstehung, Ausbreitung u. Bekämpfung der Lepra", Anais Ac. Bras. Ciências, Tomo 8, n. 2, 877-125, 1936.

2) — O problema da *esquistosomose*, produzido pelo trematódio *Schistosomum Mansoni*, é premente para certos estados do Brasil, tendo reclamado cuidado especial de Minas Gerais. No Norte do país, ocupa o quinto lugar, vindo depois da *ancilostomíase*, *malária*, *sífilis* e *disenteria*.

Lutz estabeleceu o ciclo evolutivo da *cercaria*, que se hospeda no gastrópode *Planorbis*, caramujo de água doce. Mas, para chegar a esses resultados, quantos estudos novos! Teve de familiarizar-se com a vida desses moluscos, que exige muita sagacidade para lhes descobrir os hábitos. Os diversos trabalhos sobre esquistosomose são exemplo da capacidade de trabalho de Lutz, que não recuava diante de nenhum obstáculo, inclusive a experiência sobre si mesmo, sendo, a um tempo, observador e paciente.

Lutz não se ateu aos labores de Manguinhos. Fez muitas viagens científicas percorrendo quasi todo o país, e, no estrangeiro, o Paraguai, a Argentina e a Venezuela. Destacaremos a que fez, no ano de 1915, subindo o São Francisco, em companhia do Dr. As-

trogildo Machado. Tinha o cuidado, como Saussure, meteorologista suíço, de registrar as impressões do dia, antes de se recolher. Estuda o aspecto particular como biólogo, e apresenta considerações oportunas sobre o que vê e observa. Julga que se deveriam montar moinhos de vento na parte baixa do rio, onde é quasi constante o vento; importar tartarugas e o peixe-boi do Amazonas, por não haver tartaruga de valor nessa bacia fluvial; recomenda o *surubi* seco, como peixe delicioso, que se desenvolve depressa, e que rivaliza com os melhores importados do estrangeiro.

Nem sempre a linguagem de Lutz é puramente técnica. Exemplo disso nos depara a contribuição — “Biologia das Águas Torrenciais e Encachoeiradas” (Arquivos Soc. Biol. de Montevidéo, 1930, Supl. Fasc. I, pag. 114-120).

Descreve de modo elegante a fauna riacófila (*rhyakos* — torrente), representada pelos mosquitos — simulídeos e blefarocídeos, cujas larvas só vivem em águas muito agitadas. “As larvas dos blefarocídeos levaram a adaptação a se fixarem na pedra lisa no meio da corrente que as levará longe no momento em que forem destacadas. O aparelho de fixação consta de meia dúzia de ventosas na face ventral. Esse meio de fixação é tão eficaz que basta metade das ventosas para resistir à corrente, o que permite uma locomoção lateral, lenta, mas perfeitamente eficaz... Quando a água é desviada, as larvas, antes imóveis, entram em movimento lateral à procura de lugar irrigado.

“A vida na água torrencial parece proteger os blefarocídeos contra parasitos internos e inimigos externos.

“As larvas dos simulídeos não são achatadas, mas têm meios de fixação que permitem a locomoção. Na extremidade da cáuda existe uma ventosa que basta para a fixação definitiva. No tórax, há uma perna falsa, com ventosa na ponta, cuja ação alternativa permite às larvas de caminharem como as lagartas das geometridas, que formam com o corpo um arco ou alça. Além disso, tem a faculdade de produzir fios de seda que lhe permitem fixar a parte anterior do corpo e deixar-se conduzir pela corrente até achar um ponto apropriado para a fixação das ventosas. A seda serve também para fazer um casulo em forma de cartucho de papel, fixado pela ponta e aberto em cima, na qual a larva se transforma em ninfa.

“À medida que a intensidade da corrente diminue, a fauna dos rios e arrôios enriquece-se de espécies que se assemelham às da água parada. As disposições especiais para resistir mais ou menos à força da corrente desaparecem e a fauna mostra apenas as adaptações gerais para a vida na água doce”.

Como se vê, bela página, digna de Buffon.

A idéia fundamental que governou a produção científica de Lutz, salienta a sua filha, Berta Lutz, é a da ligação entre a zoologia e a medicina por intermédio da Parasitologia e da Medicina Tropical, e, na Parasitologia, principalmente o estudo da transmissão de doenças por sugadores de sangue. Meticuloso, preciso e seguro, esgotava sempre o assunto. De uma feita, afirmara ele que não existia malária na capital de S. Paulo, e, como alguém objetasse que havia hematozoários nas aves e reptis, estudou-os a fundo, mostrando que pertenciam a outros gêneros e espécies diferentes dos da malária.

A tenacidade do labor é nele empolgante; quando a vista lhe foge e as cambiantes da forma e côr lhe escapam, passa a estudar os batráquios, capturando-os, ele próprio, por noites chuvosas, tarefa difícil e arriscada. (Travassos).

Do ponto de vista *moral* era de transparência sem igual. Despreocupado das cogitações materiais, só tinha em mira realizar o sonho espiritual — para o qual havia sacrificado os prazeres e confortos da existência.

Tinha em alto conceito a dignidade humana, que respeitava até nos mais humildes auxiliares. Tratava com a mesma urbanidade o branco e o preto, por não medir o mérito dos indivíduos senão pelos sentimentos e pelas obras, e nunca pelos acidentes de raça e situação social.

Esquivava-se aos dissídios frequentes em serviços onde se entrechocam competências e aspirações. Quando algum companheiro lhe falava em divergências de caráter pessoal, Lutz não só não retorquia como de pronto lhe chamava a atenção para o aspecto interessante de uma sua investigação.

Todavia, a primeira impressão que dele se recebia era a de pessoa cortês mas fria. “Solitário, escreveu Melo Leitão, como os altos cumes alcantilados, como esses picos culminantes que tantas vezes mirara em sua juventude, nos Alpes suíços. Para chegar-se

até onde ele pairava, à primeira vista inacessível, era preciso o heroísmo dos pacientes e dos estóicos, e a posse de qualidades de excepção; mas, uma vez alcançado esse pináculo, que maravilhoso panorama de erudição, de encantadora bonhomia, que recôndito tesouro não se oferecia, que ar puro se não respirava, sobejamente compensador das fadigas da ascensão!”

Teve desafetos o grande e nobre Lutz. Seria de estranhar se não os tivesse. Com efeito, se a sua missão foi a de consagrar-se à investigação científica, havia de fugir ao convívio social, que tanto absorve o tempo e a energia mental. Aliás, os sábios já são naturalmente retraídos; esquivam-se ao espírito de camaradagem extra-científica sem, por isso, fugirem à cortezia devida ao próximo e àqueles com quem convivem.

Certo, bem longe ficamos do desempenho que desejávamos dar à tarefa de esboçar alguns aspectos da vida de Lutz. Contudo, foi-nos grato evocar a figura austera do grande mestre brasileiro. Sejam quais forem as glórias futuras da ciência nacional, em particular da zoologia e medicina experimental — o nome de Adolfo Lutz será o do pioneiro máximo, que, através de longa e ininterrupta atividade, deixou insigne herança de beleza moral e científica. Dignificou a missão do homem sobre a terra, e manteve alta a chama do ideal até que a morte lhe velasse o olhar perscrutador da verdade.

A sua obra transcende de elogios e notícias biográficas, e urge que a Exma. Sra. Dona Berta Lutz, sua filha diletíssima, lhe escreva a vida, e nos dê, repassado de amor e admiração filiais, o livro que perpetuará a obra de observação e de experiência de Adolfo Lutz, tal como, sobre Pasteur, Duclaux nos legou a “História de um Espírito”.

I — COLEÇÕES ORGANIZADAS PELO DR. A. LUTZ

- A) *Instituto Osvaldo Cruz*: Culicídeos; Tabanídeos (a maior da América do Sul); Dípteros; Escorpiões; Trematódeos e outros vermes; Batráquios — a maior coleção de Hilídeos e de formas do SE do Brasil (com a coleção de B. Lutz);
- B) *Instituto Ezequiel Dias*: Ofídeos;
- C) *Museu Nacional*: Herbário com 3.000 espécies;
- D) *Instituto Butantã*: Tabanídeos.

II — NOTÍCIAS BIOGRÁFICAS E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, M. Osório de — 1940 — Adolfo Lutz. Oração Fúnebre. Rio, Out.
2. ARAGÃO, H. B. — 1940 — Osvaldo Cruz e a Escola de Manguinhos. Rio.
3. BOURROUL, C. — 1940 — Adolfo Lutz. Ass. Paulista de Medicina de S. Paulo, 24-X-1940.
4. CHAGAS, C. — 1925 — Adolfo Lutz. *Memórias do Inst. O. Cruz*, T. XVIII, f. 1.
5. FONSECA FILHO, O. — 1940 — Adolfo Lutz. Oração Fúnebre. Rio, Out.
6. LIETÃO, C. Melo — 1940 — Adolfo Lutz. Acad. Bras. Ciências, Rio, 10-XII-1940.
7. LIMA, J. P. Carvalho — 1940 — Prof. Adolfo Lutz. Est. de S. Paulo, 23-XI-1940.
8. MAGALHÃES, O. — 1940 — Adolfo Lutz. Inst. Biol. Ezeq. Dias. Belo Horizonte, 7-XI-1940.
9. NEIVA, Artur — 1941 — Adolfo Lutz. *Me. Inst. O. Cruz*, Maio 1-XXIII, com a bibliografia completa dos trabalhos de Lutz.
10. NEVES, Aroeira — 1940 — Adolfo Lutz. Inst. Biol. Ezeq. Dias, Belo Horizonte, 7-XI-1940.
11. PESTANA, Bruno Rangel — 1938 — Adolfo Lutz. Est. S. Paulo, 25-XII-1938.
12. SOPER, Fred L. — 1936 — Jungle Yellow Fever, *Rev. Hig. e Saúde Pública*, Rio, abril, v. X, n. 4.
13. TRAVASSOS, Lauro — 1941 — Adolfo Lutz, *Rev. Bras. Biol.*, Rio, n. 1.111-114.
14. VAZ, E. — 1940 — Adolfo Lutz. Soc. Paul. Hist. Med. S. Paulo, 26-XI-1940.

UM NOVO PROBLEMA SANITÁRIO EM S. PAULO

Primeiros resultados de um inquérito sobre as tinhas

NÍCOLAU ROSSETTI

Prof. catedrático de Dermatologia e Sifilografia da Escola Paulista de
Medicina — Biologista-chefe do Instituto Adolfo Lutz

SUMÁRIO

- I — Introdução
- II — Quadro estatístico atual (provisório) das tinhas na cidade de São Paulo
- III — Distribuição dos casos de tinha segundo idade, côr e sexo
- IV — Estudo clínico e parasitológico:
 - a) Fácies da flóra dermatofítica em S. Paulo
 - b) Localização das lesões das diferentes espécies
 - c) Considerações sobre o aspéto clínico, cultural, botânico e experimental:
 - 1 — Microsporias *Microsporon felineum* — *lanosum*
 - 2 — Tricofícias *Trichophyton acuminatum*
Trichophyton violaceum
Trichophyton cerebriforme
Trichophyton gypseum asteroïdes
Trichophyton gypseum granulosum
Trichophyton album
 - 3 — Favus *Achorion Schoenleinii*
Achorion gypseum, Bodin
Achorion gallinae
- V — As tinhas nos agrupamentos humanos:
 - a) As tinhas nas famílias — Transmissão por meio de animais domésticos
 - b) As tinhas nas escolas
 - c) As tinhas nos asilos de crianças
- VI — Considerações finais

I — INTRODUÇÃO

Em trabalhos que publicamos precedentemente sobre a questão das tinhas^{1 e 2}, tivemos ocasião de relatar nossas observações a respeito de alguns casos que se particularizavam pela etiologia devida a espécies micológicas raras ou pelas características invulgares de que se revestia o quadro clínico. Trabalhos análogos, tirados do acervo de observações que coligimos em numerosos anos de pesquisas, tencionamos redigir possivelmente mais tarde. Neste, vai um primeiro ensaio de estudo de conjunto, do qual excluimos unicamente as dermatomicoses por *Epidermofitons*. O problema das epidermofícias, por sua natureza, se coloca sobre outras bases, razão por que merecerá ulterior estudo à parte. Fica, por isso, desde já entendido que no decorrer deste trabalho, ao falar de tinhas, só nos referimos às dermatomicoses devidas aos *Microsporons*, aos *Tricofitons* e aos *Acorions*.

Tem sido sempre nosso grande desejo fazer um inquérito minucioso e completo — estatístico, clínico e micológico — sobre o problema das tinhas em S. Paulo para, só então, coroando esse estudo, traçar com precisão as conclusões de conjunto. Não poupamos esforços nesse sentido, conseguindo mesmo um encargo que nos permitiria verificar o grau de frequência das dermatomicoses entre a população escolar da nossa cidade. Contudo, devido ao fato de não ter o problema das tinhas alcançado, a-pesar-de sua incontestável importância e gravidade, fóros ao mesmo título dos outros problemas de que carinhosamente cuidam nossas autoridades sanitárias, tais e tantos têm sido os empecilhos e interrupções aos necessários estudos, que achamos oportuno não esperar pela terminação normal do inquérito, mas publicar, vez por vez, os resultados parciais. Cremos assim modestamente contribuir para o bem da coletividade, se conseguirmos despertar, com os elementos colhidos, maior interesse para o estudo e combate de uma endemia que em

(1) Rossetti, Nicolau — 1939 — Contribuição para o estudo do *Achorion gypseum* Bodin, 1907. *Arquivos de Derm. e Sif. de S. Paulo*, III, ns. 1 e 2, Março e Junho.

(2) Rossetti, Nicolau — 1940 — Tricofícia difusa da pele glabra com persistência de lesões do couro cabeludo em adulto, por *Trichophyton violaceum*. *Arquivos de Derm. e Sif. de S. Paulo*, IV, ns. 1, 2, 3 e 4.

certos dos nossos asilos infantís tem alcançado uma enorme percentagem de casos, como se verá mais adiante, e que já se infiltra traçoicamente em numerosas famílias e grupos escolares.

Já nos referimos a esse problema quando tivemos a oportunidade de apresentar, à Secção de Dermatologia da Associação Paulista de Medicina, um nosso trabalho sobre o "*Achorion gypseum* de Bodin". Idêntica tentativa repetimos escrevendo, ao finalizar o relatório anual do nosso serviço, em 1939, quando ainda não possuíamos os atuais meios de investigação sistemática, as seguintes palavras: "... Sem a menor dúvida, a situação real do alastramento das tinhas entre a população escolar desta capital, deve ser muito mais grave do que a representam as cifras acima, pois que estas foram obtidas com dificuldade, ao favor do acaso, não estando o investigador nas condições necessárias para penetrar o problema em sua profundidade. Elementos para se chegar a esta conclusão pessimista são fornecidos pelas seguintes ponderações:

1.º) as tinhas são de fato moléstias de contágio facil, especialmente entre as crianças, cujo modo de vida se caracteriza por uma grande promiscuidade e intimidade de relações (brinquedos, jogos em comum, etc.), o que multiplica as possibilidades de contágio;

2.º) são moléstias devidas a parasitos vegetais que, por isso, encontram nas condições de temperatura e umidade do nosso clima, o habitat ideal para sua germinação e alastramento;

3.º) são moléstias de difficil tratamento, pois que, para este, se requer determinada aparelhagem e organização especializada, ambas, no entanto, não muito dispendiosas, e conseguíveis desde que haja o consentimento das autoridades competentes;

4.º) são moléstias que só saram expontaneamente, por ocasião da puberdade, deixando, assim, a criança doente ser fóco de infecção para outras durante todo o período de sua vida escolar, sem considerar que uma das tinhas — o *favus* — foge a essa regra, durando, em geral, a vida toda;

5.º) até o presente momento (1939) foram diagnosticados, nesta capital, muitas centenas de casos de tinha, sendo a maioria deles em crianças de idade escolar.

Tendo em conta esses elementos, podemos deduzir qual será a situação epidemiológica das tinhas do couro cabeludo entre as nossas crianças, se medidas oportunas não forem tomadas a tempo".

E para não deixar deslembrado o aspecto propriamente científico do problema, a que emprestamos a alta importância que merece, terminávamos nosso relatório dizendo: "... A questão das tinhas, além do aspecto propriamente sanitário, possui outro de interesse mais geral e científico. O estudo epidemiológico, a determinação exata das espécies que constituem a flora dermatofítica local, os quadros clínicos que essas espécies determinam, as características botânicas desses cogumelos — são outros tantos problemas que o mesmo pesquisador pode e deve solucionar, trazendo, assim, uma contribuição para o conhecimento da micologia de nossa terra".

Até aí, nosso relatório de 1939.

Mais tarde conseguimos, afinal, o ambicionado encargo para um estudo sistemático das tinhas nos asilos e demais coletividades infantís desta capital. Os dados que vamos colhendo no decorrer de um inquérito, frequentemente interrompido por motivos alheios à nossa vontade, são de tal monta que podemos desde já afirmar que, infelizmente, se confirma a hipótese pessimista acima referida.

II — QUADRO ESTATÍSTICO ATUAL (PROVISÓRIO) DAS TINHAS NA CIDADE DE S. PAULO

Para melhor se avaliar a influência que a pesquisa metódica vem exercendo sobre o conhecimento estatístico dos casos de tinha aqui entre nós, torna-se necessário, antes de tudo, constatar que, em cerca de somente 4 meses de inquérito sistemático, elevamos ao dobro a cifra que representa o número de tinhas antes verificado por nós em mais de 6 anos. Devemos, por isso, interpretar os dados estatísticos que se seguirão, como simples dados provisórios, cuja finalidade não é outra senão traçar as linhas gerais do problema.

Antes do início deste inquérito havíamos verificado, em diversos serviços, 196 casos; depois, estendendo também a investigação a alguns asilos infantís, alcançamos a cifra de 437 casos humanos que, com os 5 casos descobertos em animais domésticos, responsáveis por algumas pequenas epidemias familiares, perfazem o total de 442 casos. Somando a estes os 417 casos observados pelo eminente dermatologista paulista Abílio Martins de Castro, deve-se calcular em mais de 850 o número de casos atualmente conhecidos.

Esse número, certo mas absolutamente provisório, não pode fornecer o índice real de infestação das coletividades infantís da capital. Este deve ser bem mais elevado. Basta lembrar que, dos

numerosos asilos, somente 5 foram por nós visitados, e nenhum dos inúmeros grupos escolares, não obstante termos de alguns deles catalogado casos confirmados de tinha.

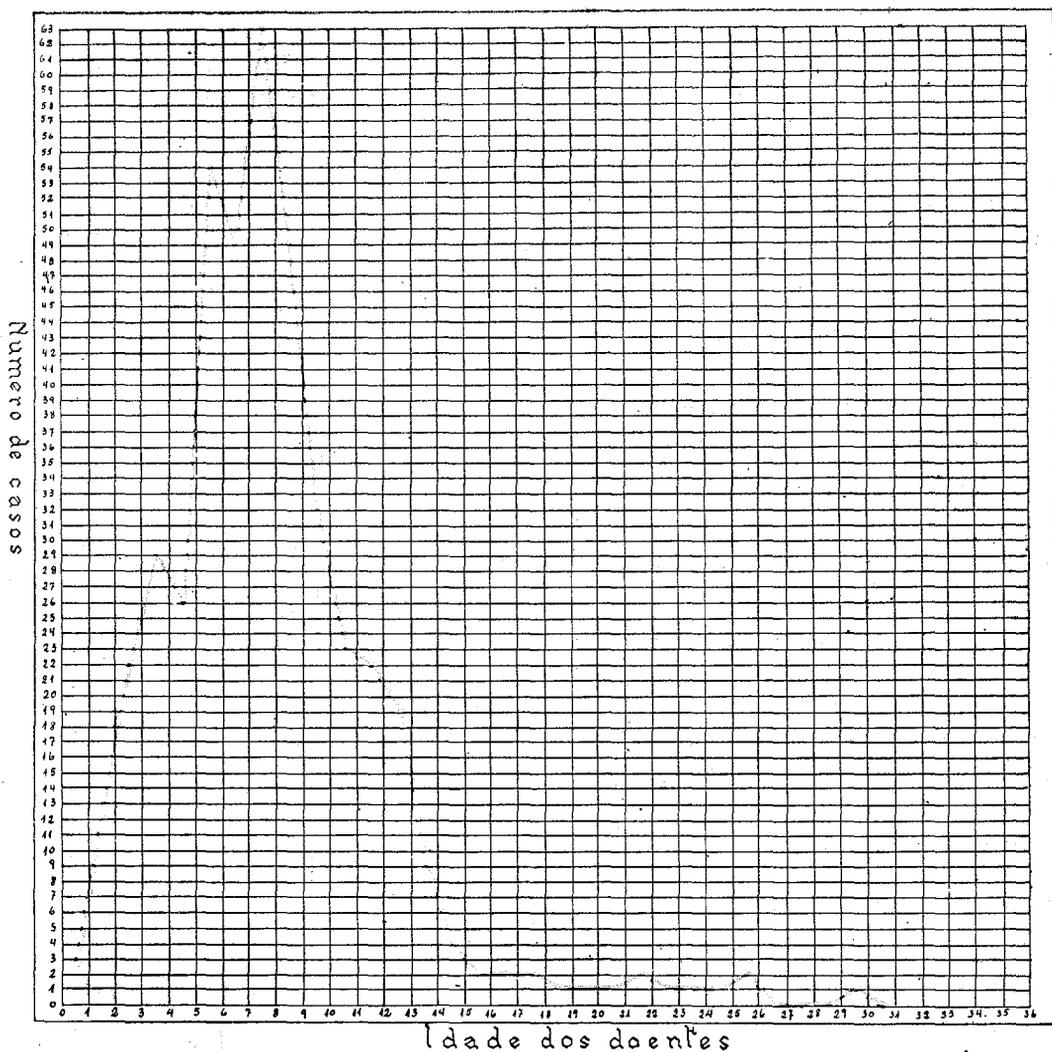
III — DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS DE TINHA SEGUNDO IDADE, CÔR E SEXO

a) *Frequência segundo a idade* — A tabela seguinte nos dá uma interessante idéia da distribuição das tinhas nas diversas idades, e da extraordinária incidência dos casos na idade pre-escolar e escolar até o momento da puberdade. De fato, observamos:

Idade dos pacientes	Tricofícias	Microsporias	Acorions	Total por idade
De 0 a 1 ano	1	2	0	3
" 1 " 2 anos	2	10	1	13
" 2 " 3 "	8	11	3	22
" 3 " 4 "	10	17	2	29
" 4 " 5 "	17	7	2	26
" 5 " 6 "	36	17	1	54
" 6 " 7 "	31	16	2	49
" 7 " 8 "	48	14	1	63
" 8 " 9 "	39	9	1	49
" 9 " 10 "	26	5	1	32
" 10 " 11 "	23	0	0	23
" 11 " 12 "	16	3	3	22
" 12 " 13 "	16	1	2	19
" 13 " 14 "	7	0	2	9
" 14 " 15 "	3	1	0	4
" 15 " 16 "	2	0	0	2
" 16 " 17 "	1	1	0	2
" 17 " 18 "	1	1	0	2
" 18 " 19 "	1	0	0	1
" 19 " 20 "	0	1	0	1
" 20 " 21 "	0	1	0	1
" 21 " 22 "	1	0	1	2
" 22 " 23 "	1	0	0	1
" 23 " 24 "	1	0	0	1
" 24 " 25 "	1	0	0	1
" 25 " 26 "	2	0	0	2
" 26 " 27 "	0	0	0	0
" 27 " 28 "	0	0	0	0
" 28 " 29 "	0	0	0	0
" 29 " 30 "	0	1	0	1
" 30 " 31 "	0	0	0	0
" 31 " 32 "	0	1	0	1
" 37 " 38 "	1	0	0	1
" 72 anos	0	1	0	1

Traduzimos, em sua parte de maior interesse, essa tabela para um gráfico, tendo assim mais perceptíveis a um rápido olhar as peculiaridades da frequência das tinas segundo a idade.

-Gráfico de frequência das tinas segundo a idade-



Vemos, por esse gráfico, a linha que assinala a frequência elevar-se, decidida porem não apressadamente, de 0 aos 5 anos, acen-
tuar em seguida notavelmente sua ascensão, marcando uma fre-
quência máxima no intervalo que vai dos 7 aos 8 anos, mas assina-

lando ainda nivel elevado até os 12-13 anos. Deste ponto ela começa a descer, cada vez mais rapidamente, até cerca dos 14 anos, vindo a marcar cifras insignificantes a partir dessa última idade.

As percentagens tiradas desses dados agrupados em períodos de 5 anos dariam, se necessário fosse, a contra-prova desse singular ritmo de frequência. Assim é que temos:

De 0 a 5 anos	92 casos	21,05%
" 6 " 10 "	249 "	56,97%
" 10 " 15 "	76 "	17,39%
" 15 " 20 "	8 "	1,83%
" 20 " 25 "	7 "	1,60%
" 25 " 30 "	2 "	0,45%
" 30 " 35 "	1 caso	0,22%
" 35 " 40 "	1 "	0,22%
" 72 anos	1 "	0,22%
Total		437 casos

Penetrando a significação do gráfico e das duas tabelas, podemos, sem dificuldade, retirar conclusões em nada diferentes das de valiosos estudos de numerosos autores. Ressalta dos dados acima, com clareza meridiana, a incidência preponderante e de certo modo quasi exclusiva, dos casos de tinha durante a vida infantil em suas diversas fases: primeira infância, idade pre-escolar e idade escolar. Já da primeira infância à idade pre-escolar, a frequência dos casos aumenta seguramente com o aumentar dos anos, mas é do fim da idade pre-escolar ao início da escolar que o ritmo de frequência se acelera. Há, evidentemente, uma mudança na vida da criança que facilita a exposição ao contágio e sua conseqüente multiplicação. É que a criança passa da vida em família à vida em sociedade. Alarga-se o panorama social em que ela vai vivendo com o iniciar de um convívio maior nos jardins de infância, "play-grounds", asilos infantís e escolas. Para o mundo da criança as tinhas merecem, sem dúvida, a classificação de moléstia social.

A verificação do ponto que demarca o início do aceleração do ritmo de frequência dos casos de tinha e o conhecimento exato dos fatores causais fornecem ao sanitarista indicações proveitosas para as necessárias medidas de profilaxia.

O ritmo de frequência da moléstia continua a elevar-se e se mantém bem alto durante boa parte da chamada idade escolar.

Para que nos convençamos disto, basta atentar à percentagem de 56,97%, que corresponde ao período de 6 a 10 anos. Desta idade em diante, há decréscimo de frequência, a princípio pouco acentuado, especialmente no que se refere ao período dos 10 aos 13-14 anos, e depois rápido, notavel e mesmo abrupto, demonstrando que o fator social, multiplicador do contágio, é paralisado e quasi que inteiramente anulado pela interferência da ação decididamente contrária de um novo fator.

Com efeito, a percentagem acima referida, de 56,97% cái, no período seguinte, dos 11 aos 15 anos, a 17,39% e, logo em seguida, para cada período ulterior, a 1,83% — 1,60% — 0,45% — 0,22% — 0,22% — 0,22%. E mesmo estas frações desaparecem se nos limitarmos a considerar unicamente os casos de tinha com localização sobre o couro cabeludo, que são as que mais importam sob o ponto de vista estritamente sanitário, e deixarmos de lado os de localização em pele glabra.

De fato, entre os 437 casos da nossa estatística, só observamos, em indivíduos com mais de 15 anos de idade, 3 casos: dois com 17 e um com 21 anos.³

Que novo fator é esse de influência tão radicalmente modificadora? Estudos já consagrados demonstraram que é à interferência de fenômenos ligados à puberdade que se deve essa enorme alteração. Nossa estatística traz para isso uma confirmação realmente desnecessária. Por ela, contudo, constatamos visivelmente o decréscimo do número de casos, a princípio leve e indeciso no limite também impreciso do início da puberdade, e depois o declínio espetacular na fase em que esta entra em seu pleno vigor. Ao que se supõe, mudanças nas secreções do couro cabeludo, dependentes das novas atividades endócrinas, sobretudo o aparecimento da seborréia, provocam tal alteração nas reações do terreno que a flora epidérmica existente não mais encontra condições favoráveis de vida, e se extingue.

(3) A resultados análogos chegaram, nestes últimos anos, autores franceses que se ocuparam em Paris dessa questão (Maurice Pignot, Robert Rabut et Emile Rivalier — *La teigne à l'École Lailler de 1930 à 1937* — *Presse Médicale* — n.º 19 — 1938). Dizem esses AA., a respeito de crianças que observaram nesse período de tempo: "Ces enfants, qui sont dans la proportion approximative de deux tiers de garçons pour un tiers de filles, ont un âge qui s'échelonne de 1 à 15 ans. ...Le maximum des hospitalisés de l'École Lailler est fourni par les enfants de 5 à 8 ans, qui à eux seuls, représentent plus de la moitié du contingent".

Estes conhecimentos, como se vê, podem orientar o sanitarista na pesquisa e no combate às tinhas, com o focalizar sua ação a um período restrito da vida dos indivíduos, precisando, ao mesmo tempo, em qual terreno, isto é, em que ambiente ou espécies de coletividade a luta deve ser travada. É o que veremos mais particularmente no fim deste trabalho, na parte destinada à profilaxia.

b) *Distribuição dos casos segundo a côr e o sexo* — Nas tabelas abaixo, apresentamos os dados a respeito da frequência das tinhas conforme a côr e o sexo dos indivíduos atacados.

QUADRO GERAL DOS CASOS, SEGUNDO A CÔR

Côr	Tricofícia	Microsporia	Acorions	Total
Branços	227	104	18	349
Pardos	39	9	4	52
Pretos	27	8	0	35
Amarelos	0	1	0	1

QUADRO GERAL DOS CASOS, SEGUNDO O SEXO

Sexo	Tricofícia	Microsporia	Acorions	Total
Masculino	203	73	17	293
Feminino	92	47	5	144

As percentagens assinaladas em ambos os quadros são evidentemente provisórias, por se referirem, é bom que se lembre, a dados parciais de um inquérito em andamento. Contudo, considerando ser já bastante relevante o número de doentes a que essas percentagens dizem respeito, cremos poder adiantar à vista delas, que, quanto às raças, nenhuma delas, aqui entre nós, é naturalmente imune às tinhas, tendo percentagem maior de casos a raça branca, por ser ela, em S. Paulo, de muito a predominante.

Rietmann, escrevendo sobre as tinhas na capital da Baía (4) diz textualmente: "Chamamos a atenção para o fato de não encontrarmos um só caso de *Trichophycia* na raça negra, embora a procurássemos nesta raça particularmente. A *Microsporia*, ao revés, mostrou-se nesta raça em maior cópia que na branca. Regis-

(4) Rietmann, Dr. Bruno — 1927 — Sobre as Tinhas na Cidade do Salvador — Baía, Imprensa Oficial do Estado.

tamos simplesmente o fato sem pretendermos deduzir conclusão. Parece-nos que a raça negra, pelo menos na Baía, se mostra mais refratária aos *Trichophytos*".

Nossos estudos não confirmam aqui em S. Paulo essa presumida refratariedade da raça negra aos *Trichophytos*. Com efeito, vemos figurar em nosso quadro, como atacados de *Trichophycia*, 27 pretos e 39 pardos, ao todo 66 indivíduos, ou seja 22,52% de todos os casos devidos às espécies tricofíticas. As *Microsporias*, ao contrário, acham-se representadas em número relativamente menor.

Quanto ao sexo, parece-nos não ser devida ao acaso a percentagem maior que se assinala para o sexo masculino. (5) Não podemos nos furtar, pelo menos agora, à impressão geral de que nos asilos as tinhas do couro cabeludo atingem maior número de meninos do que de meninas. Em asilos de condições sanitárias idênticas, é nos de meninos que constatamos percentagem mais alta de casos. E o resultado é o mesmo se compararmos asilos de meninos, mantidos em boas condições de higiene geral, com asilos de meninas em que os cuidados de limpeza são muito pouco observados. Dir-se-ia que entre crianças de sexo masculino as condições favorecedoras do contágio são maiores do que entre as de sexo feminino. Realmente, se considerarmos que para o contágio é necessário o transporte, do couro cabeludo doente para o couro cabeludo sã, de uma partícula de cabelo ou escama parasitados, figura-nos francamente mais fácil esse contágio entre os meninos que são obrigados a ter o cabelo curto e mesmo rapado do que entre as meninas. Nestas, a cabeleira longa forma um espécie de verdadeiro capacete protetor que dificulta, nas crianças doentes, a disseminação de fragmentos de cabelo ou de escamas, e nas crianças sãs protege de um certo modo o superfície do couro cabeludo. Esse fato merece, contudo, ser verificado em maior número de casos.

IV — ESTUDO CLÍNICO E PARASITOLÓGICO

a) *Facies da flora dermatofítica em S. Paulo* — Se refletirmos sobre o modo de formação da população da nossa cidade, tomando especialmente em exame a farta contribuição a ela dada pelas correntes migratórias européias e asiáticas e as múltiplas nacionalidades de que estas são formadas; se considerarmos, outrossim, que as condições de umidade e calor do nosso clima subtropical resul-

(5) Vide nota da pg. 224 — Verifica-se por ela que, também no que diz respeito ao sexo das crianças doentes, nossos resultados correspondem aos de Pignot, Rabut e Rivalier.

tam favoráveis à flora em geral, e particularmente aos cogumelos, podemos prever, no estudo das dermatomicoses, o encontro de uma flora dermatofítica muito rica e sobretudo variada.

A distribuição geográfica dos dermatofitos e a composição étnica das migrações humanas que aqui aportam, explicam bem a multiplicidade de espécies que encontramos. Basta atentar para a frequência entre nós do *Trichophyton violaceum* e o enorme vulto que tem sua disseminação na Polónia, na Rumânia, no sul da Rússia até o mar Negro, na Ásia Menor, na Itália e, de um modo geral, na bacia do Mediterrâneo, como já referimos em trabalho anterior (6). O *Achorion Schoenleinii* espalha-se praticamente por todo o mundo e de muitas partes ele a nós tem vindo, como constatamos surpreendendo casos não autóctones, em estrangeiros que aqui desembarcaram já parasitados.

Abílio Martins de Castro refere, em excelente estudo (7), o caso de um japonês com epidermomicose por *Epidermophyton rubrum* datando de 4 anos e contraída no Japão. O paciente já residia entre nós havia 2 anos quando foi observado.

É de se imaginar que disso resulte um enriquecimento do número de espécies micológicas que em nosso meio são responsáveis pelas dermatomicoses.

Realmente a observação dos fatos confirma essa hipótese, como vemos dando a seguir a distribuição por espécies dos nossos casos que, incluídos os 5 em animais domésticos, perfazem um total de 442.

ESPÉCIES PARASITÁRIAS

TRICOFÍCIAS — 295 casos	}	<i>Trichophyton violaceum</i>	214 casos
		<i>Trichophyton acuminatum</i>	62 "
		<i>Trichophyton glabrum</i>	5 "
		<i>Trichophyton endothrix</i> sem cult. . .	1 caso
		<i>Trichophyton cerebriforme</i>	7 casos
		<i>Trich. gypseum asteróides</i>	2 "
		<i>Trich. gypseum granuloso</i>	3 "
		<i>Trich. faviforme album</i>	1 caso
MICROSPORIAS — 125 casos	}	<i>Microsporon felineum</i>	123 casos
		<i>Microsporon lanosum</i>	2 "
FAVUS — 22 casos	}	<i>Achorion Schoenleinii</i>	17 casos
		<i>Achorion gypseum</i>	4 "
		<i>Achorion gallinae</i>	1 caso

(6) Rossetti, Nicolau — Op. cit.

(7) Martins de Castro, Abílio — 1927 — *Epidermophyton rubrum*, Cast. — *Anais da Fac. de Medicina de S. Paulo*, 2.º vol.

Essa é a distribuição por espécies que resulta da nossa estatística pessoal. Seria errado, contudo, querer, somente dela, concluir a frequência que cada espécie tem no quadro geral das dermatomycoses em S. Paulo. Não se evitariam, assim, as variações de erro que os chamados casos em série trazem para o cômputo geral. À vista disso, pedimos vênha para referir os dados igualmente seguros de Abílio Martins de Castro, confrontando-os com os nossos e tirando da média de ambas as estatísticas as percentagens que nos darão uma imagem, ainda que relativa contudo menos infiel, da realidade atual.

Espécies parasitárias	Estatística de Nicolau Rossetti N.º de casos	Estatística de Abílio M. Castro N.º de casos	Total das duas estatísticas
TRICHOCHYTONS: 433 casos.			
<i>Trichophyton violaceum</i>	214	57	271
<i>Trichophyton acuminatum</i>	62	18	80
<i>Trichophyton glabrum</i>	5	20	25
<i>Trichophyton endothrix</i> s/cultura ..	1	—	1
<i>Trichophyton cerebriforme</i>	7	1	8
<i>Trichophyton asteróides</i>	2	19	21
<i>Trichophyton granulorum</i>	3	21	24
<i>Trichophyton lacticolor</i>	—	1	1
<i>Trichophyton rosaceum</i>	—	1	1
<i>Trichophyton album</i>	1	—	1
MICROSPORONS: 322 casos.			
<i>Microsporon felineum</i>	123	190	313
<i>Microsporon lanosum</i>	2	3	5
<i>Microsporon Audouini</i>	—	4	4
ACHORIONS: 104 casos.			
<i>Achorion Schoenleinii</i>	17	81	98
<i>Achorion gypseum</i> Bodin	4	1	5
<i>Achorion gallinae</i>	1	—	1

Em resumo, conclue-se da média de ambas as estatísticas que, pelo menos no estado atual das pesquisas micológicas aqui entre nós, dentre os 3 gêneros, *Trichophyton*, *Microsporon* e *Achorion*, é ao primeiro que se deve atribuir o maior número de casos, cerca de 50,40%, vindo logo em seguida as Microsporias com 37,48% e por último os *Achorions* com 12,10%.

Confirma-se à evidência a notável pluralidade de espécies, sendo estas representadas em maior número também entre os *Trichophyton*s. Há, porem, uma grande diferença na frequência de encontro dessas espécies em relação umas às outras. Assim é que para as Tricoficias são muito mais frequentes, como achados culturais, o *Trichophyton violaceum* e o *Trichophyton acuminatum*; para as Microsporias, é o *Microsporon felineum* que se vê responsável pela quasi totalidade dos casos de tinha de pequenos esporos; e para o Favus é, como acontece no mundo inteiro, o *Achorion Schoenleinii*, de muito, o mais encontrado.

b) *Localização das lesões das diferentes espécies* — Voltamos a considerar agora somente os casos da nossa estatística pessoal, e desta mesmo excluimos, por enquanto, os 5 casos observados em animais, dos quais falaremos em capítulo à parte.

Nos 437 casos humanos que observámos, as lesões se localizavam da seguinte maneira:

QUADRO GERAL DOS CASOS, SEGUNDO A SEDE DAS LESÕES

	Couro cabeludo	Pele glabra	Unhas	Couro cabeludo Pele glabra	Pele glabra Unhas	Couro cabeludo P. glabra Unhas
<i>Trich. violaceum</i> .	204	5	—	4	—	1
<i>Trich. glabrum</i> ..	5	—	—	—	—	—
<i>Trich. acuminatum</i>	52	4	1	4	1	—
<i>Trich. cerebriforme</i>	5	1	—	1	—	—
<i>Trich. gyps. asteróides</i>	1	1	—	—	—	—
<i>Trich. gyps. granuloso</i>	1	2	—	—	—	—
<i>Trich. endothrix</i> sem cultura ...	1	—	—	—	—	—
<i>Trich. (faviforme)</i> <i>album</i>	—	—	—	1	—	—
<i>Micr. felineum</i> ...	74	36	—	8	—	—
<i>Micr. lanosum</i> ...	1	1	—	—	—	—
<i>Ach. Schoenleinii</i> .	14	—	—	2	—	1
<i>Ach. gypseum</i> Bodin	1	3	—	—	—	—
<i>Ach. gallinae</i>	—	1	—	—	—	—
Total para todas as espécies	359	54	1	20	1	2

Deduz-se do quadro acima que, em S. Paulo, segundo o estado atual das nossas investigações, os *Trichophyton*s e o *Achorion Schoenleinii* têm especial predileção, sem a menor dúvida, pela localização no couro cabeludo; os *Microsporons* também aparecem com grande frequência nessa sede, todavia, à diferença dos outros, são encontrados, em número notável de casos, como causadores de lesões de pele glabra.

Verifica-se aqui justamente o contrário do que observou Sabouraud na região de Paris. Lá (8), sobre 161 casos de *Microsporia*, são assinalados somente 2 casos de localização na pele glabra, enquanto que entre 287 casos de *Trichophycia* há 44 com lesões da pele glabra. A diferença na distribuição por sede deve ser atribuída ao fato de serem diferentes as espécies que causam as tinhas nessa região da Europa e aqui.

O comportamento desigual das espécies determina uma diversidade de localização. Para as *Microsporias*, em Paris e seus subúrbios, o cogumelo responsável é o *Microsporon Audouini*, espécie de tipo humano muito encontrada no noroeste da Europa, enquanto que entre nós, esse dermatofito é raríssimo, sendo nossos casos de *Microsporia* em sua quasi totalidade devidos a um cogumelo de cultura vivaz, de origem animal, o *Microsporon felineum*, ali muitíssimo raro.

Aroeira Neves (9), estudando o comportamento deste cogumelo em Belo Horizonte, verificou a localização do parasito nas partes glabras em 72% dos casos, concluindo pela sua acentuada predileção para essas regiões do tegumento cutâneo. Nossos dados confirmam, na verdade não exatamente até essa percentagem, a grande frequência de lesões da pele glabra causadas pelo *M. felineum*.

Os *Trichophyton*s, nas nossas observações, figuram atacando a pele glabra em proporção relativamente pequena, se compararmos com o que acontece com os *Microsporons*. Como já fizemos para estes, lembramos que também as nossas espécies tricofticas mais frequentes não são de todo as mesmas relatadas na estatística de Sabouraud. Nesta, como causador máximo das tonsurantes tricofticas da região parisiense, destaca-se o *Trichophyton crateriforme*, cogumelo ainda não encontrado aqui em S. Paulo, enquanto que

(8) Sabouraud, R. — 1910 — Les teignes, pg. 138, Masson et Cie. Paris.

(9) Aroeira Neves — 1923 — Contribuição ao estudo das dermatomicoses em Belo Horizonte — Observações sobre casos provocados pelo *Microsporum felineum* — *Brasil Médico*.

a maioria das nossas tricofícias são devidas, pelo menos até este momento, ao *Trichophyton violaceum*, pouco frequente em Paris e seus subúrbios. Lá e aqui segue na ordem de frequência o mesmo cogumelo — o *Trichophyton acuminatum* —. Esta coincidência, porém, não anula as consequências produzidas pela diferença existente nas espécies determinantes do maior número de casos.

c) *Considerações sobre o aspecto clínico, cultural e botânico das tinhas em São Paulo:*

MICROSPORIAS

Começamos por estas, não obstante ocuparem não o 1.º mas o 2.º lugar em frequência, movidos por um natural desejo de procedermos, na exposição do assunto, do simples para o complexo.

Com efeito, as *Microsporias* apresentam aspectos clínicos menos vários e, mesmo, nas diversas sedes, algum tanto monomorfos, enquanto que justamente o contrário se dá com as *Trichophycias*, em que as manifestações são bem mais polimorfias. Isso encontra em grande parte explicação na pobreza de espécies microspóricas em nosso meio, contrastando com a grande variedade de espécies tricofíticas. Temos que convir que, pelo menos nesse fato mais geral — quasi monomorfismo das lesões microspóricas e polimorfismo das tricofíticas — encontra algum apóio a chamada *lei geral de especificidade dos Dermatofitos*, segundo a qual, para cada um dos diversos gêneros dermatofíticos corresponderiam quadros clínicos diferentes e mesmo até certo ponto específicos.

As *Microsporias* que observamos são em sua quasi totalidade devidas ao *M. felineum*; não nos deteremos particularmente sobre os poucos casos de *M. lanosum*, que também vimos, por considerar este último uma variedade do primeiro, como já fazem certos autores que denominam a ambos com o nome único de *felineum* — *lanosum*.

Como vimos precedentemente, as lesões deste cogumelo assentam-se com prevalência no couro cabeludo das crianças, mas grande é também o número de casos com lesões unicamente da pele glabra. Onicomicoses por *Microsporon*s não nos foi dado encontrar não obstante o grande número de *Microsporias* que passou sob nossos olhos.

No couro cabeludo a lesão tonsurada corresponde em geral ao quadro clássico e conhecido de placa grande, quasi sempre única, redonda ou oval, em cuja superfície não há cabelos de comprimento normal, mas sim quebrados a 1-2 m/m. acima do óstio folicular.

A presença desses fragmentos de cabelos, que são envolvidos por uma bainha esbranquiçada e que emergem de uma área finamente descamante e acinzentada, (figs. n.º 1 e n.º 2) emprestam à lesão um aspecto tão especial que permite, ao exame clínico, o diagnóstico de *Microsporia* antes do exame microscópico do cabelo

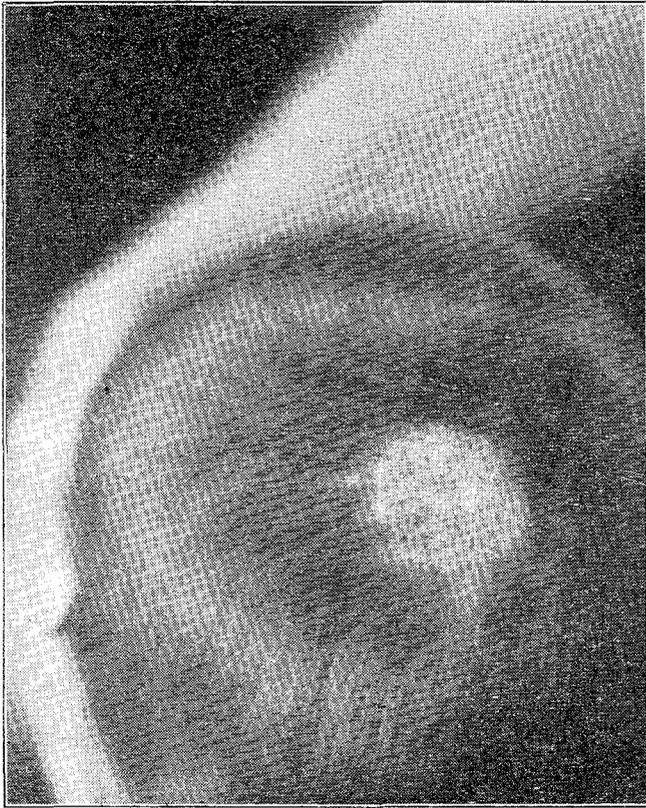


FIG. N.º 1

Microsporia do couro cabeludo, determinada pelo *M. feineum*

e da prova cultural. Nesses casos, que são a grande maioria, não há indício clínico de processo inflamatório agudo ou sub-agudo. Falta à lesão, ou acha-se presente em grau mínimo, o componente eritematoso, de maneira que o aspecto dela é acentuadamente aflegmático.

Outros casos há (Figura n.º 3) em menor número, em que a reação local do tecido do couro cabeludo não é tão tórpida. Na área tonsurada destes há também cabelos quebrados acima do nível do óstio e revestidos de bainha esbranquiçada, o que dá ao conjunto da lesão um aspecto semelhante ao dos casos comuns acima descritos, mas não idêntico; pois que, a mais, verifica-se a presença de um número maior ou menor de pequeníssimas pústulas isoladas ou confluen-

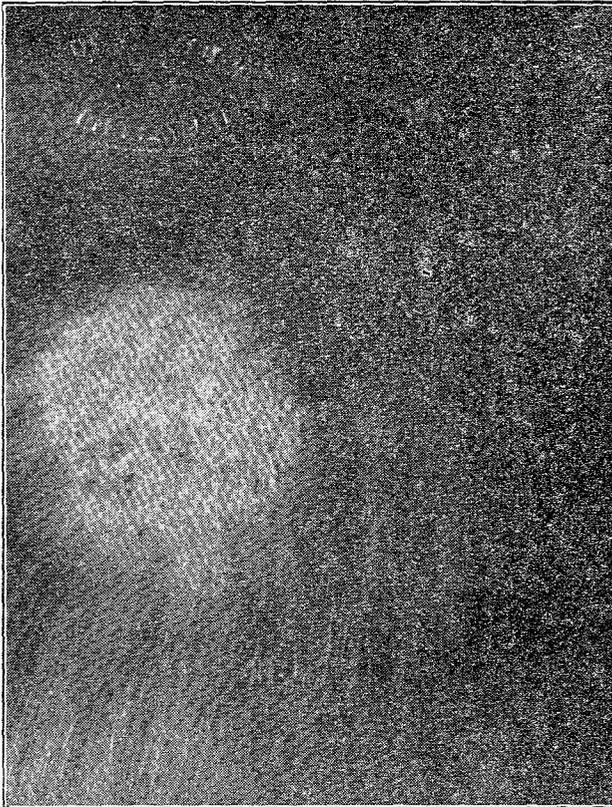


FIG. N.º 2

Mesmo caso da figura precedente em aumento maior, deixando perceber os cabelos rompidos.

tes e de crostinhas amareladas, e, entre estas e aquelas, destaca-se a superfície do couro cabeludo levemente eritematosa, róseo-clara, isto é, com um grau apreciável de inflamação.

Excepcionalmente, porém, a reação local pode ser ainda mais intensa. A área arredondada se sobleva em planalto, mostra-se vermelha, succulenta, inflamada, os folículos se pustulisam e se

agminam, expulsando por fim os fragmentos de cabelos neles contidos. Tem-se assim o quadro completo de um *kerion*. Esta lesão que em geral é atributo dos *Micrórios*, foi por nós seguramente encontrada em 3 casos sobre 83 de tonsurantes devidas ao *M. felineum*.



FIG. n.º 3

Microsporia do couro cabeludo, por *M. felineum*, com reação um pouco mais inflamatória do que a das figs. n.º 1 e n.º 2.

Em todos eles a sede era o couro cabeludo. Uma dessas crianças, mestiça, de cerca de 6 anos de idade, apresentava mesmo dois *kerions*: um localizado ao nível da parte média de sutura interparietal e outro na região temporal esquerda.

Pele glabra — Vimos já, no capítulo dedicado à localização das lesões, que o *M. felineum* tem como sede muito frequente a pele glabra, havendo, segundo os casos, ou lesões exclusivas dessa localização ou então lesões contemporâneas na pele glabra e no couro cabeludo. Dos nossos 120 casos humanos, 62,5% localizavam-se só no couro cabeludo, 6,66% no couro cabeludo e pele glabra, e 30,83% só na pele glabra. Surpreendem até certo ponto estas percentagens, pois, à primeira vista, parece ser mais lógico que a pre-

sença do cogumelo no couro cabeludo acarretasse, como consequência frequente, sua instalação na pele glabra do mesmo indivíduo, o que não se dá, conforme demonstram as percentagens citadas. As localizações *exclusivas* no couro cabeludo e *exclusivas* na pele glabra são realmente predominantes. E nem se diga que este fato encontra



FIG. n.º 4

Placa de *Microsporia* do couro cabeludo pelo *M. felineum* e disseminação na pele glabra ao nível do limite de implantação dos cabelos.

sua explicação porque se trata de pacientes de diferentes idades, possivelmente muitos deles acima da puberdade, tendo assim alcançado um período de vida naturalmente refratário às *Microsporias* do couro cabeludo. O exame da distribuição, por idade, desses doentes de lesões exclusivas da pele glabra contraria essa suposição, mostrando que a grande maioria deles se distribuem entre 40 dias e 9 anos de idade.

Quando se trata de indivíduos com lesões de dupla localização — couro cabeludo e pele glabra — as lesões desta última sede parecem ser quasi sempre secundárias às da primeira. São lesões eritêmato-escamosas, mais ou menos arredondadas, ou policíclicas,

representando formas frustras de herpes circinado. Sua localização preponderante na zona fronteiriça à implantação dos cabelos testemunha serem elas a consequência de uma disseminação por proximidade da placa primitiva do couro cabeludo. A *figura n.º 4* nos dá uma nítida representação desse fato, mostrando uma placa ini-



FIG. N.º 5

Lesões da pele glabra, duas das quais em forma de cocarda, determinadas pelo *M. felineum*.

cial na região occipital e pequenos focos satélites de disseminação na nuca e lado direito do pescoço, alguns deles na região penugenta, outros em plena pele glabra.

Nos pacientes com lesões unicamente da pele glabra, estas revestem o tipo clássico do herpes circinado. Vemos então placas arredondadas ou ovalares, nitidamente delimitadas por uma moldura em fita estreita, avermelhada ou rósea, crivada de pequenas vesículas ou de crostinhas amarelo-pardacentas. A área incluída nessa moldura é róseo pálida ou róseo bistré e levemente descamante. Não é raro, em se tratando do *M. felineum*, haver dentro da área um segundo círculo, incluído no primeiro, o que dá à lesão o aspecto de cocarda (*figura n.º 5*), fato este observado, também para

o mesmo cogumelo, por T. Colcott Fox e Frank Blaxall, na Inglaterra.

EXAME MICROSCÓPICO DAS ESCAMAS E DOS CABELOS PARASITADOS

Diremos muito brevemente do exame microscópico, por nos ter dado ele sempre o mesmo aspécto constatado por todos e descrito como clássico das *Microsporias*. Cabelos e escamas foram examinados ou em preparações extemporâneas, isto é, após aquecimento em solução de potassa a 30%, ou em preparações permanentes mergulhadas em lactofenol, cloral-lactofenol simples ou cloral-lactofenol salicilado.

Nas *escamas*, o *M. felineum* apresenta-se sob a forma de filamentos longos, de espessura não uniforme, variavel do simples ao dobro. Esses filamentos micelianos são divididos por septos em

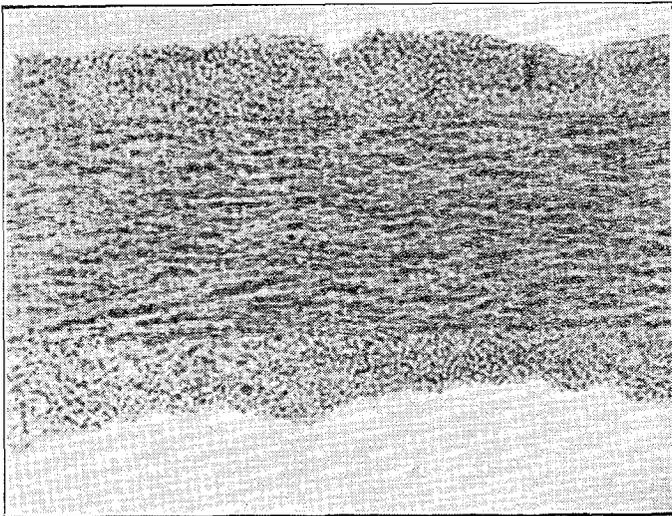


FIG. N.º 6

Pelo de gato, parasitado pelo *M. felineum*. Vê-se, envolvendo o pelo, uma espessa bainha de pequenos esporos.

artículos desiguais: alguns cúbicos muito pequenos, outros retangulares, com tendência, alguns, a desenhar ovóides. De permêio a esses, vêm-se também outros filamentos bem delgados, de espessura uniforme, pouco septados, ou melhor, com septação pouco visível.

Os *fragmentos de cabelo parasitado* são envolvidos por uma bainha de esporos muito pequenos, comprimidos uns contra os outros, dando no microscópio uma figura de mosaíco (figura n.º 6).

Essa bainha é, em geral, mais uniformemente organizada e completa na parte radicular do cabelo, quasi até o colo do bulbo. Na parte aérea do fragmento de cabelo a bainha de esporos fragmenta-se, torna-se descontínua, reduz-se a ilhotas de esporos agrupados em mosaico. Quando a invasão do cogumelo é de data recente, podem ser percebidos no interior do cabelo, com direção paralela ao eixo longitudinal deste, filamentos micelianos intrapilares, longos, munidos de septos visíveis; os filamentos apresentam-se, por isso, feitos de células retangulares bastante uniformes.

A cultura do *M. felineum* é fácil de se obter pela sementeira de partículas dos fragmentos de cabelos parasitados, em meio de Sabouraud, glicosado, maltosado ou com mel.

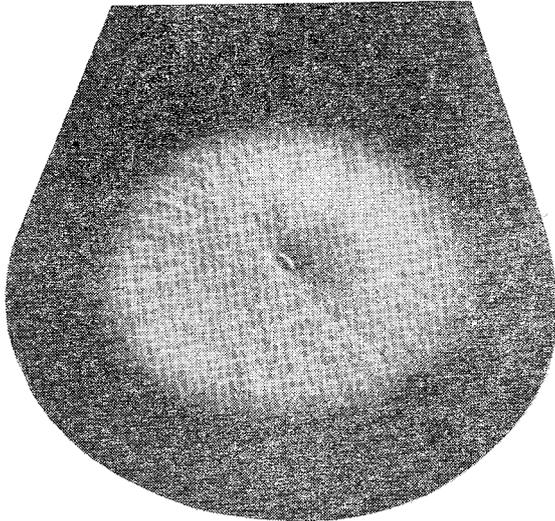


FIG. N.º 7

Primo-cultura de *M. felineum* em meio de Sabouraud com mel. — 12.º dia de idade. — O ponto central sobrelevado corresponde ao fragmento de cabelo semeado.

Desenvolve-se com rapidez, especialmente durante o verão, mostrando já no 3.º dia uma elevação penugenta, alva, de tamanho e forma de cabeça de alfinete. Em balão de Erlenmeyer apresenta, já no fim de 10-12 dias, o aspecto de disco plano, de 2-3 cms. de diâmetro, com a periferia franjada de hifas aéreas brancas envolvendo a parte central, que é nítida e finamente pulverulenta e de cor amarelo camurça (figura n.º 7). O dorso da cultura pigmenta-se, desde o 4.º-5.º dia, de uma cor a princípio amarelo clara, mais

intensa no centro e mais pálida na periferia. Com o passar dos dias essa côr torna-se uniforme em todo o dorso da cultura e ganha uma tonalidade amarela gema de ovo.

Após cerca de 6 semanas, vão aparecer sobre essa cultura, aquí e acolá, pequenos flocos de penugem branca, início da degeneração pleomórfica que mais ou menos rapidamente se alastrará, tomando conta da área toda da cultura; que será assim transformada em um disco de penugem alta, fina, algodoada, de alvura de neve.

As culturas em gota pendente ou, ainda melhor, sobre lâminas, segundo o método de Rivalier e Seydel, mostram facilmente ao microscópio as características botânicas desse cogumelo, a saber: muitos dos filamentos micelianos feitos de artículos em forma de raqueta, algumas hifas esporíferas simples e, sobretudo, grande número de fusos bi-acuminados, septados em lojas de número variavel.

Para as inoculações experimentais a cobáia presta-se otimamente como animal de laboratório. A inoculação feita sobre a nuca rapada, por meio de enxerto epidérmico de cultura em 3 pontos ou mediante fricção, resulta sempre positiva. Já no fim da 1.^a semana, os pontos inoculados assinalam-se pela presença de pequena elevação rósea escamo-crostosa e, mais tarde, no fim da 2.^a semana, uma larga crosta, formada pela confluência das lesões em evolução, ocupa a zona inoculada. Essa crosta espessa, bosselada, quebradiça, branca cinzenta ou cinzenta parda, engloba pelos cujo exame revela o mesmo tipo de parasitismo conhecido como sendo o dos cabelos das tonsurantes microspóricas, a que atrás já nos referimos.

TRICOFÍCIAS

Devemos dizer de antemão, como já o fizemos em outro trabalho, que são de um modo geral indiferençáveis as lesões do couro cabeludo causadas pelas duas espécies tricofíticas mais frequentes entre nós, — o *T. violaceum* e o *T. acuminatum*.

Os diversos quadros clínicos por eles criados são muito semelhantes uns aos outros e se damos mais abaixo descrições de aspéctos que atribuímos em separado a cada um deles, não queremos com isso afirmar que esses aspéctos são exclusivos, ou melhor, específi-

cos de um só deles. Devemos, pelo contrário, entender que certos quadros clínicos são mais frequentemente determinados por uma das espécies, podendo, contudo, às vezes, ser causados pela outra.

TRICHOPHYTON ACUMINATUM

A tonsurante devida a este cogumelo mostrou-se-nos bastante frequentemente sob o aspecto representado pelas *figuras n.º 8 e n.º 9*, que se referem a duas irmãs, de 8 e de 9 anos de idade. Vemos aí boa parte do couro cabeludo crivado de pequenos placas lenticulares, próximas umas das outras, chegando mesmo a se agminarem e formar lesões grandes, irregularmente delimitadas, de contorno geográfico, circundadas de outras menores que se espalham

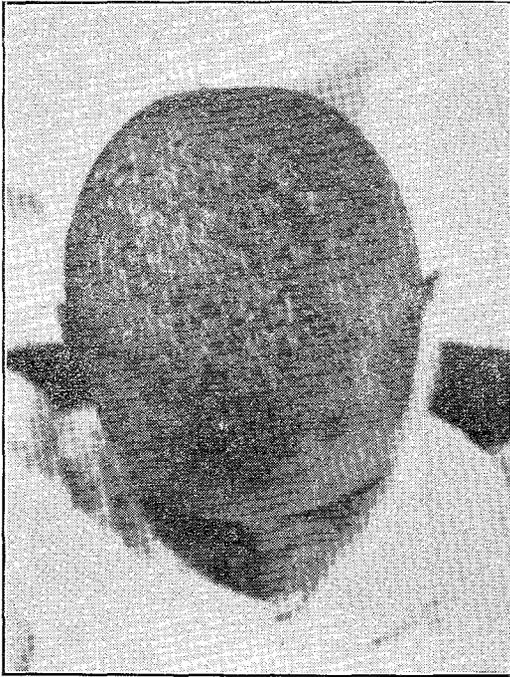


FIG. N.º 8

Tinha do couro cabeludo determinada pelo *T. acuminatum*.

pelas regiões vizinhas. Em seu conjunto, a parte atacada do couro cabeludo não se acha completamente tonsurada, notando-se tão somente uma diminuição do número dos cabelos de comprimento normal, dentro da área das lesões. Estas apresentam-se recobertas de

pequenas crostas mais ou menos planas, de consistência gordurosa, côr amarela acinzentada, pouco aderentes; afastadas as crostas põe-se a descoberto uma superfície rósea, limpa. Na espessura das crostas há cabelos quebrados, de cerca de 2 mms. de comprimento, alguns retos, outros dobrados em ângulo, alguns retorcidos.

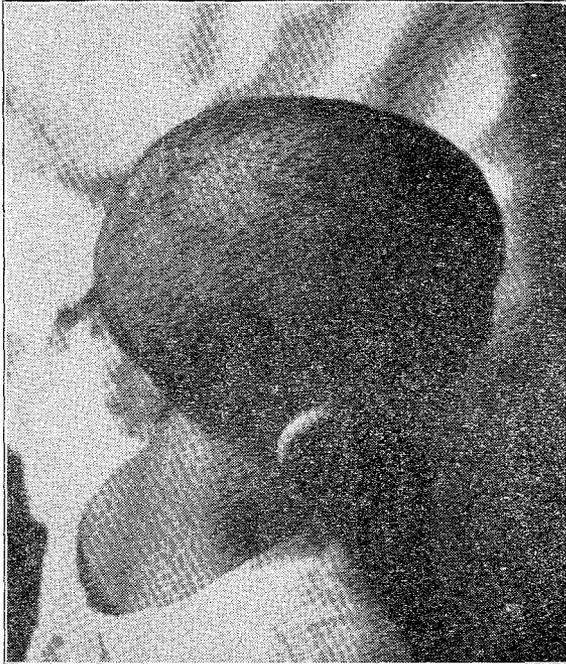


FIG. N.º 9

Tinha do couro cabeludo determinada pelo *T. acuminatum*.

Outras vezes faltam, nas lesões do *T. acuminatum*, as crostas gordurosas acima referidas. Vemos, em certos casos, lesões lenticulares, também não completamente tonsuradas, mas recobertas de escamas acinzentadas, e presença de cabelos rompidos, não escondidos dentro das escamas, mas livres entre elas, medindo poucos milímetros de altura e com aspécto esbranquiçado, como se tivessem sido empoados.

O *T. acuminatum* determina muito raramente entre nós, ao contrário do que se dá em outros países (10), as placas crivadas de

(10) Sabouraud, R. — 1910 — Les teignes — pag. 281 a 284.

pontos pretos que representam cabelos parasitados quebrados ao nível dos óstios foliculares. Essas placas, que parecem “a pele de um acnéico, coberta de comedones” (10), vemo-las aqui em nosso ambiente quasi sempre determinadas pelo *T. violaceum*, como diremos mais adiante. Só uma vez nos foi dado observar um caso semelhante, e mesmo assim não muito típico, cuja cultura resultou ser a do *T. acuminatum*.

Tambem como fato excepcional, em 2 casos sobre 62, vimos formas intensamente inflamatórias do couro cabeludo, devidas a esse cogumelo. A *figura n.º 10* representa justamente um *kerion*



FIG. N.º 10

Kerion do couro cabeludo determinado pelo *T. acuminatum*.

do couro cabeludo, causado pelo *T. acuminatum* em uma menina de 8 anos de idade, internada em asilo em que havia mais nove casos de tinha do couro cabeludo, sete dos quais determinados por esse mesmo fungo, revestindo contudo estes outros as formas clínicas mais banais. O *kerion*, que era bastante grande, media não menos de $5\frac{1}{2}$ cms. de diâmetro.

Pele glabra — As lesões da pele glabra provocadas pelo trico-fiton de cultura acuminada, tanto as exclusivas quanto as que acompanham lesões do couro cabeludo, não são muito frequentes entre nossos casos, se bem que nem por isso tenhamos que considerá-las como excepcionais.

A *figura n.º 11* dá-nos a fotografia de um rapaz de 16 anos de idade com lesões da pele glabra datando de um mês e meio. Notam-se no rosto quatro lesões constituídas por área róseo-clara, levemente descamante, pitiriásica, e borda policíclica, em grinalda. As bordas são como que estreita fitinha vermelha que se eleva um pouco acima do nível da pele normal e apresentam, enfileiradas lado a lado, numerosas pequenas crostas pardacentas.

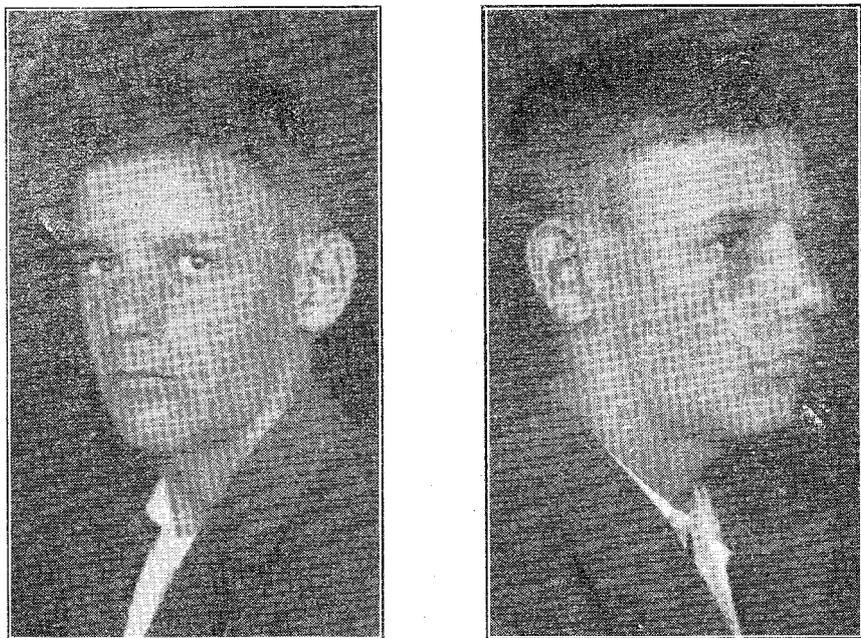


FIG. N.º 11

Lesões da pele glabra em rapaz de 16 anos de idade, determinadas pelo *T. acuminatum*.

O centro da fronte, a partir do limite de implantação dos cabelos, é ocupado por uma grande lesão polilobada; uma segunda acavala o dorso do nariz e quasi se funde com uma outra maior, a terceira, que da pálpebra inferior direita estende-se até o lábio superior; a quarta lesão tem forma mais regular, bem próxima ao oval e se coloca logo atrás da comissura labial esquerda.

Unhas — Sobre 62 casos de dermatomicoses por *T. acuminatum* verificamos 2 em que havia lesões ungueais, a saber: um caso exclusivo de onicomicose e outro em que havia ao mesmo tempo lesões da pele glabra e de uma unha, todas essas lesões tendo, porem, com causa o mesmo cogumelo.

No primeiro caso não menos de 6 unhas mostravam alterações, três em cada mão, isto é, as do indicador, do anular e do auricular da mão direita, e as unhas do indicador, do médio e do auricular da mão esquerda. A moléstia, em um período de cerca de 5 anos, foi alcançando uma por uma as unhas referidas, atingindo-as, como acontece para as onicomicoses, a partir da borda livre e avançando

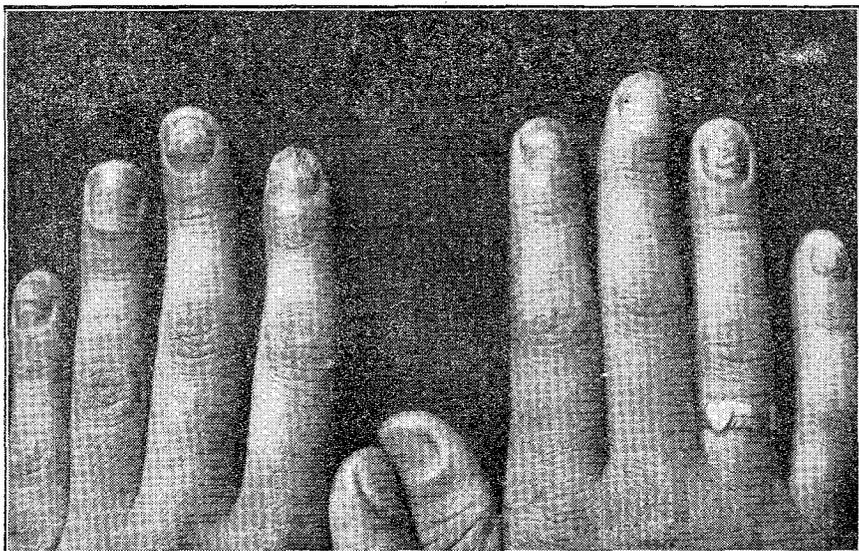


FIG. N.º 12

Onicomicose do indicador, anular e auricular da mão direita e do indicador, médio e auricular da mão esquerda, causada pelo *T. acuminatum*.

em sentido centrípeto. Como vemos na *figura n.º 12*, as unhas alteradas o estão em seus dois terços distais, progredindo a lesão para o lado da matriz ungueal em grau maior ou menor, segundo a antiguidade do processo. O aspecto é idêntico para todas as unhas atacadas. Elas são espessadas, opacas, isto é, sem brilho, e de cor amarela pardacenta. A táboa externa, irregular, rugosa, anfractuosa, rompida em muitos pontos, é lavrada de sulcos e elevações, tendo assim o aspecto de superfície corroída por ácido. No fundo das anfractuosidades percebe-se uma substância esbranqui-

çada, friavel, facilmente destacavel em pequenos fragmentos, parecida com medula de sabugo. Sobre o exame microscópico e cultura diremos mais adiante.

No outro caso havia associação de onicomucose com lesões da pele glabra. Tratava-se de indivíduo de 19 anos de idade, que referia ter sofrido, na infância, de tinha do couro cabeludo, lesão esta que desapareceu espontaneamente na época da puberdade. Desse momento em diante só ficaram lesões da pele glabra, que ora se atenuavam até a aparente extinção, ora reapareciam tão viçosas como antes. Aos 18 anos de idade verificou os primeiros sinais de alteração da unha do dedo médio da mão direita. Ao exame clínico, essa unha mostrava-se, em seus 2/3 distais, espessada, irregular, opaca e de côr amarela pardacenta. Na superfície dorsal dessa mão, na face anterior do antebraço direito e na pele da região frontal, havia lesões em grinalda de epidermomicose. As culturas de material de unha e escamas das lesões da pele revelaram o *T. acuminatum* como agente causal.

EXAME MICROSCÓPICO DO CABELO, ESCAMA E UNHA PARASITADOS PELO
T. ACUMINATUM

Cabelos — O aspécto, a olho nú, dos fragmentos de cabelos parasitados por esse cogumelo é o que se costuma observar determinado pelos *Endothrices*. Aquí entre nós as características desse aspécto são de se ver nos cabelos parasitados pelo *T. acuminatum*, e sobretudo pelo *T. violaceum*. Deixamos para tratar disso quando dissermos deste último cogumelo.

Ao microscópio, fragmentos de cabelo invadidos pelo *T. acuminatum*, depois de tratados pelo aquecimento e solução de potassa a 30 ou 40%, mostram-se repletos de filamentos esporulados, frequentemente em grande número, e então apertados uns contra os outros, mas sempre limitados ao interior do cabelo, para dentro da cutícula.

Escamas — Nestas vimos sempre filamentos micelianos de dois tipos, pelo menos. A grande maioria é representada por filamentos longos, em forma de fita, com andamento retilíneo e focalizáveis quasi que em um só plano, e feitos de artículos bem visíveis, de forma quadrangular, não deiscentes. O segundo tipo é de filamentos bem mais finos, tendo cerca da terça parte da espessura dos precedentes, também longos, mas pouco septados ou pelo menos com septos pouco distintos.

Unhas — O material de unha foi sempre examinado depois de 24 horas de maceração a frio em solução de potassa a 30%. Preferimos para exame a massa esbranquiçada semelhante á medula de sabugo, ou então, menos vezes porém, partículas limadas de qualquer ponto atacado da unha. Vimos numerosos filamentos micelianos, bastante espessos e longos, de andamento sinuoso, com dicotomias. Os filamentos são divididos transversalmente por septos bem visíveis em artículos de tamanho e forma variavel. A maioria dos artículos é quadrangular, outros, porem, são arredondados, tomando a forma de esferas achatadas nos polos. Alem desses filamentos espessos, há alguns mais delgados, feitos de artículos arredondados como contas de rosário, e outros longos, finos, sem septação visível.

Cultura do T. ACUMINATUM — Obtem-se sem dificuldade nos meios de Sabouraud glicosado, maltosado ou com mel. Os pontos de cultura aparecem em geral sobre o meio no 3.º dia após a sementeira, mais raramente no fim de uma semana. Têm no princípio a forma de pequena abóbada branca aveludada, sobre a qual não demora a destacar-se um grupo de digitações mais altas, que se assemelham ás antenas de certos insetos. A cultura estende-se conservando em seu centro essa espécie de palpos e tomando no conjunto a forma de cone achatado, cuja superfície, de aveludada, torna-se pulverulenta, e de branca muda-se para creme claro, para mais tarde, ao envelhecer, ganhar uma tonalidade levemente violeta. Sulcos radiados do centro para a periferia dividem a face da cultura em gomos mais ou menos regulares; isto se dá especialmente nas culturas gigantes, obtidas em balões, e de maneira bem menos evidente nos tubos.

A *figura n.º 13* representa uma primo-cultura típica de *T. acuminatum* desenvolvida em balão de Erlenmeyer, sobre meio de prova maltosado. Essa cultura, de 34 dias de idade, apresenta sua forma de cone achatado, os palpos em grupo no ápice do cone, os sulcos que dividem a superfície pulverulenta de côr branca creme em gomos. O dorso da cultura, a princípio pardo, pouco a pouco escurece, tomando por último, uma côr que lembra a do açúcar queimado. Nunca vimos degeneração pleomórfica em culturas desse cogumelo sobre meio de prova.

Cultura sobre lâmina — Estas, feitas segundo o método de Rivalier e Seydel, crescem não muito rapidamente, dando no fim

de 8 dias um disco de 9 a 10 milímetros de diâmetro e de superfície pulverulenta branca levemente pardacenta, especialmente em sua parte central. Nesta, correspondendo ao ponto de sementeira,



FIG. N.º 13

Primo-cultura de *T. acuminatum* em meio maltosado,
34.º dia.

há uma elevação em forma de cabeça de pequeno alfinete. Examinamos essas culturas ao microscópio depois de tê-las simplesmente fixado com vapores de uma solução de aldeído fórmica. Cremos poder aconselhar que se faça assim, sem expôr a cultura aos processos de colodionagem e de coloração, para poder observar em seu estado normal os filamentos micelianos e as frutificações. Reputamos, baseados em nossa experiência, melhores os resultados da observação de culturas simplesmente fixadas, do que os que se obtêm estudando culturas em lâminas cujos filamentos e órgãos foram submetidos ao traumatismo das diversas fases e à ação química das várias substâncias usadas desde o momento da fixação até o da montagem. Em culturas assim, os filamentos e órgãos guardam não só a sua forma como a disposição arquitetural normal.

Na cultura do *T. acuminatum*, sobre lâmina, vimos ao microscópio que ela se apresenta constituída em sua maior parte de filamentos longos, radiados do centro para a periferia. Esses filamentos, que são de calibre mais ou menos uniforme e feitos de células na maioria cúbicas ou retangulares, esgalham-se abundantemente para a direita e para a esquerda, emaranhando esse esgalhe com o dos filamentos vizinhos, especialmente na parte mais central da cultura. Resulta assim a formação de um tecido mais cerrado no centro, com filamentos radiados na periferia.

É essa a parte vegetativa da cultura, toda ela feita por isso de filamentos micelianos estéreis. Esse talo, como vemos, tem por assim dizer uma arquitetura em plano horizontal. Dele, porem, se elevam, aquí e acolá, hifas aéreas, filamentos bem mais finos que os precedentes e que podem ser vistos focalizando a objetiva do microscópio em plano mais alto do que o plano em que se vê o talo. São hifas finas, sinuosas, sobre as quais vêm-se inseridas frutificações piriformes, algumas curtas, presas diretamente á haste da hifa, outras mais longas, como que pediculadas. Muitas dessas hifas, devido à inserção das aleurias, de um e outro lado de sua haste, tomam a figura de pequenas palmas, porem, em geral não muito regulares.

Inoculação em cobáia — Obtivemos, com facilidade, resultado positivo, executando a inoculação, por fricção de cultura sobre a nuca da cobáia, depois de ter raspado cuidadosamente os pelos e traumatizado de leve a epiderme mediante lixa fina. As lesões devidas ao traumatismo desaparecem em 2 ou 3 dias. No fim da primeira semana, ou logo no início da segunda, a área inoculada mostra-se rósea e em parte recoberta de pequenas escamas ou crostas brancas cinzentas. Retirando nesse momento alguns pelos e examinando-os ao microscópio, é de se ver em alguns deles um começo de invasão miceliana; contudo pareceu-nos que nessa fase inicial os filamentos micelianos, bastante grossos, em fita, são particularmente abundantes nos fragmentos de camada córnea que vêm junto com o pelo examinado. Esses filamentos, que são septados em artículos curtos, quasi cúbicos, acompanham o pelo paralelamente ao seu eixo longitudinal, bem junto da bainha externa. Poucos atravessam essa bainha penetrando no interior do pelo; outros ficam sobre ela cruzando o pelo obliquamente em traçado sinuoso.

No fim da 2.^a semana a área inoculada da nuca da cobáia está recoberta de uma crosta espessa, rochosa, de côr branca suja manchada de vermelho e preto devido à mistura de exsudação com sangue. Essa crosta, mediocrementemente aderente e friavel, engloba um grande pincel de pelos. Examinados estes ao microscópio, depois de conveniente preparação, verificamos que muitos deles são normais; alguns, porém, revelam-se invadidos de filamentos miceliaes longos, formados de artículos quadrangulares. A localização desses filamentos é estritamente endotrix como nos cabelos humanos parasitados por esse mesmo cogumelo.

TRICHOPHYTON VIOLACEUM

Este cogumelo, pelo que vimos, é, entre nós, dos tricofitos o mais frequentemente encontrado. Suas manifestações clínicas são numerosas e variadas a ponto de ter sido possível afirmar que ele “poderia fazer todas as lesões dermatofíticas conhecidas, enquanto que todos os outros dermatofitos não são capazes de determinar senão algumas delas...” (11). Em trabalho precedentemente publicado (12), já nos ocupamos demoradamente desse interessante cogumelo, assinalando, entre outras coisas, uma das suas singularidades: sua capacidade de persistir, se bem que excepcionalmente, no couro cabeludo de indivíduos que tenham atingido e ultrapassado a puberdade. Aquí faremos um novo apanhado, tratando mais resumidamente das lesões da pele glabra que foram objeto de estudo pormenorizado no trabalho anterior, e dando maior desenvolvimento às lesões do couro cabeludo cuja descrição alí foi apenas esboçada.

Lesões do couro cabeludo — Tivemos ocasião de observar quadros clínicos diferentes, mesmo em focos epidêmicos devidos ao mesmo cogumelo, o que põe em justa luz a colaboração ativa que o organismo parasitado empresta à ação do parasito na criação da diversa fisionomia clínica com que se exterioriza a moléstia. Verificamos, como aspéctos mais frequentes do parasitismo do couro cabeludo pelo *T. violaceum*, os seguintes:

(11) Sabouraud, R. — 1928 — *II^o Mémoire Ann. de Derm. et Syph.* — VI Série — T. IX, pg. 769.

(12) Rossetti, Nicolau — Op. cit.

1.º — Este quadro clínico começa, em geral, por uma pequena placa irregular, de bordas mal definidas e área acinzentada ligeiramente descamante, do tamanho de uma cabeça de alfinete grande ou de lentilha. A lesão, por pequena e escondida entre os cabelos longos normais, não é percebida ou é reputada insignificante ou inócua, e confundida frequentemente com a pitiriasis simplex de couro cabeludo, a não ser que apareça em criança que esteja em foco epidêmico, o que torna evidentemente o caso suspeito. Dei-

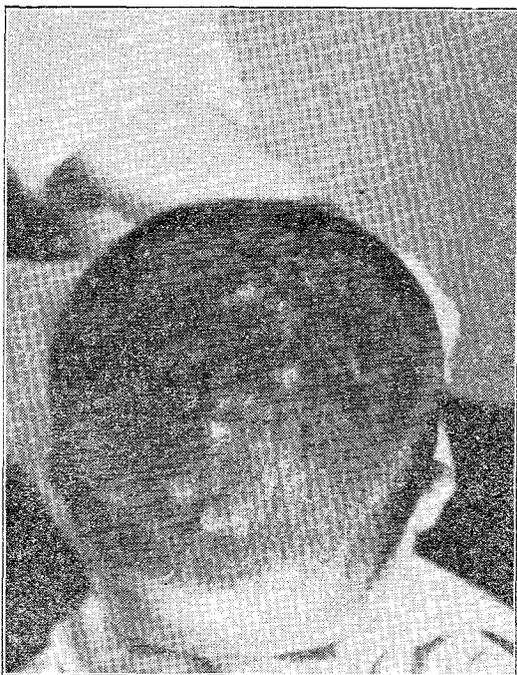


FIG. N.º 14

Tinha do couro cabeludo determinada pelo *T. violaceum*.

xado a si o doente, dia por dia, semana por semana, essa minúscula lesão ganha em superfície, transforma-se um pouco em seu aspécto, outras semelhantes aparecem cada vez mais numerosas nas proximidades da primeira, de modo que, após alguns meses, é de se ver o couro cabeludo salpicado de inúmeras pequenas placas irregularmente arredondadas, de dimensões que variam entre as de cabeça de alfinete e as de pequena unha (*Figura n.º 14*).

Muitas delas são isoladas, outras se agminam, fundem-se formando placas maiores, de contorno polilobado bastante irregular. Na área das placas pequenas, isoladas e na das placas maiores, não

há propriamente aspécto de tonsura, como acontece na microsporia; os cabelos longos, normais são poucos e se elevam como árvores isoladas numa clareira de mata. A superfície dessas lesões apresenta uma fina camada de escamas de côr branca cinzenta e nem sempre nos foi dado ver sobre ela cabelos rompidos. Estes, em muitos casos, só podem ser vistos retirando as escamas e dilacerando-as: mostram-se então como fragmentos curtos, de côr preta sem brilho, e entortilhados.

2.º — Nem sempre, porem, a pequena placa lenticular primitiva conduz ao quadro clínico que acabamos de descrever. A *figura n.º 15* nos dá um aspécto já algo diferente de tinha devida a *T. violaceum*. Em casos como este uma das placas, a-pesar-de



FIG. N.º 15

Tinha do couro cabeludo determinada pelo *T. violaceum*.

se manter isolada sem fusão com as vizinhas, atinge em seu desenvolvimento dimensões muito maiores. Cria-se assim, como se vê na *figura n.º 15*, uma grande placa bem redonda, com 3 ou 4 centímetros de diâmetro; no restante do couro cabeludo há nume-

rosas outras placas, todas pequenas, porém, e igualmente isoladas. A área de todas elas, mais especialmente a da maior, é quasi totalmente privada de cabelos longos normais e é recoberta não somente de escamas cinzentas, como no tipo anterior, mas aí estão presentes também crostinhas mais grossas, levemente amareladas, em cuja espessura podem ser encontrados fragmentos de cabelos curtos, curvos e entortilhados. A mais, na área dessas placas, o couro cabeludo tem um aspecto granitado em consequência de uma leve mas evidente saliência de folículos cujos cabelos se quebraram no nível dos óstios.

3.^o — Este último fenômeno — ruptura do cabelo ao nível do óstio e saliência do folículo — pode ser predominante em certos casos, de maneira a criar quadro clínico que observamos ser entre nós dos mais típicos, devido ao *T. violaceum*, enquanto que em outros países, como já foi dito neste trabalho, esse aspecto clínico é mais frequentemente determinado pelo *T. acuminatum*.

Certo é que, aqui em S. Paulo, o *T. violaceum* com frequência mostra-nos tinhas de couro cabeludo feitas de placas mais ou menos arredondadas, ou então irregulares, em cujas áreas, de permeio a poucos cabelos de comprimento normal, há a notar folículos, dilatados, salientes, encastoando cabelos quebrados rente ao nível dos óstios e que se apresentam por isso com o aspecto de grossos pontos pretos ou de grãos de pólvora. Nos casos típicos a área das lesões não mostra escamas simples mas um inducto gorduroso, mistura de secreção sebácea e detritos de epiderme. Em outros casos há as escamas acinzentadas comuns às tinhas do couro cabeludo.

4.^o — Um outro quadro clínico determinado pelo *T. violaceum*, mas que é também frequentemente encontrado entre as tinhas do couro cabeludo devidas ao *T. acuminatum*, é o seguinte: vêm-se as mesmas comuns pequenas placas mais ou menos lenticulares, isoladas ou agminadas, salpicando o couro cabeludo; a área dessas placas, recoberta de fina descamação cinzenta, mostra, porém, de permeio a escasso número de cabelos longos normais, numerosos outros, curtos, quebrados à altura de 3-4 e mesmo 5 milímetros acima do óstio folicular.

Esses troncos de cabelo perderam sua cor normal; são esbranquiçados, brancos acinzentados como se estivessem revestidos de fina camada de farinha, e se dispõem orientados em direções várias, divergentes, em todo caso não igual à dos cabelos normais da região.

5.^o — Casos há ainda em que o aspécto clínico é em seu conjunto bastante diferente dos acima descritos. Estes casos, que vimos agora não serem tão raros como nos pareceu quando escrevemos outro trabalho sobre esse mesmo cogumelo, são entre nós quasi que exclusivamente atribuíveis ao *T. violaceum*. O que neles chama a



FIG. N.º 16

Lesões cicatriciais do couro cabeludo devidas ao *T. violaceum*.

atenção (*figura n.º 16*) é a presença de numerosas cicatrículas lenticulares, planas ou levemente deprimidas, róseas ou brancas lustrosas, algumas isoladas, a maioria, contudo, agminada, dando assim origem a grande placa de extensão de palma de mão. Essa grande lesão, constituída, como vimos, pela confluência das pequenas, não é cicatricial em toda a extensão de sua superfície, mas inclue ilhotas de couro cabeludo são, sobre as quais se elevam feixes ou pinceis de cabelos longos normais que marcam um estranho contraste na superfície cicatricial deglabrada, lembrando oasis de vegetação em um deserto. Um exame mais demorado mostra, além disso, a existência, na borda das cicatrículas e ao redor das ilhotas da pele

normal, de pontos bem pretos, como grãos de pólvora ou como grandes comedones encravados no óstio dos folículos. São cabelos parasitados quebrados rente aos óstios.

6.º — Finalmente, se bem que como fato raro (uma só vez sobre mais de duas centenas de casos), surpreendemos o *T. violaceum* como responsável etiológico de um *kerion* absolutamente típico, de cerca de 5 centímetros de diâmetro, localizado no couro cabeludo.

Pele glabra — As lesões que o *T. violaceum* determina sobre a pele glabra não se diferenciam, em sua enorme maioria, das que são feitas pelo *T. acuminatum*. São, ou lesões eritêmato-escamosas, de bordas difusas ou mal delimitadas, esboçando segmentos de círculo ou pequenas grinaldas, dando o aspécto de herpes circinado frusto; ou então lesões da mesma ordem, porem, de forma perfeitamente definida, redonda ou ovalar, constituídas de uma área rósea finamente escamosa e de uma borda vermelha viva, estreita, em moldura que se sobrealça acima do nível da pele circunstante e é crivada de pequeníssimas vesículas ou de crostinhas amareladas. Estas lesões, que dão o quadro típico de um herpes circinado da pele glabra, vêm-se isoladas, em pessoas que em geral não apresentam tinha do couro cabeludo. As primeiras, menos perfeitas e frustas, são encontradas na zona de pele glabra que se limita com o couro cabeludo e mais frequentemente em indivíduos atacados de tonsurante. Além desse quadro clínico sempre mais ou menos discreto, o *T. violaceum* pode dar origem em casos raros a lesões da pele glabra muito difusas, ocupando regiões inteiras, generalizando-se às vezes mesmo a quasi toda a superfície do tegumento cutâneo. Casos assim foram descritos no estrangeiro, especialmente por autores russos^{13 e 14}. Nós também tivemos ocasião de observar um desses casos excepcionais e demos dele estudo pormenorizado¹⁵.

Prevaleciam aí alterações cutâneas de tipo do herpes circinado frusto, mas havia também, formando grandes placas, lesões tricofíticas atípicas em que, sobre um fundo de pele eritematosa, levemente infiltrada e descamante, era de se ver uma mistura de elementos eritêmato-vesiculosos, eritêmato-pálpulo-vesiculosos e escamosos, mais

(13) Mguebrow, M. G. — 1928 — Trichophyties atypiques de la peau glabre due au *T. violaceum* — *Ann. de Derm.* VI Série — T. IX, n.º 9, pg. 742.

(14) Pelévine, A. et Tchernogouboff, U. — 1927. Trichophytie chronique de la peau et des phanères chez tous les membres d'une même famille. *Ann. de Dermat.* VI Série, T. VIII, n.º 7, pg. 403.

(15) Rossetti, Nicolau — Op. cit.

ou menos eczematiformes. O exame microscópico provou que o material dessas lesões era parasitado por um cogumelo que a cultura mostrou ser o *T. violaceum*.

Unhas — Quanto a lesões de unhas vimo-las em um só caso, justamente o de lesões extensas, difusas e quasi generalizadas que acabamos de citar. E mesmo nesse, não nos foi possível obter cultura, si bem que o exame microscópico fosse positivo. Atribuimos essa onicomycose ao *T. violaceum* porque nos cabelos parasitados do couro cabeludo e nas escamas das lesões da pele glabra que o mesmo caso apresentava, só foi isolado, em cultura típica, esse cogumelo.

As unhas, todas as das mãos, eram alteradas em seus 2/3 distais: mostravam-se espessas, opacas, de côr branca cinzenta levemente amarelada, com a superfície externa irregular e rugosa, deformada por numerosas saliências e sulcos, ou então deprimida, como excavada, formando uma cavidade de fundo áspero.

EXAME MICROSCÓPICO DO CABELO, ESCAMA E UNHA PARASITADOS PELO
T. VIOLACEUM

Cabelos — Vistos a olho nú, mostram dois aspéctos, comuns também ao *T. acuminatum*: ou de fragmentos curtos, pretos sem brilho, curvos em vírgula, retorcidos, formando figuras de letras do alfabeto, como S, Z, W; ou, então, são fragmentos um pouco mais longos, apenas sinuosos, pretos levemente acinzentados como que polvilhados de farinha. O aspécto destes últimos não se confunde, porem, com o dos cabelos microspóricos.

Examinados ao microscópio, depois de clarificados por meio de aquecimento em solução de potassa a 30%, ou a frio em cloral-lactofenol, apresentam-se ricamente parasitados, recheiados de filamentos feitos de artículos arredondados, como contas de rosário e dispostos todos eles no interior do cabelo. Com frequência o número desses filamentos em rosário é enorme; eles se comprimem, dentro do espaço limitado pela cutícula, uns contra os outros, não deixando mais perceber o enfileiramento dos artículos, criando, assim, o aspécto de saco cheio de nozes, como o descreveu Sabouraud.

Escamas — Nestas sempre vimos maior ou menor número de filamentos micelianos longos, delgados e sinuosos. Os artículos que os constituem são curtos, delimitados por septos bem visíveis.

Unhas — Examinados após maceração a frio durante 24 horas, em solução de potassa a 30%, os fragmentos de unha mostram-se

parasitados por numerosos filamentos micelianos longos, retilíneos alguns, outros sinuosos, divididos, mediante septos bem visíveis, em artículos de figura quadrangular. Destes diferem alguns poucos artículos por serem oblongos, mais ou menos ovais.

Cultura do T. violaceum — A cultura é, de regra, facil de se obter, mas de início retardado e desenvolvimento bastante lento. Em meios de prova glicosado e maltosado, nunca nos pontos semeados nos foi dado constatar sinais do início da cultura antes do 4.º dia. Na maioria dos casos a cultura começa a ser visível a partir do 6.º dia. Houve, porem, alguns casos em que somente no 7.º e mesmo no 8.º dia é que se pôde perceber um pequeno ponto inicial. O aspécto desse ponto é sempre o mesmo, isto é, o de uma gotícula de cera, do tamanho de minúscula cabeça de alfinete, lisa, glabra, esbranquiçada ou levemente amarelada. Essa gotícula vai se extendendo lentamente,

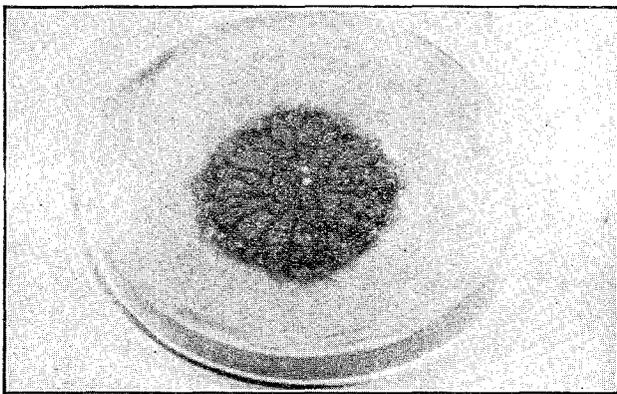


FIG. N.º 17

Cultura de *T. violaceum*, de 1 mês e 25 dias de idade, em meio de prova glicosado.

conservando-se glabra, convexa, lisa, um pouco luzidia, ainda branca amarelada, até que, após alguns dias, cerca de uma semana, seu centro se tinge de um leve matiz violeta. De dia para dia, enquanto a cultura ganha muito lentamente em extensão e se deforma, acuminando-se em seu centro e mostrando sulcos radiados em sua periferia, o pigmento aumenta consideravelmente e invade o talo todo, tingindo-o de roxo escuro ou violeta.

Não é raro vermos culturas em que a côr violeta mistura-se com um matiz vermelho bastante acentuado; e outras em que a côr viole-

ta torna-se pouco a pouco tão escura a ponto de a cultura chegar a parecer quasi preta.

Nas sucessivas repicagens, o pigmento tende ao desaparecimento, voltando a se obter cultura com o aspecto descorado dos primeiros dias. Em alguns casos, já nas primo-culturas falta o pigmento, razão pela qual alguns autores consideram estas como devidas a um cogumelo próximo do *T. violaceum*, um seu satélite, o *T. glabrum*.

Não nos deteremos sobre essa interessante questão por termos tratado dela em nosso trabalho precedente, já diversas vezes citado no decorrer deste.

Degeneração pleomórfica não se observa nas culturas de *T. violaceum*. Após alguns meses, porem, a superfície das culturas adultas e das velhas começa a mostrar pequenas ilhotas puntiformes ou pouco maiores, feitas de hifas curtas, brancas, que são interpretadas como fenômeno de senilidade do cogumelo. A *figura n.º 17* traz no centro da cultura dois desses pontos.

Cultura sobre lâmina — Também esta é de desenvolvimento muito lento. Os filamentos radiados que a constituem são uniformes, de igual espessura, muito semelhantes uns aos outros. Em sua maioria esses filamentos aparecem pouco septados; há, no entanto, alguns feitos de artículos numerosos e bem curtos. Em nossas lâminas notamos abundante dicotomisação e escassos clamidosporos. Não vimos nenhuma espécie de frutificação.

Inoculação em cobáia — É muito difícil a inoculação em animais de laboratório. O método mais seguro, e que empregamos, é o enxerto intraepidérmico de fragmentos de cabelo parasitado. Para isso raspamos preliminarmente a nuca de cobáias, friccionamos em seguida a área tonsurada com papel de lixa bem fino, deixando-a assim levemente traumatizada. Só então é que enxertamos, em pequenas lojas epidérmicas feitas a ponta de bisturí, os fragmentos de cabelo parasitado. No fim de duas semanas podem ser retiradas as crostinhas que se formaram nos pontos de inoculação e que englobam pelos. Estes, examinados em solução de potassa ou em cloral-lactofenol, são, na maioria, indenes; sempre, porem, se encontram alguns invadidos por filamentos micelianos esporulados, de sede endotrix.

Considerações mais pormenorizadas a respeito do *T. violaceum*, aquí entre nós, serão encontradas em nosso trabalho¹⁶ a que já por diversas vezes nos referimos.

(16) Rossetti, Nicolau — Op. cit.

TRICHOPHYTON CEREBRIFORME

Em quasi sete anos de pesquisa e sobre 442 casos de tinha do couro cabeludo e da pele glabra, só encontramos este cogumelo 7 vezes, a saber: 2 casos foram vistos logo nos dois primeiros anos de nossos estudos; os cinco restantes há poucos meses.

Estes cinco últimos constituem uma pequena epidemia em crianças de um asilo, em que havia de resto uma grande epidemia — para mais de 50 casos — de tinha devida ao *T. violaceum*.

Passando em revista os dados clínicos dos nossos sete casos vemos que cinco deles só apresentavam lesões do couro cabeludo, um mostrava lesões associadas do couro cabeludo e pele glabra; no último a lesão era unicamente um herpes circinado da pele glabra.

Couro cabeludo — Pareceu-nos que, em sua grande maioria, nossos casos mostravam uma notavel acentuação do carater inflamatório das lesões do couro cabeludo, o mesmo podendo-se dizer das lesões de pele glabra. Esse fato tornou-se-nos mais evidente por termos observado a maior parte dos nossos casos em um ambiente em que havia contemporaneamente epidemia de tinha causada pelo *T. violaceum*. Com as deste último contrastavam as lesões provocadas pelo *T. cerebriforme* por serem em sua maioria marcadamente inflamatórias enquanto que as do outro não o são.

O que vimos mais frequentemente foram lesões do seguinte aspecto: sobre o couro cabeludo observam-se placas arredondadas, de $\frac{1}{2}$ a $1\frac{1}{2}$ e mesmo até 3 centímetros de diâmetro, quasi que inteiramente alopecicas ou pelo menos mostrando notavel diminuição do número de cabelos de comprimento normal. A área dessas placas é rósea avermelhada, algumas, mais excepcionalmente, vermelhas e neste último caso a placa não é plana como as demais, porem, levemente saliente, um pouco túrgida. Todas elas descamam ligeiramente e trazem crostinhas redondas amarelas pardacentas. Ao redor das placas é de se ver uma descamação acinzentada e a presença de cabelos curtos, quebrados a cerca de 1 milímetro do óstio folicular, e de côr mudada para um cinzento esbranquiçado. Às vezes, como se verificou em um dos casos, o carater inflamatório é ainda mais acentuado. A lesão então vermelha viva e levemente sobrelevada chega a mostrar folículos supurados donde os cabelos em seguida são expulsos. É o aspecto de um *kerion frusto*.

Alem dessas formas sub-agudas e mesmo até certo ponto agudas, vimos dois outros casos em que o quadro clínico era totalmente diferente. Em um deles só havia, entre os cabelos, poucas placas lenticulares, muito discretas, pouco visíveis e nada inflamatórias, em cuja área, alem de pequena descamação, era de se ver alguns cabelos quebrados, curtos, acinzentados. O outro assemelhava-se em conjunto a este, porem os cabelos parasitados rompiam-se rente ao óstio folicular, mostrando-se como pontos bem pretos à maneira de grãos de pólvora.

Pele glabra — Nos dois casos que observamos, as lesões são de herpes circinado, em um deles representado por uma única placa ovalar, no outro por duas lesões policíclicas em forma de pequenas grinaldas. O quadro clínico do herpes circinado é aqui semelhante em quasi tudo aos determinados pelos outros cogumelos precedentemente estudados; contudo, nos causados pelo *T. cerebriforme* a lesão é mais viva, mais intensamente vermelha, mais túrgida, em resumo mais acentuadamente inflamatória.

EXAME MICROSCÓPICO DO CABELO PARASITADO PELO *T. CEREBRIFORME*

O fragmento de cabelo, clarificado em solução de potassa a 30% e calôr, apresenta-se recheiado de filamentos esporulados, redondos ou melhor, quando são muitos e comprimidos uns contra os outros, poligonais. Esses pseudo-esporos são todos de sede endotrix e, nos pontos em que se amontoam em maior número, não deixam perceber sistematisação em filamento, parecendo montes de esporos. São, porem, na realidade artículos de filamentos micelianos, como se verifica em outros campos do fragmento de cabelo em que menor é o número desses filamentos e mais facil se torna a apreciação da sua morfologia. Num ou outro fragmento de cabelo parasitado percebe-se, alem dessa invasão endotrix, alguns filamentos em forma de fita, com artículos mais ou menos quadrangulares, que se dispõem sobre a cutícula descendo paralelamente ao grande eixo do cabelo.

Cultura do T. cerebriforme — Em meio de Sabouraud glicosado ou maltosado é por volta do 4.^o-5.^o dia que vimos aparecer ao nível do ponto semeado uma cultura penugenta, alva, puntiforme que logo em 36-48 horas alcança as dimensões e forma de pequena cabeça de alfinete. No fim da primeira década, essa primo-cultura é representada por um disco de diâmetro de ervilha, com superfície branca,

ainda levemente penugenta e já um pouco deprimida em “godet” em sua parte mais central. Nos 3-4 dias seguintes, o disco de cultura, à medida que se alarga e se deprime, toma a forma de botão de peito de camisa, torna-se cada vez menos penugento, mostrando-se liso, acartonado, pulverulento. É quando a cultura do *T. cerebriforme* mais se assemelha à do *T. crateriforme*. Alguns pontos de cultura, especialmente na parte alta dos tubos, permanecem longamente

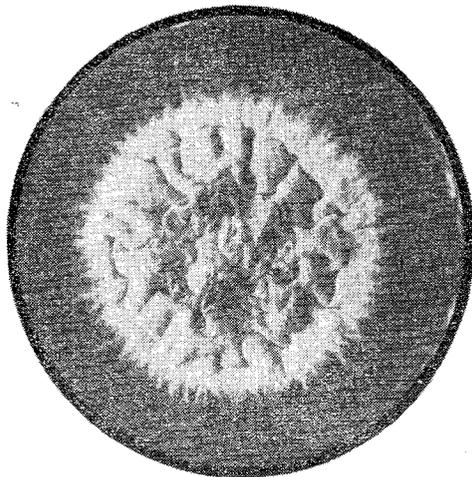


FIG. N.º 18

Cultura de *T. cerebriforme*, de 40 dias de idade; em meio de prova glicosado.

nessa fase. Com a evolução de cultura de tipo aveludado para cultura acartonada, pulverulenta, também a cor muda de branco para o creme e, nas 5 últimas cepas que observamos, para amarelo enxofre. Sobre este fato voltaremos mais adiante. Já nessa ocasião, próximo do fim da 2.^a semana, aparecem os primeiros sulcos e elevações que vão aos poucos convulsionando a superfície do disco de cultura, tornando-o irregular e como que recoberto de circunvoluções, donde deriva o nome da espécie. No fim de 1 mês, ou pouco mais, a cultura em balão de Erlenmeyer atingiu ao ápice do seu desenvolvimento e veio. É então um grande disco (*figura n.º 18*) de 4 centímetros de diâmetro com quasi toda a sua superfície bastante movimentada, feita como está de numerosas elevações e sulcos que se contornam uns aos outros de modo extremamente irregular. Mais alta em sua parte central, a superfície da cultura abaixa-se na borda e se rodeia de uma coroa de expansões radiadas de comprimento desigual. Seu aspecto é inconfundível.

A respeito da côr da cultura devemos fazer notar que as 5 últimas cepas que estudamos e que pertencem a uma pequena epidemia, a cultura teve durante semanas um matiz amarelo enxofre que mais tarde desapareceu, como acontece com o *T. cerebriforme ochropyraceum* (Mujs 1924) observado na Holanda e considerado variedade satélite do *T. cerebriforme*.

Pleomorfismo — Parece-nos extremamente raro pois que, apesar-de terem sido numerosas as culturas que fizemos, só observamos em uma delas, no 39.º dia, algumas ilhotas de penugem alta, branca de neve, evidentemente pleomórfica.

Cultura sobre lâmina — Damos aquí a descrição de uma cultura, em meio maltosado sobre lâmina, com 8 dias de idade. É representada macroscopicamente por um disco de 11 milímetros de diâmetro, plano mas centrado por uma elevação do tamanho de pequena cabeça de alfinete, elevação essa que corresponde ao ponto de semeadura. Esse disco tem 2 zonas bem evidentes: a central, da dimensão de uma lentilha ou pouco maior, é pulverulenta e de côr branca ligeiramente creme; e a periférica, também plana mas de aspécto sedoso e de côr branca acinzentada. Esta última é visivelmente feita de hifas horizontais, achatadas sobre o meio e dispostas em direção radiada.

Ao microscópio, focalizando a *parte periférica* da cultura só nos é dado ver hifas estéreis radiadas de dentro para fora, de espessura mais ou menos uniforme, constituídas de células em geral cúbicas ou sub-cúbicas. Essas hifas no seu trajeto se ramificam por dicotomia, e do entrelaçamento de seus ramos tem origem um tecido miceliano não muito cerrado mas suficiente para dar, a olho nú, a esse ponto da cultura, uma aparência de tecido unido.

A *parte central* da cultura, a que macroscopicamente se apresenta pulverulenta, mostra ao microscópio dois aspéctos diferentes colocados em planos superpostos. 1.º) — Focalizando o plano mais profundo tem-se o mesmo quadro de hifas estéreis acima descrito para a zona externa do disco de cultura, com a única diferença que aquí o tecido, formado pelo entrecruzamento das ramificações das hifas estéreis, é bastante cerrado. 2.º) — Em plano superior a este, mas dele se originando, é de se ver numerosas hifas, bem mais finas e também mais curtas do que as estéreis, que se dirigem de baixo para cima com andamento sinuoso, formando um entrelaçamento frouxo. Essas hifas finas, não muito longas, sinuosas, apresentam,

dispostas perpendicularmente a ambos os lados de seu eixo longitudinal, aleurias piriformes, na maioria sésseis e outras pediculadas. Em certos pontos esses tirsos são tão numerosos e próximos uns dos outros que quasi realizam o aspécto de cachos esporíferos.

Inoculação em cobáia — A inoculação experimental do *T. cerebriforme* em cobáias é facil e por isso sempre positiva. O método que empregamos foi o da fricção de cultura, de cerca de 16 dias de idade, sobre a nuca rapada de cobáias novas. O desenvolvimento das lesões é mais ou menos idêntico ao do *T. acuminatum*. Do 11º ao 13º dia, muitos pontos da nuca do animal mostram-se recobertos de crostas espessas, secas e friáveis, de côr amarela clara ou acinzentada, aderentes. Essas crostas englobam numerosos pelos. Retiradas, põem a descoberto uma erosão plana, rósea, úmida, sangrando em alguns pontos. Os pelos parasitados apresentam ao microscópio o mesmo tipo arquitetural de parasitismo já precedentemente descrito para os cabelos humanos.

TRICHOPHYTONS MICROIDES

Dos *Microides* só encontramos alguns casos, todos eles de cultura pulverulenta, isto é, pertencentes ao grupo dos *gypseums*. Ao todo isolamos 5 culturas: 2 de espécie *asteroides* e 3 da *granulosum*. Neste ponto nossa estatística é escassa, divergindo da de Abílio Martins de Castro que vai referida à página 228, confrontada com a nossa. Esse nosso preclaro colega, cujos estudos são dignos do maior apreço, encontrou casos de tinha pelos *Trichophytos gypseums* em número notavelmente maior e verificou mesmo, além da existência do *T. asteroides* e *T. granulosum*, também a do *T. lacticolor*.

Creemos poder explicar essa divergência de dados lembrando que os casos de nossa estatística são, em sua quasi totalidade, de origem urbana, enquanto que muitos da estatística de Martins de Castro pertencem à zona rural. Sendo os *Trichophytos gypseums* cogumelos de origem animal e sobretudo equina, facil será imaginá-los mais frequentes em material colhido em zona urbana e rural do que no obtido somente em zona urbana.

Mesmo na maioria dos nossos casos a anamnese revelou que os doentes, a-pesar-de habitarem dentro do perímetro urbano, tinham moradia próxima a cocheiras com cujos animais lidavam de quando em vez.

T. ASTEROIDES — Dos nossos *gypseums* vemos em primeiro lugar os 2 casos devidos ao *T. asteroides*, um deles tendo como localização exclusiva da lesão o couro cabeludo e o outro a pele glabra.

Quanto ao primeiro, trata-se de menino de 7 anos de idade, que apresenta sobre o couro cabeludo um enorme *kerion* em regressão (*figura n.º 19*), sob a forma de grande lesão inflamatória, redonda, do diâmetro de 8 centímetros, sobrelevada em planalto. Em sua área, o tegumento é espessado, vermelho, suculento, e mostra pústulas, algumas crostas e pequeno número de cabelos rompidos, grossos, sem brilho. A maioria dos cabelos da área da lesão já não se acha presente, por ter sido expulsa em consequência de forte reação inflamatória dos folículos.



FIG. N.º 19

Enorme *kerion* do couro cabeludo, em regressão, causado pelo *T. gypseum asteroides*.

O segundo caso diz respeito a lesões unicamente de pele glabra em mulher parda de 27 anos de idade. A moléstia, que se iniciára há 4 meses, era representada no momento do nosso exame por 6 placas de herpes circinado, redondas ou ovais, localizadas sobre o tronco e membros superiores. A lesão maior mede 5½ centímetros

de diâmetro, enquanto que a menor alcança apenas a largura de $1\frac{1}{2}$ centímetro. Todas elas têm área rósea salpicada de escaminhas acinzentadas e borda nitidamente delimitada em forma de fita estreita, avermelhada, mais alta do que a pele sã circunstante, e crivada de crostinhas e minúsculas vesículas.

EXAME MICROSCÓPICO DO CABELO E DE ESCAMAS

Cabelo — Do 1º caso — o do kerion — conseguimos com certa dificuldade alguns dos poucos cabelos rompidos não ainda eliminados pelo processo expulsivo da lesão. Tratados em solução de potassa levemente aquecida, pudemos ver que esses fragmentos de cabelo mostravam no seu interior filamentos micelianos não muito longos, formados de artículos de vária forma e tamanho, sendo alguns oblongos, outros arredondados, cúbicos, retangulares. Em sua parte externa o fragmento era envolvido por uma couraça incompleta feita de pequenos esporos, semelhantes aos dos *Microsporus*, parecendo-nos, porem, de dimensões bem menores. Nos pontos em que a couraça é menos densa nota-se perfeitamente a disposição em cadêia dos pequenos esporos, peculiaridade essa própria dos *Microides*.

Escamas — O exame microscópico das escamas retiradas das lesões do 2º caso, fez-nos ver numerosos filamentos micelianos muito finos e longos, entrecruzados em rede de malhas largas.

A septação desses micélios é escassamente visível, e onde o é, os artículos, que os tabiques intercelulares delimitam, são em geral de aspécto quadrangular, de diâmetro muito curto. Os filamentos micelianos esgalham-se em frequente dicotomia.

Cultura do T. asteroides — É de desenvolvimento rápido. Em meio de Sabouraud maltosado, já no 3º dia é de se ver o aparecimento de pequeno botão penugento de côr branca. A cultura cresce rapidamente em forma de disco, perdendo logo sua penugem dos primeiros dias e tornando-se pulverulenta, como que pulverizada de gesso. A *figura nº 20* que obtivemos do nosso 2º caso, mostra que em cerca de 3 semanas o disco de cultura já ocupou quasi toda a área do fundo de um balão de Erlenmeyer, é bem branca, gessosa e circundada de uma franja radiada que lhe imprime um aspécto absolutamente característico.

Pleomorfismo — A degeneração pleomórfica é constante nas culturas deste cogumelo e relativamente precoce. Na cultura repre-

sentada pela *figura nº 20*, o centro começa a mostrar o primeiro floco de penugem fina e alva, que aos poucos irá se alastrando até ocupar toda a área do disco.

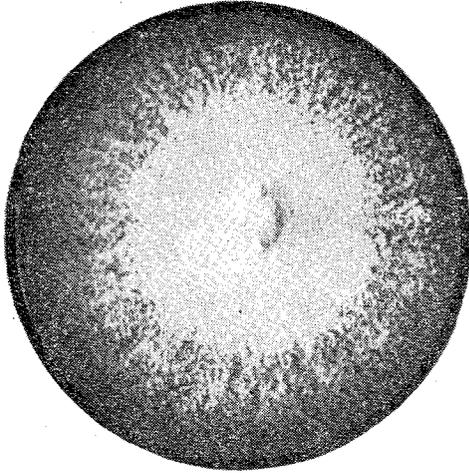


FIG. N.º 20

Trichophyton asteroides — Cultura em balão de Erlenmeyer, meio maltosado, 21.º dia.

Inoculação em cobáia — É muito facil de se obter. Após raspar a nuca das cobáias, enxertamos, em 3 pontos equidistantes, dispostos em triângulo, fragmentos de uma primo-cultura com 10 dias de idade, obtida sobre meio de Sabouraud glicosado. Já do 8º ao 10º dia notava-se formação de crostas espessas, secas, pouco aderentes e de côr branca amarelada, que, destacadas, deixam a descoberto o derma erosado sangrante em alguns pontos. As crostas englobam numerosos pelos reunidos em pincel. Examinamos pelos da área afetada por volta do 14º e 18º dia da inoculação e pudemos ver ao microscópio a bainha de pequenos esporos em rosário, com disposição ectothrix, e os filamentos micelianos endotrices, flexuosos alguns, outros retilíneos, formados de artículos curtos quadrangulares ou então mais longos de aspécto retangular.

TRICHOPHYTON GRANULOSUM

Os três casos devidos a este cogumelo, que tivemos oportunidade de observar, dizem respeito a menores — da idade de 8, 11 e 12 anos. Todos eles brincavam ou lidavam diariamente com cavalos. O menino de 8 anos trazia no couro cabeludo um kerion bem redondo e

sobrelevado em planalto, medindo cerca de 4 centímetros de diâmetro. A lesão, muito túrgida e inflamada, estava em grande parte recoberta de crostas amarelas pardacentas, sob as quais minava pús denso e amarelado. De permeio às crostas havia cabelos de aspecto esbranquiçado, rompidos poucos milímetros acima do óstio folicular.

O irmão desse paciente apresentava igualmente lesão de tinha mas com localização no dorso da mão direita e sem aspecto tão acen-tuadamente inflamatório. Via-se nessa região uma grande área de 6 centímetros de diâmetro, exatamente redonda, de côr vermelha, atenuada por alguma descamação e pequenas crostas, dando em conjunto a impressão de kerion frusto ou em franca involução.



FIGS. XS. 21 e 22

Lesões da pele glabra determinadas pelo *T. granulosum*.

Finalmente o 3º caso — menina de 12 anos de idade — mostrava unicamente lesões da pele glabra mas com características ainda menos inflamatórias, em contradição com o que é hábito dessa espécie tricofítica. Com efeito, enquanto nas duas observações precedentes as lesões são, se bem que em grau desigual, do tipo dos kerions, este último caso só nos apresenta eflorescências superficiais,

eritêmato-escamosas, desenhando na frente um amplo arco de círculo e na face direita circinações mais ou menos completas e ovulares, como herpes circinado frusto (*figuras nº 21 e nº 22*).

Exame microscópico do cabelo e das escamas — A disposição arquitetural do parasito nos cabelos é a endo-ectothrix, comum aos *Microïdes*, e que já descrevemos ao falar do *T. g. asteroides*. Igualmente o que lá foi dito a respeito do aspécto dos filamentos micelia-nos nas escamas fica valendo para o *T. granulorum*.

Cultura do T. granulorum — Um fragmento de escama ou de cabelo parasitado, semeado em balão de Erlenmeyer contendo meio de Sabouraud, mostra já no 4º dia minúsculo penacho de hifas aéreas de côr branca levemente cinzenta. O desenvolvimento da cultura procede com rapidez pois que no 5º dia o pequeno penacho do dia anterior é visivelmente mais denso e traz em sua periferia

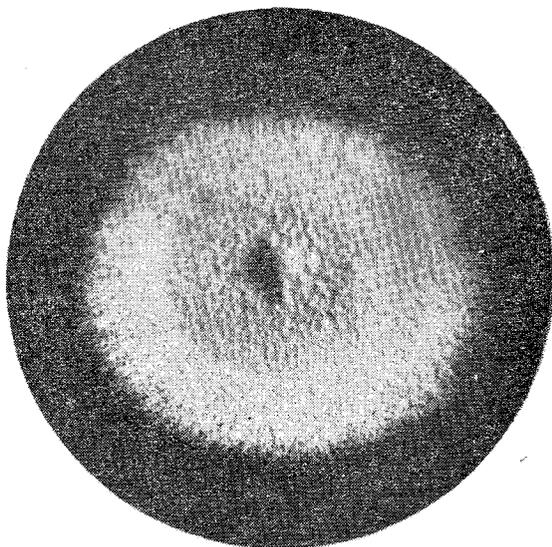


FIG. N.º 23

Cultura de *T. granulorum* em meio de Sabouraud glicosado — 17.º dia.

uma radiação apenas visível feita de filamentos horizontais rente à superfície do meio. Dois dias depois (7º dia) a cultura tem o aspécto de disco plano, de 6 mms. de diâmetro, centrado por pequena elevação do tamanho de cabeça de alfinete; sua superfície é ainda alva mas pouco penugenta, pois que já começa a se transformar, mostrando-se como feita de tecido denso com grosseira páti-

na pulverulenta. De agora em diante essa pulverulência gessosa, porem de côr amarelo clara e verdadeiramente grossa, granulosa, irá tomando conta cada vez mais da cultura. O dorso desta vae se tingindo de amarelo pardo com leve matiz ferrugem.

No 15^o-17^o dia (*figura n^o 23*) a cultura está em pleno viço; é representada por grande disco de 5 cms. de diâmetro, plano em toda sua extensão exceto no centro, no ponto de inoculação em que há uma elevação irregularmente cônica do tamanho de pequena ervilha; sua superfície é coberta de abundantes grânulos, na maioria grossos, de côr amarela pálida. Essa zona pulverulenta é circundada ainda por um halo branco de penugem curta que tenderá pouco a pouco a desaparecer. A côr do dorso da cultura tornou-se mais fosca, o pardo virando cada vez mais para uma tonalidade de ferrugem escura.

Pleomorfismo — As culturas do *T. granulosum* sofrem facilmente degeneração pleomórfica. Com cerca de 4 semanas de idade começam a mostrar ilhotas de penugem alta e muito branca. Essas ilhotas se multiplicam e se estendem cobrindo aos poucos, por fusão, toda a superfície do disco anteriormente penugento.

Culturas sobre lâminas — (*Figuras ns. 24, 25, 26 e 27*) — As culturas feitas sobre lâmina em meio maltosado têm desenvolvimento viçoso, mais ou menos rápido segundo a espessura da camada de meio de cultura. Examinadas no microscópio, sem prévia colodionagem e coloração, já deixam ver, quando focalizadas em plano profundo, um talo miceliano feito de numerosíssimos filamentos, radiados do centro para a periferia, que se esgalham com frequência entrelaçando-se assim uns com os outros. Esses filamentos, que são cilíndricos e septados, não mostram, vistos nesse plano, nenhuma frutificação. Se focalizarmos, porem, um pouco acima, nota-se que, partindo desse talo, há hifas aéreas mais finas que dão ramos curtos dispostos perpendicularmente a seu eixo longitudinal. Tanto as hifas aéreas como seus ramos em cruz apresentam-se carregados de pequenas *aleurias piriformes* formando cachos na maioria extremamente densos e tão numerosos que o campo microscópico resulta coalhado deles. É esse aspécto uma das características mais próprias dos *Trichophytos gypseums*. Em certas lâminas, em algumas mais, em outras menos, aparecem *gavinhas ou espirais* de uma ou mais voltas e fusos. Esses fusos têm sempre forma de clava de ponta romba, são septados em diversas lojas e prendem-se ou a um

cacho de aleurias ou a um simples filamento como apêndice lateral ou terminal. Devemos lembrar que no clássico tratado de Sa-

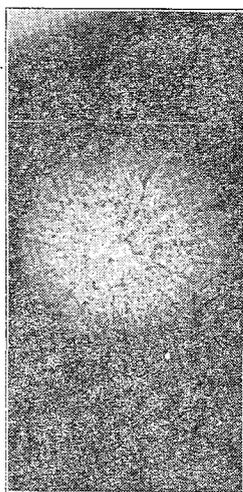


FIG. N.º 24

T. granulosum — Cultura sobre lâmina — 10.º dia. Meio glicosado.

bouraud sobre as tinhas não vem referida, no estudo micológico do *T. granulosum*, a presença de gavinhas e fusos; pelo contrário, é aí acentuada a ausência desses órgãos. É a Abílio Martins de Castro que se deve a primeira referência à presença deles nas culturas de *T. granulosum*. Este autor deu disso conhecimento a Sabouraud que assim lhe respondeu, textualmente: "*En ce qui concerne les vrilles de votre T. granulosum, j'avais été étonné de n'en pas trouver car elles caractérisent tout le groupe: mais j'en avais eu très peu d'exemplaires. Il est donc possible qu'une culture de même espèce et d'une autre source en puisse montrer. Cela ferait rentrer plus parfaitement cette espèce dans le groupe dont elle fait partie évidemment*" (17). Trazemos hoje com a nossa

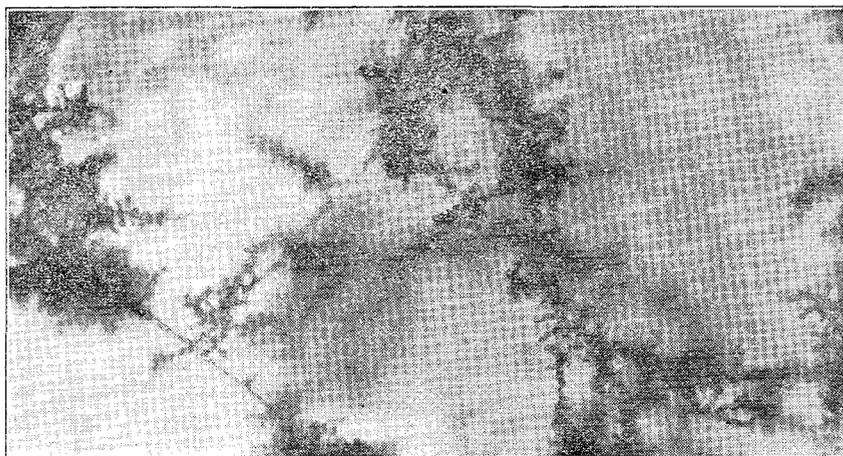


FIG. N.º 25

T. granulosum — Cachos de aleurias de uma cultura sobre lâmina. Obj. 5 Oc. 10. Ampliação: 360x

(17) Martins de Castro, Abílio — 1929 — Tinha dos animais domésticos em S. Paulo — II — Trichophycia — *Arquivos do Instituto Biológico*, Outubro.

observação mais uma prova de que realmente, pelo menos nossas cepas de *T. granulorum*, apresentam gavinhas e fusos como eviden-

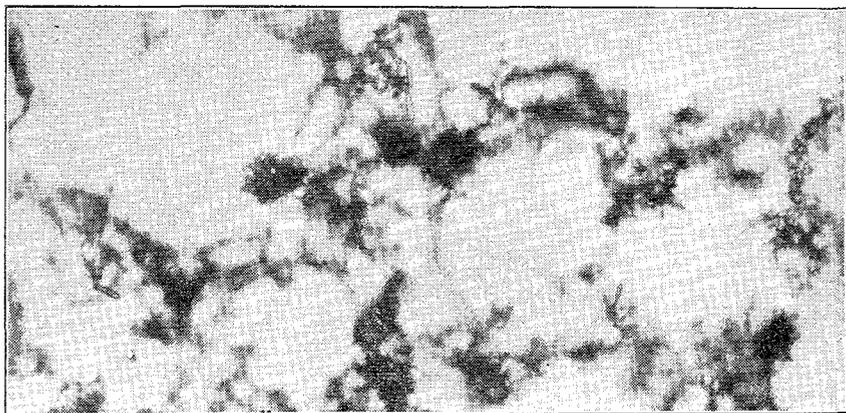


FIG. N.º 26

T. granulorum — Fusos de cultura sobre lâmina. Obj. 3 Oc. 10. Ampliação: 120x

ciam a microfotografia da *figura n.º 26* e o desenho da *figura n.º 27*.

Inoculação — O *T. granulorum* é de fácil inoculação. Fizemos esta, como de costume, em cobaias, pelos métodos mais comuns: so-

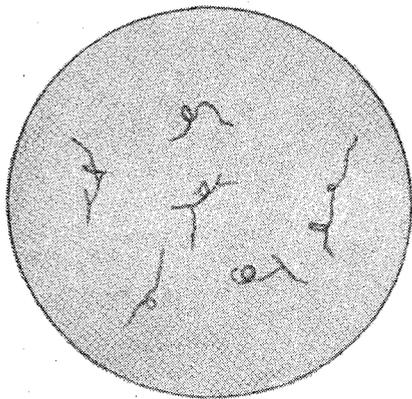


FIG. N.º 27

T. granulorum — Gavinhas de cultura sobre lâmina. Desenho.

bre nunca raspada mediante fricção ou enxerto intraepidérmico de fragmentos de cultura, ou, sobre nunca não raspada, aplicando sobre ela u'a massa viscosa feita de mistura de cultura triturada com mel de abelhas. Em geral no 10.º-11.º dia pode-se ver na região inoculada crostas espessas, mais ou menos rochosas e friáveis que englobam numerosos pelos. Estes mostram ao microscópio o cogumelo com disposição arquitetural endo-ectothrix própria dos *Microïdes*.

TRICHOPHYTONS MEGASPOROS

Os tricofitons de origem animal são, como ficou evidenciado, muito escassos em nossa estatística, por razões plausíveis já expos-

tas. Dentre eles, mesmo os Microides, que em geral não são raros particularmente em zona rural ou sub-rural, estão representados, em nossa lista de espécies, por poucos exemplares.

Dos *Megasporos* só vimos um caso que diz respeito à espécie faviforme denominada *Trichophyton album* (Sabouraud, 1909).

Não neste, mas em trabalho ulterior, faremos dele um estudo à parte em razão de sua raridade, acreditando ter sido esta a primeira vez que ele é observado aqui em S. Paulo.

F A V U S

Como já se viu na parte geral deste trabalho, verificamos a existência entre nós de três espécies de *Achorions*:

— o *A. Schoenleinii* que é relativamente frequente,

— o *A. gypseum* Bodin, parasito raro mas encontrado por nós 4 vezes, e

— o *A. gallinae*, cogumelo de raridade extrema como parasito espontâneo do homem e que como tal foi-nos dado ver uma só vez.

Não nos deteremos aqui sobre este último cogumelo, pois que o caso de infestação cutânea humana devida ao *A. gallinae*, por ser excepcional, merecerá de nós um estudo pormenorizado, que será publicado à parte, ulteriormente.

Quanto ao *A. gypseum*, os 4 casos que observamos já foram expostos minuciosamente em um nosso trabalho anterior¹⁸; por isso, neste, será dado unicamente um apanhado desse estudo.

Terminaremos este capítulo com a exposição de nossas observações a respeito do *A. Schoenleinii*.

ACHORIÒN GYPSEUM BODIN

Dermatofito bastante raro no mundo inteiro; o número de casos referidos na literatura médica ultrapassa de pouco meia centena.

(18) Rossetti, Nicolau — Op. cit.

Os casos brasileiros conhecidos limitam-se, ao que nos parece, a 5: um publicado por Abílio Martins de Castro¹⁹, e 4 por nós.

Lesões clínicas — Dos nossos casos, três mostravam lesões da pele glabra, do tipo geral de herpes circinado; um só trazia lesão de couro cabeludo sob a forma de kerion. Vamos começar por este:

Kerion do couro cabeludo por A. gypseum — Vimos esta lesão desde o seu início, tendo podido seguir toda a sua evolução clínica ulterior até à cura. Começou por uma pequena área avermelhada, crosiva, levemente exsudante, que foi atribuída a esbarro contra um movel. Dia por dia o aspécto da lesão foi-se agravando, ganhando rapidamente caráter inflamatório muito mais intenso, de modo a se observar no lugar da primitiva placa uma elevação em planalto, vermelha, redonda, bem delimitada, medindo cerca de 2½ centímetros de diâmetro, com superfície mole e mesmo algo flutuante à palpação. Em seguida, essa superfície crivou-se de pústulas folliculares, cheias de pús amarelado, dando assim à lesão seu aspécto definitivo de kérion típico. Achamos então conveniente depilar toda a área atacada e aproveitamos esse material para exame microscópico e cultura. Sobre isto diremos algo mais adiante.

Herpes circinado da pele glabra por A. gypseum — Os demais 3 casos traziam somente lesões da pele glabra, e, mais exatamente, uma só lesão para cada caso. Tratava-se, de um modo geral, de placas ovulares, de contorno bem delimitado, constituídas de área avermelhada, crivada de minúsculas vesículas e crostas, ou então rósea, descamante, e de borda em fita estreita, vermelha levemente sobrelevada.

Sobre essa borda em moldura, era de se ver, ou uma carreira de pústulas, ou então pequenas crostas arredondadas, das dimensões de cabeça de alfinete e de côr parda acinzentada (*figura nº 28*).

Esse quadro clínico de herpes circinado é, até certo ponto, indiferenciável das manifestações do mesmo tipo que aqui em S. Paulo são quasi que totalmente determinadas pelo *M. felineum*. Contudo há que notar maior intensidade dos fenômenos inflamatórios nos 3 casos devidos ao *A. gypseum* do que é costume encontrar nas lesões da pele glabra provocadas pelo *Microsporion* citado.

(19) Castro, Abílio Martins de — 1939 — *Achorion gypseum* Bodin, 1908 — *Ann. Bras. Derm. e Sifilografia*, Vol. XIV, n.º 1.

Exame microscópico do cabelo e de escamas — Tratados pela potassa e examinados ao microscópio, os cabelos retirados do kérion mostravam o seguinte quadro:

1º — *Em sua parte externa* eram envolvidos por filamentos micelianos numerosos, finos, longos, sinuosos, que cruzavam o grande eixo da parte radicular do cabelo em diferentes pontos. Disso resultava um entrelaçamento miceliano tão denso em certos logares, a ponto de criar o aspécto de um verdadeiro tecido. Esses filamentos, em sua maioria, não deixam perceber septos; quando estes são visíveis, o filamento aparece constituído de artículos irregularmente quadrangulares.

Ainda externamente ao cabelo, é de se ver filamentos micelianos mais curtos e duas a três vezes mais espessos do que os já referidos, compostos de artículos não bem uniformes, sendo arredondados e

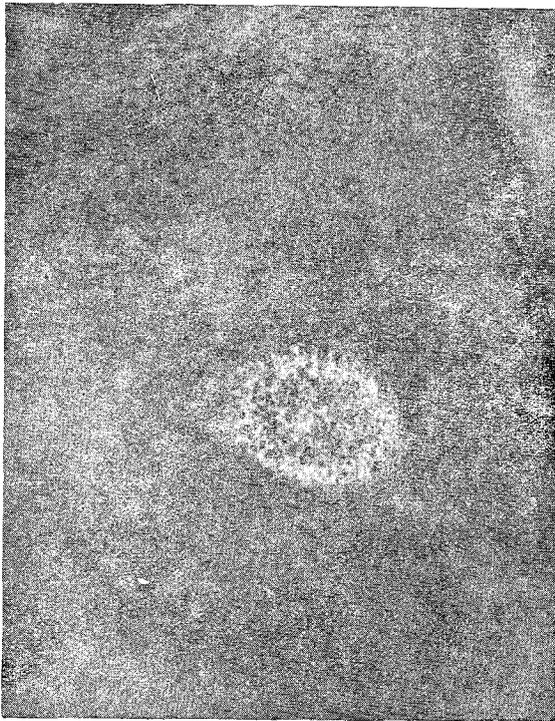


FIG. N.º 28

Epidermomicose da nuca, causada pelo *A. gypseum* Bodin.

mesmo sub-cúbicos. Num determinado preparado, um dos cabelos mostrava, ainda em sua parte externa e a uma altura que julgamos corresponder ao nível da saída do folículo, micélios mais grossos, cujos artículos se dispunham em pequenos grupos, de maneira a dar o aspecto de *tarsos fávicos*.

2.º — *Em seu interior*, alguns poucos cabelos mostravam filamentos micelianos longos, pouco numerosos, de espessura desigual, feitos de artículos quadrangulares e sub-cúbicos, de forma e tamanho diferentes no mesmo micélio. O decurso desses filamentos endotrices é paralelo ao grande eixo do cabelo.

Escamas — Nestas evidencia-se a presença de filamentos micelianos caracterizados sobretudo pela grande desigualdade de espessura que, para os diferentes micélios, varia do simples ao triplo, e pelo acentuado polimorfismo dos artículos que formam cada micélio. Os filamentos mais finos, em geral, são regularmente cilíndricos e nada ou muito pouco septados; os de espessura dupla ou tripla, pelo contrário, têm contorno irregular, constituídos como são de artículos dos mais variados tamanhos e formas, retangulares, cúbicos, sub-cúbicos, ovóides. Nas escamas podem ser vistos também amontoados compostos de grossos micélios, verdadeiros fragmentos de um tecido muito apertado que lembra, de um certo modo, rudimentos de “godets” microscópicos.

CULTURAS DO A. GYPSEUM

Aspécto macroscópico — As culturas em meio de Sabouraud maltosado, glicosado ou com mel, são de evolução rápida, alcançando, já no fim da primeira década ou no princípio da segunda, seu pleno desenvolvimento. As 4 cepas que obtivemos, se bem que idênticas no que se refere a seus caracteres maiores, podem no entanto, em vista de detalhes de maior monta, ser distribuídas em 2 grupos.

No *primeiro grupo*, que corresponde a dois dos nossos casos, a superfície da cultura é, em sua parte central, pulverulenta, côr café com leite ligeiramente fulva, plana mas não lisa, como que grosseiramente granulosa em consequência de numerosíssimas pequenas

saliências e depressões. A periferia das culturas desse 1º grupo é envolvida por uma franja muito alva, algodoada. (*Figura nº 29*).

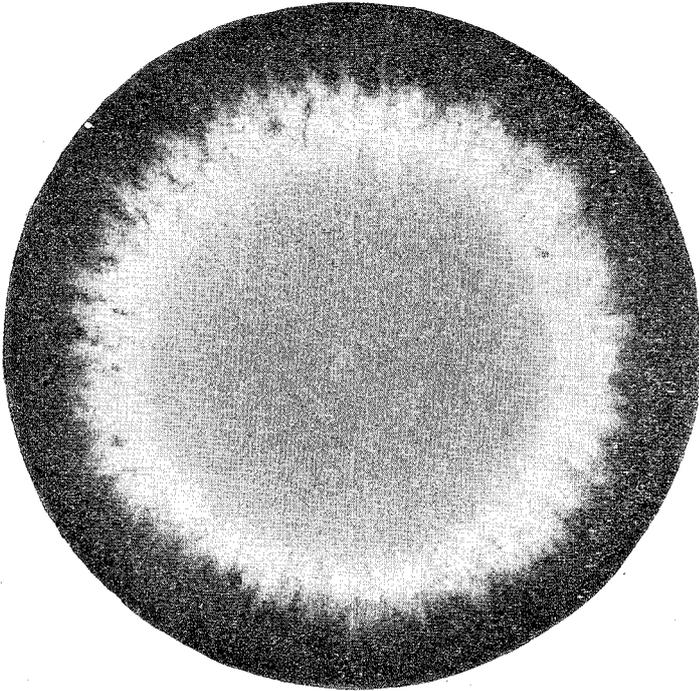


FIG. N.º 29

Cultura de *A. gypseum*, 11.º dia, sobre gelose maltosado.

No segundo grupo, que diz respeito aos 2 casos restantes, a superfície do disco de cultura (*figura nº 30*), se bem que semelhante às das culturas do 1º grupo, não é, contudo, grosseiramente granulosa mas atravessada por nervuras radiadas do centro para a periferia; a cor é café com leite tingida de um matiz castanho, a periferia não apresenta franja algodoada mas termina por curtas pontas lanceoladas; no centro do disco há conservação do botão branco penugento primitivo. Devido a essas diferenças, e sobretudo à falta, sobre a superfície das culturas, do sulco descrito por Sabouraud, enviamos uma cepa de cada grupo a Rivalier, então chefe de laboratório do próprio Sabouraud, que em resposta confirmou nosso diagnóstico de espécie.

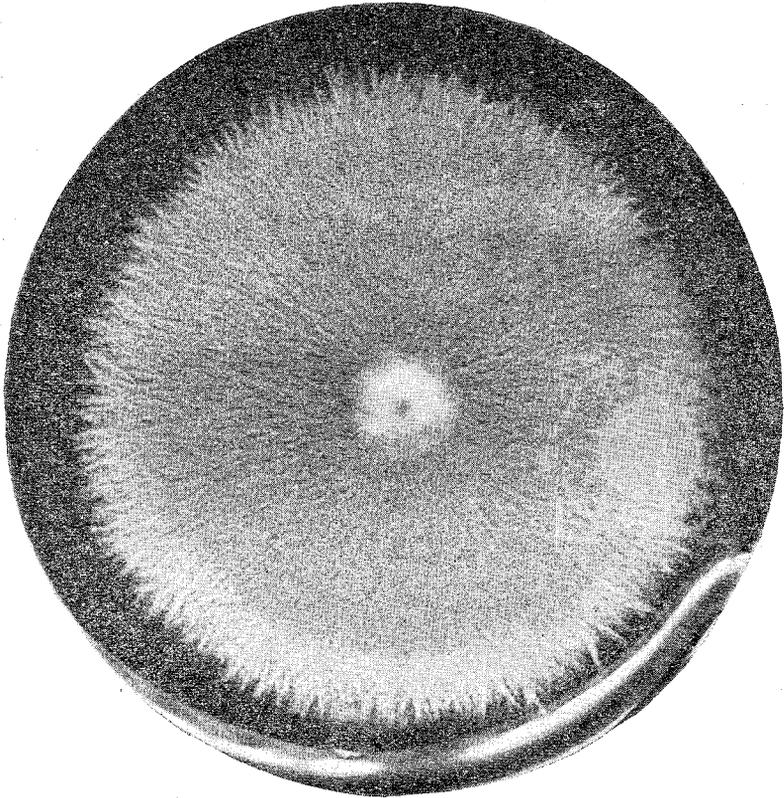


FIG. N.º 30

Cultura gigante de *A. gypseum*, 25.º dia em meio glicosado.

Pleomorfismo — As culturas do *A. gypseum* em meio de prova são sujeitas à degeneração pleomórfica sob o aspecto de penugem branca, lanosa, que aos poucos invade toda a superfície da cultura. Nos nossos casos, o pleomorfismo foi sempre relativamente tardio, não tendo sido observado em culturas de menos de 23 dias de idade.

Aspecto microscópico — O estudo botânico deste cogumelo em gota pendente e em cultura sobre lâmina faz ver o talo formado de hifas radiadas, muito numerosas, de diferentes calibres e esgalhadas, muitas delas cilíndricas, outras feitas de artículos em forma de raqueta, e um número extraordinariamente grande de fusos bi-acuminados, análogos aos dos Microsporons de origem animal, dispostos em cachos abundantes na extremidade de certas hifas (*figura n.º 31*).

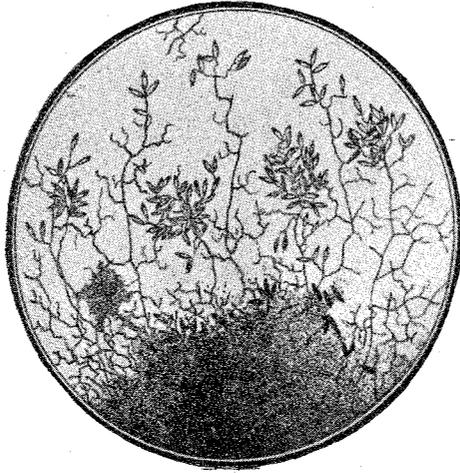


FIG. N.º 31

Ach. gypseum, cultura em gota pendente (desenho).

Desses fusos, os mais novos só têm uma câmara, mas a quasi totalidade está dividida em lojas, em número de 3 a 7 (*figura n.º 32*). São revestidos de membrana de duplo contorno cuja superfície externa frequentemente se erica de espículas.

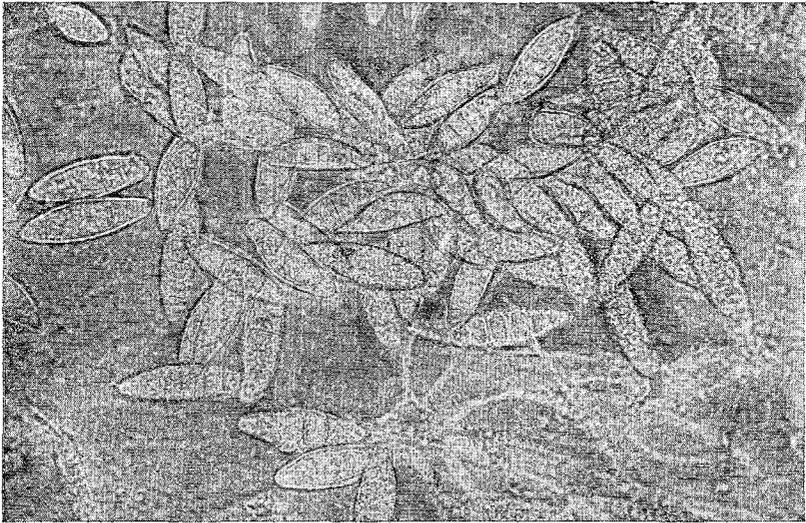


FIG. N.º 32

A. gypseum — Microfotografia de cultura sobre lâmina, mostrando em grande aumento detalhes dos fusos em naveta. Aumento: 280x.

Alem desses órgãos é de se notar ainda a presença de hifas esporíferas muito longas, que trazem de um lado e de outro esporos piriformes, na maioria sésseis, outros ligados ao filamento da hifa por intermédio de esterigmata (*figura nº 33*). Essas aleurias são extremamente caducas.

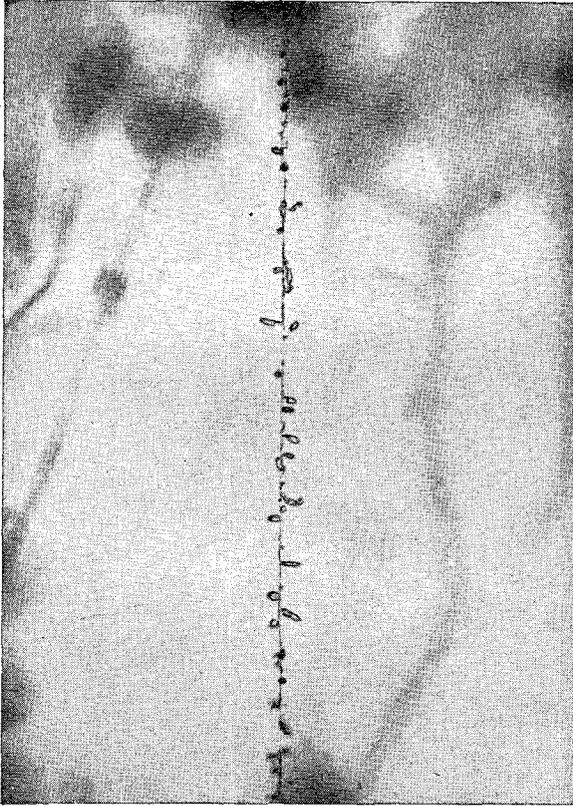


FIG. N.º 33

A. gypsum — Hifa esporífera. Microfotografia de cultura sobre lâmina. Aumento 500x.

Inoculação em cobáias — As inoculações resultam facilmente positivas com qualquer dos 2 métodos que empregamos: depois de ter raspado a nuca das cobáias, ou enxertamos minúsculos fragmentos de cultura em 3 furinhos equidistantes feitos com ponta de bisturí; ou friccionamos energeticamente com pedaços de cultura a zona tonsu-

rada, depois de tê-la traumatizado por meio de raspagem leve com papel de lixa 00.

As lesões positivas se mostram em seu pleno desenvolvimento no 10º a 12º dia, em que é de se ver a zona inoculada recoberta de crostas secas, espessas, rugosas, brancas cinzentas. Não pudemos verificar macroscopicamente a existência de "godets", se bem que, em corte histológico, provamos a presença microscópica deles.

O exame microscópico dos pelos englobados pelas crostas mostra que a maioria deles não é parasitada. Pesquisando, porem, pacientemente, sempre se encontram alguns pelos infestados pelo cogumelo.

O aspecto desse parasitismo é em geral o seguinte: em ponto correspondente à saída do folículo, o pelo apresenta-se envolvido por numerosíssimos filamentos micelianos muito longos, de espessura vária, septados de modo a delimitar artículos polimorfos. A maioria desses micélios é do tipo em rosário, mas formados de elementos desiguais em tamanho e forma; outros, menos numerosos e mais finos, são filamentos em fita. Formam, todos em conjunto, espesso emaranhado de elementos apertados uns contra os outros. No interior do pelo há também micélios mas em pequeníssimo número: são curtos, grossos, de espessura irregular, feitos de artículos quadrangulares e arredondados. Em alguns pontos há pequenos grupos de artículos poliédricos que lembram figuras de *tarsos fávicos*.

No corte histológico das lesões de inoculação, além de uma reação inflamatória apreciável no derma papilar, e da acentuada acantose da camada de Malpighi, é de se ver a presença de elementos especiais na camada córnea espessada. Nesta, em plena espessura de sua massa hiperqueratósica, há, em dois pontos separados, uma formação bem organizada, com aspecto de menisco, constituída por numerosíssimos elementos bastante polimorfos mas na grande maioria alongados e quadrangulares, muito apertados uns contra os outros, de modo a formar um tecido denso. Em alguns pontos pode-se distinguir que esses elementos retangulares se reúnem em cadêias de 3, 4 e mesmo 5 artículos. São na realidade filamentos que, em grande número e densamente entrecruzados, dão lugar à formação de aglomerado miceliano com aspecto de menisco, que nada mais é do que um "godet".

Pormenores sobre as questões que levanta este interessante cogumelo poderão ser encontrados no texto original do nosso trabalho já precedentemente citado.

ACHORION SCHOENLEINII

Ao contrário do *A. gypseum*, o *A. Schoenleinii* é o mais encontrado no mundo todo, e, por isso, também aqui entre nós. As 2 estatísticas paulistas (pg. 228) trazem em conjunto cerca de uma centena de casos. Alguns destes não são autóctones, tratando-se de estrangeiros que vieram do seu país de origem já atacados de favus. Entre as tinhas, é justamente o favus do couro cabeludo que nos fornece a prova da importação de certos cogumelos patogênicos em nosso meio humano, e isso porque, sendo o favus moléstia que não se cura espontaneamente por ocasião da puberdade, sua presença é fácil de ser verificada em estrangeiros adultos e mesmo velhos.

A mais, mesmo nos casos curados, fácil é o diagnóstico retrospectivo da moléstia, baseado nas sequelas cicatriciais absolutamente típicas que as lesões fávicas deixam gravadas sobre a superfície do couro cabeludo.

Encontramos não poucas vezes casos autóctones, em brasileiros natos, sobretudo em filhos de portugueses, sírios e espanhóis, verificando ao mesmo tempo ser a origem do contágio representada por um parente adulto (pai, mãe ou tio) que para aqui imigrara com a doença.

Sob o ponto de vista sanitário, o favus deve ocupar um lugar à parte entre as tinhas, pois que ele requer, para sua profilaxia, uma atenção vigilante não só sobre a população infantil mas também sobre os adultos de qualquer idade, dada a sua notável duração, que pode se prolongar pela vida toda. Disso igualmente decorre a necessidade de uma vigilância sanitária mais severa nas nossas fronteiras marítimas e terrestres.

FAVUS DO COURO CABELUDO

Vamos esboçar aqui somente o quadro clínico da forma comum, não nos ocupando das raras (favus pitiríide, impetigoide, papiríide), que também têm sido excepcionalmente observadas entre nós. Lembramo-nos mesmo de ter visto há muitos anos, quando ainda não nos ocupávamos sistematicamente do assunto, um ou dois casos de favus pitiríide, cuja observação não foi então anotada.

No couro cabeludo, a forma comum pode apresentar as seguintes lesões, que frequentemente se acham de mistura no mesmo doente:

Áreas maiores ou menores da região mostram-se recobertas de um amontoado de crostas espessas, salientes, irregularmente arredondadas, leves, secas, friáveis, de aspécto rochoso e de côr branca amarelada, amarela acinzentada, amarela enxofre. Essas crostas, que resultam da fusão de numerosos "godets", são, ou facilmente destacáveis, ou então, o que é menos frequente, aderentes a ponto de, em sendo tiradas, deixarem a descoberto o derma úmido e brilhante ou mesmo erosado e sangrante. "Godets" isolados, das dimensões de cabeça de alfinete às de lentilha, e de côr amarela enxofre típica, podem ser vistos, às vezes, em pequeno número nas proximidades das massas crostosas. Destas saem felpas de cabelos longos mas profundamente alterados, sobretudo em sua côr, que adquiriu um matiz acinzentado e perdeu o brilho normal. Todo o conjunto da lesão exala um cheiro enjoativo que lembra, conforme a comparação clássica, o de ninhada de camondongos.

De mistura com os amontoados de crostas, ou sob forma de placas maiores, circundadas por maior ou menor quantidade de massas crostosas, vê-se nos casos mais antigos, zonas de alopecia cicatricial resultantes da agminação de numerosas pequenas cicatrizes irregularmente redondas, deprimidas, de côr rósea brilhante ou branca porcelânica. Nessa áreas quasi que totalmente desnudadas, os poucos cabelos conservados agrupam-se em feixes, em pinceis separados, que correspondem a pequenas ilhotas de couro cabeludo normal.

Em alguns casos, menor é o número de massas crostosas salientes, sua presença é bem mais discreta; as zonas doentes do couro cabeludo trazem de preferência amontoados de escamas secas, amarelas acinzentadas e facilmente destacáveis, com um ou outro pequeno "godet" isolado.

FAVUS DA PELE GLABRA

O favus primitivo da pele glabra é extremamente raro. Não tivemos oportunidade de vê-lo. Nossos casos referem-se a lesões da pele glabra que acompanham o favus do couro cabeludo. Na maioria dos casos essas lesões localizam-se nas proximidades do couro cabeludo, assentando-se na nuca, terço superior da fronte, pavilhão da orelha, certo pontos do rosto. Tomam em geral o aspécto de placas eritêmato-pitiriásicas, cujas bordas não bem definidas vão-se esmaecendo e confundindo imperceptivelmente com a pele sã circunstante.

As escamas que polvilham a área irregular da lesão têm cor cinzenta amarelada e se deixam destacar com facilidade. Não é raro surpreender no meio delas a presença de um, dois ou mais "godets". Estes têm em geral as dimensões de cabeça de alfinete e cor amarela enxofre, e são como que encastoados na pele, bastante aderentes; destacados, deixam em seu lugar uma erosão, quasi uma ulceração superficial, pequeníssima e redonda.

Alem de casos com o quadro acima descrito, outros tivemos em que as lesões eritêmato-escamosas diferem por ser bem delimitadas, de forma circinada e aspecto verdadeiramente tricofitóide. No mais elas são idênticas às outras.

Exame microscópico do cabelo fávico — Posto entre lâmina e lamínula, com uma gota de solução de potassa a 30% e ligeiramente aquecido, o cabelo invadido pelo *A. Schoenleinii* mostra um aspecto tão inconfundível que o diagnóstico de espécie pode ser feito ao microscópio. O cabelo apresenta-se logo à primeira vista com a superfície semeada de pequenas bolhas de ar; estas vão desaparecendo pouco a pouco à medida que aumenta o intervalo de tempo entre a observação e o momento em que foi preparada a lâmina, razão pela qual é aconselhavel observá-la logo nos primeiros minutos. Um aquecimento prolongado ou excessivo também prejudica a formação de bolhas.

Dentro, o cabelo traz filamentos micelianos em pequeno número, paralelos ao seu grande eixo. Característico desses filamentos é serem de espessura diferente em um mesmo cabelo e bastante variados de forma. Descem pelo interior do cabelo, seguindo um andamento flexuoso e dicotomisando-se; às vezes, porém, sua ramificação é mais complicada e dá então origem a formações especiais, constituídas de artículos cúbicos agrupados, criando um aspecto que lembra o dos ossos do tarso, sendo por isso chamado de *tarso fávico*.

Em sua parte radicular, mais propriamente no ponto que corresponde ao infundíbulo do folículo, o cabelo fávico pode apresentar exteriormente à epidérmica, filamentos entrecruzados que são ou fragmentos de "godets" peripilares, ou rudimentos dos mesmos.

CULTURAS DE *A. SCHOENLEINII*

Aspecto microscópico — A cultura não é muito difícil de se obter; contudo, se a parte do cabelo a semear não for bem escolhida ou se o material não for recente, numerosas sementeiras permanecem estéreis ou dão crescimento a contaminações banais. Nos meios

de prova habituais, que são os que costumamos usar, o desenvolvimento das colônias é muito lento, mas desde o início bastante característico. Começa como gota de cera, glabra, parda, um pouco úmida.

Cresce muito lentamente e na medida que se desenvolve e se eleva, torna-se rugosa, irregular, bosselada, anfratuosa, tomando pouco a pouco o aspécto de esponja. Penetra em geral no meio de cultura, podendo, quando alcança dimensões excessivas, rompê-lo em alguns pontos, como é de se ver na *figura n.º 34*, que representa uma colônia gigante em balão de Erlenmeyer. Com o tempo, sobre algumas das culturas de *A. Schoenleinii* aparecem pequenas ilhotas puntiformes de curta penugem branca, ou então a cultura envelhecida se circunda de um polvilhado branco.

Aspécto microscópico — Em culturas sobre lâmina, segundo o método de Rivalier e Seydel, o *A. Schoenleinii* desenvolve um disco plano que no fim da 3.^a semana alcança o diâmetro de cerca de 12 milímetros. Visto ao microscópio, esse disco apresenta, na sua parte central, um tecido miceliano cerrado no qual é quasi im-

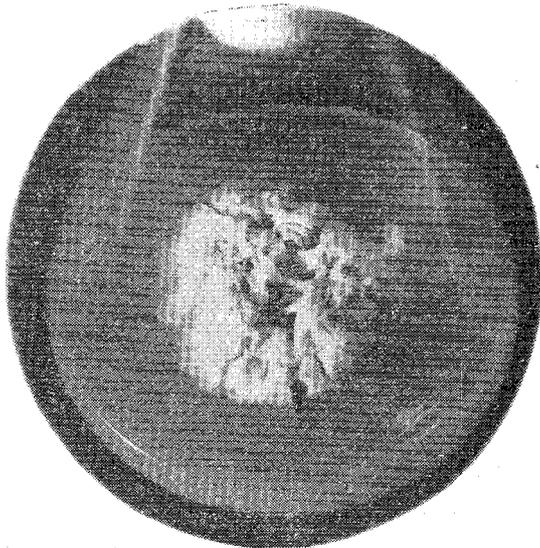


FIG. N.º 34

Cultura de *A. Schoenleinii* em balão de Erlenmeyer.

possível observar detalhes. Daí partem filamentos longos que se irradiam para a periferia da cultura dando origem, ao longo do percurso, a ramos que deles saem obliquamente, dirigindo-se também de

dentro para fora. Na periferia, as últimas ramificações são feitas ou de filamentos finos, isto é, de espessura igual aos dos que derivam ou então essas ramificações terminais são mais largas, algum tanto irregulares e dispostas de modo a formar figuras de candelabros, de chifres de rena, de digitações. Nos galhos terminais é de se ver aqui e acolá a chamada "cabeça de prego", pequena ramificação curta terminada por um elemento celular esferóide. Alguns dos ramos micelianos têm forma arqueada e emitem lateralmente curtas ramificações, mais ou menos paralelas umas às outras, tomando em conjunto o aspecto de pente.

V — AS TINHAS NOS AGRUPAMENTOS HUMANOS

(*Família, escola, asilo*)

Sendo as tinhas moléstias de acentuada transmissibilidade e de notavel cronicidade, é facil prever o papel que, para o seu alastramento, representa a vida em conjunto em suas diversas modalidades. Não obstante achar-se nosso estudo em fase que não permite mais do que uma visão imperfeita da realidade, contudo são já tão abundantes os dados que possuímos, e sobretudo exatos, que nos permitem esboçar as linhas gerais dessa questão.

a) *As tinhas nas famílias — Transmissão por meio de animais domésticos* — Toda a vez que numa família há uma criança com tinha de couro cabeludo, e mesmo só da pele glabra, há necessidade de investigar sobre a existência de lesões análogas em pessoas que com ela vivem em contacto.

Em se tratando de *Favus* essa indagação deve ser feita sobre todos os elementos da família sem restrição de idade. Em casos de *Microsporia* ou de *Tricoficia*, para as lesões do couro cabeludo, a investigação pode limitar-se às crianças e aos pre-púberes, pois que, como vimos, as tonsurantes microspórica e tricofítica do couro cabeludo saram expontaneamente na puberdade. Única ressalva a esta regra diz respeito a poucos casos devidos ao *Tr. violaceum*, cujas lesões do couro cabeludo podem, por exceção, persistir no adulto.

Nas nossas investigações procuramos sempre nos ater a essa orientação. Não obstante, devemos dizer de antemão que nem sempre é possível proceder a esse inquérito, razão por que o número real de famílias com mais de um caso de tinha deve ser considerado superior ao que vamos referir, e que foi por nós encontrado. Em

outras palavras, reputamos as pequenas epidemias familiares mais frequentes do que se pode deduzir dos dados que colhemos.

Do nosso material pudemos até agora separar 30 famílias em que há mais de um caso de tinha. Grupando os casos segundo o gênero do cogumelo responsavel, verificamos a seguinte distribuição:

<i>Microsporum felineum</i>	17 famílias
<i>Trichophyton violaceum</i>	8 "
<i>Trichophyton acuminatum</i>	3 "
<i>Trichophyton granulosum</i>	1 família
<i>Achorion Schoenleinii</i>	1 "
<hr/>	
Total	30 famílias

Somando os casos de tinha dessas 30 famílias, vimos que eles perfazem o número não desprezível de 84, assim distribuidos:

Famílias com 2 casos	16 = 32 casos
" " 3 "	7 = 21 "
" " 4 "	5 = 20 "
" " 5 "	1 = 5 "
" " 6 "	1 = 6 "
<hr/>	
Total	84 casos

Em se tratando de *tinhas do couro cabeludo*, as fontes de contágio, dentro da família, para as *Tricofícias* e *Microsporias*, são representadas pelos irmãos e, com menor incidência, pelos primos que frequentam o mesmo ambiente familiar; para o *Favus*, além desse contágio entre irmãos e entre primos, há a considerar, e ainda hoje nos parece dos menos raros, o de pais para filhos e o de tios para sobrinhos.

Não obstante consignarmos, em um dos quadros acima, uma única família com favus, justo é dizermos que não se limita aí nosso conhecimento do assunto. Sabemos de numerosos casos de outros pesquisadores e lembramos ter visto nós mesmo alguns outros, quando não nos ocupavamos sistematicamente desta questão. Nesse contágio fávico de pais para filhos, de tios para sobrinhos, os contagiantes — pais e tios — eram em geral estrangeiros que aqui aportaram já doentes, aqui constituíram família ou se agregaram à de outros parentes e a ela transmitiram a moléstia.

Nas tinhas da *pele glabra*, no que diz respeito à *Microsporia* e à *Tricoficia*, além do contágio entre irmãos e entre primos, verifica-se, não raramente, o de filhos para pais, de sobrinhos para tios, de netos para avós. Seria desnecessário acrescentar que, nesses adultos contagiados por crianças, as lesões limitam-se unicamente à pele glabra, sendo o couro cabeludo sempre poupado, sem exceção.

Não nos referimos às lesões análogas do *Favus*, porque, como é sabido, o favus primitivo da pele glabra é lesão de extrema raridade.

Contágio das famílias por meio de animais domésticos — Deixamos por último, mas não por ser menos importante, as necessárias referências ao papel que representam os animais domésticos na determinação de casos humanos, e mais particularmente na eclosão de pequenas epidemias familiares. É fato constatado que muitos dos cogumelos das tinhas humanas são de origem animal. Entre os *Trichophytos*: os *Microides*, os *Ectothrices* e os *Megasporons* têm origem equina, bovina e mais raramente canina; e mesmo um *Endothrix* como o *Tr. cerebriforme* é um dermatofito cuja origem animal deve ser considerada no mínimo suspeita. Já nos referimos, em outra parte deste trabalho, à origem animal dos *Microides*, o que explicaria, segundo nós, o fato de termos encontrado poucos casos dessa espécie na população realmente urbana da cidade, enquanto outro pesquisador (20), que trabalhou com material de procedência mista — urbana e rural — teve oportunidade de observar casos em maior número. Mesmo nossos casos confirmam essa suposição, pois que, dos 3 que observamos, um morava na periferia da cidade em lugar em que certamente não faltavam animais, e os outros dois, se bem que aqui residentes, provinham do interior do Estado, tendo certamente contraído a moléstia em zona rural. Na anamnese de ambos encontramos a afirmação de que no ambiente em que viviam, havia cavalos e bois com os quais frequentemente lidavam.

Mas, ao falar do papel que representam os animais domésticos na difusão das *Dermatomicoses*, em se tratando de população genuinamente urbana, são as *Microsporias* que devemos sobretudo lembrar aqui entre nós, pois que nossas tonsurantes de pequenos esporos são determinadas em sua quasi totalidade por um *Microsporon* de origem incontestavelmente animal, da espécie *felineum-lano-*

(20) Martins de Castro, Abílio — Op. cit.

sum, que parasita o gato e o cão, animais caseiros que vivem em estreita promiscuidade com as crianças, e pode excepcionalmente parasitar também o boi, o cavalo e possivelmente mesmo o porco. Nem sempre é possível, diante de um primeiro caso de Microsporia, em criança que não tenha tido contacto com outra criança doente, remontar à fonte animal do contágio, porque as famílias são em geral avessas a levar o bichano ou o cãozinho suspeitos ao médico, devido às dificuldades de transporte ou mesmo a desleixo.

Contudo, quando nos é dado poder realizar esses exames, frequentemente constatamos uma tinha do animal, às vezes clinicamente tão discreta que o animal aparece à primeira vista indene.

Em nosso material, encontramos fichados 5 animais domésticos — 3 gatos e 2 cães — cada um deles responsável pela contaminação de 1 a 4 pessoas, ao todo de 12 pessoas. Alguns desses animais mostravam lesões manifestas de tinha, como pequenas áreas alopécicas e descamantes ou então, pelos aglutinados em pequenas crostas amarelas pardacentas, enfim, lesões capazes de ser percebidas por leigos. Outros, porém, apresentavam o pelo aparentemente normal em que só um exame cuidadoso, e às vezes mesmo repetido, permitia surpreender alterações insignificantes e discretas. Podemos, a esse respeito, citar dois dos gatos, causadores de 2 pequenas epidemias familiares, compreendendo uma 4 e outra 3 crianças. Esses animais foram em um primeiro exame considerados, por nós mesmo, como indenes. Contudo, não havendo sido encontrado, na família e na vizinhança, caso humano capaz de explicar a origem do contágio, e refletindo que o aparecimento dos casos, em cada família, tinha sido cronologicamente quasi contemporâneo, com o tipo de uma eclosão epidêmica, suspeitamos de novo do animal que, por viver em íntima promiscuidade com as crianças, às quais servia de brinquedo, era quem mais facilmente explicaria a razão das epidemias. Fez-se, pois, 24 horas depois do primeiro, um segundo exame, mais detido e minucioso.

Este nos revelou, em um dos gatos, uma estria muito leve, como que feita por ponta de pena de escrever, que tivesse riscado a face posterior da cauda do animal em direção paralela ao seu eixo. Examinada com a lente, essa estria resultava de agminação em sentido linear dos pelos, devido à presença de um discreto exsudato dessecado em crostinhas de côr amarela creme.

No outro gato, o exame ainda mais trabalhoso, conseguiu pôr em evidência a presença de 2 lesões escamosas e incompletamente

glabras, de diâmetro não maior de que a cabeça de pequeno alfinete, lesões essas absolutamente escondidas entre os pelos normais da base do pavilhão de uma das orelhas. Tanto de um como do outro animal, colhemos material das lesões, sobretudo pelos, tendo verificado ao microscópio a infestação destes por um cogumelo do tipo dos *Microsporons*, cuja espécie foi precisada pelas culturas como sendo a *felineum-lanosum*.

Creemos que fica assim evidenciada a necessidade da procura de animais suspeitos toda vez que se trate de *Microsporias* cuja fonte humana e imediata de contágio não possa ser encontrada.

Por último queremos lembrar, ainda baseados em nosso material de pesquisa, a possibilidade, se bem que extremamente excepcional, de contaminação espontânea de indivíduos humanos pelo *Achorion gallinae*.

Conseguimos observar um herpes circinado em uma menina que costumava brincar com galinhas, afagando-as e aconchegando-as ao rosto. A cultura que obtivemos e as demais provas, — estudo botânico, inoculação, etc. — demonstraram tratar-se de lesão provocada pelo *A. gallinae*. Não insistimos aqui neste caso porque será motivo de trabalho que publicaremos mais tarde.

b) *As tinhas nas escolas* — Os dados que possuímos a respeito da infestação das escolas são ainda excassos, o mesmo não se dando quanto aos asilos de crianças. Deve-se isso ao fato de termos iniciado nosso trabalho sistemático com a visita aos asilos, o que nos forneceu, como se verá mais adiante, abundante material de estudo. As crianças das escolas não foram ainda examinadas por nós da maneira metódica como procedemos no exame das dos asilos. Não obstante, na qualidade de dermatologista, fomos procurados não poucas vezes por crianças de idade escolar, portadoras de tinha do couro cabeludo ou da pele glabra, que frequentavam ainda as escolas ou delas haviam sido afastadas há pouco tempo.

Já nos referimos repetidas vezes ao acentuado poder de alastramento que caracteriza as tinhas e dele teremos prova de evidência meridiana daqui a pouco, ao expormos a situação dessa moléstia nos asilos.

Focalizamos com igual insistência a preferência notável e quasi exclusiva que têm as *Microsporias* e *Tricoficias* para o couro cabeludo das crianças. Em um capítulo anterior, que trata da frequência das tinhas segundo a idade, cremos ter demonstrado que é justamente no limite entre o fim da idade pre-escolar e o início da escolar que o ritmo de frequência se acelera alcançando a percenta-

gem máxima de casos precisamente entre as crianças de 7 a 8 anos de idade. Esse aceleramento quasi que abrupto da incidência encontra sua explicação nas novas condições de vida da criança. Esta sai da vida em família, em que os contactos e a exposição a influências mórbidas são limitados, e penetra na vida social, sua sociedade sendo representada preponderantemente pela vida em conjunto nas escolas. Os contactos então se multiplicam e aumentam as possibilidades de contágio, favorecido no mais alto grau pela promiscuidade nos jogos, pelas lutas corporais, pela troca de gorros, enfim, pela maneira toda ela muito particular e íntima de viver das crianças. Tendo em consideração essas condições de vida e a grande receptividade da pele das crianças em relação aos cogumelos das tinhas, facil é imaginar o perigo que representa a existência, mesmo de um só caso dessa moléstia, em ambiente escolar. Ora, não obstante não termos ainda penetrado nas escolas para a procura metódica de casos, podemos referir uma série deles que nos foram trazidos pela iniciativa espontânea dos pais.

Damos a seguir a lista desses casos de tinha em escolares, referindo a escola a que pertenciam no momento do exame ou à que pertenceram até pouco tempo atrás, e especificando o cogumelo responsável pela moléstia:

Colégio particular da Al. Franca	1 caso	— <i>Microsporon lanosum</i>
Escola mixta S. José - da R. Mochei . .	1 "	— <i>Microsporon felineum</i>
Esc. part. - R. Miranda Azevedo	1 "	— <i>Microsporon felineum</i>
Esc. lituana D. L. K. V. Mokilka, rua das Saudades	1 "	— <i>Trichophyton violaceum</i>
Grupo Escolar Orestes Guimarães . . .	4 casos	— <i>Microsporon felineum</i>
Grupo Escolar Godofredo Furtado	4 "	2 de <i>Mier. felineum</i> 1 de <i>Tr. acuminatum</i> 1 de <i>Tricoficia</i> sem cultura
G. E. Vila Matilde ou V. Esperança . .	2 "	— <i>Trichophyton glabrum</i>
G. E. Sto. Antonio do Parí	1 caso	— <i>Microsporon felineum</i>
C. E. Rodrigues Alves	1 "	— <i>Microsporon felineum</i>
G. E. Pereira Barreto	1 "	— <i>Microsporon felineum</i>
G. E. Guilherme Kuhlmann	1 "	— <i>Microsporon felineum</i>
G. E. Amadeu Amaral	2 casos	1 de <i>Tr. asteroides</i> 1 de <i>Tr. violaceum</i>
G. E. Fernão Dias	1 caso	— <i>Trichophyton violaceum</i>
G. E. Prudente de Moraes	1 "	— <i>Microsporon felineum</i>
G. E. Romeu Moraes	1 "	— <i>Trichophyton violaceum</i>
G. E. Vila Olímpia	1 "	— <i>Trichophyton violaceum</i>
G. E. Aristides de Castro	2 casos	1 de <i>Tr. violaceum</i> 1 de <i>A. Schoenleinii</i>

G. E. Eduardo Carlos Pereira	2 "	1 de <i>Trich. violaceum</i> 1 de <i>A. Schoenleinii</i>
G. E. Indianopolis	1 caso	— <i>Achorion Schoenleinii</i>
G. E. Butantan	1 "	— <i>Achorion Schoenleinii</i>
G. E. Romão Puigari	1 "	— <i>Achorion Schoenleinii</i>
G. E. Júlio Ribeiro	1 "	— <i>Achorion Schoenleinii</i>
Externato Coração de Jesus - Ipiranga	1 "	— <i>Trich. faviforme album</i>

Como se vê, vieram expontaneamente à nossa Consulta 14 casos de *Microsporia*, 13 de *Tricoficia* e 6 de *Favus*, ao todo 33 casos, provindos de 23 escolas diversas. Cifra aparentemente insignificante se considerarmos que há 120.000 crianças inscritas nas escolas desta Capital, mas na realidade índice digno de ser tomado como sinal de alarme para pormos mão às necessárias medidas, se refletirmos que, para alguns desses escolares, o início da moléstia remonta a meses e até anos atrás, tendo as crianças, já doentes, frequentado o ambiente escolar durante longo tempo, mais do que suficiente para a contaminação de outras. Para exemplificar, podemos citar, dentre as crianças com *Favus*, uma delas, que se contaminára há muitos anos, na cidade de Socorro, em Minas Gerais, era, no momento do exame, repetente do 1.º ano de um grupo desta Capital; em um segundo caso de *Favus*, o pequeno paciente trazia a moléstia já há 7 anos e estava cursando a mesma escola há 3 anos; em um terceiro caso, também de *Favus* do couro cabeludo, a doença remontava há 5 ou 6 anos atrás, estando o doente na escola há 2 anos.

Dentre as crianças com *Tricoficia*, podemos lembrar aqui 3 com tonsurante tricofítica causada pelo *T. violaceum*: uma delas que se contaminara há cerca de 6 anos em Pirajú, cursava o 2.º ano de um nosso grupo escolar; outra, que nós mesmo tínhamos examinado em 1936, quando a criança estava com 5 anos de idade, viemos encontrá-la agora, ainda doente, como repetente do 2.º ano de outra escola; e uma terceira, que adquirira a dermatomicose um ano antes na Casa da Infância, veio-nos à consulta como aluna do 1.º ano, frequentando as aulas com regularidade. Esses casos, pois, não devem ser os únicos existentes nas escolas mas simplesmente os de maior evidência clínica, o que forçou os pais ou os responsáveis pela saúde da criança, à consulta de médico especializado. É justo supor-se que na atmosfera destes casos outros existam, muitos com sintomatologia frusta, feita de lesões tão insignificantes que passem despercebidas ao doente, e podem constituir para o próprio médico, com elas não suficientemente familiarizado, motivo de incerteza e de dificuldade diagnóstica; pois que é preciso lembrar que o conhecimento das tinhas representa, a seu modo, quasi uma especialida-

de dentro da especialidade, por exigir do dermatologista uma larga experiência da biologia dos fungos e a prática necessária de laboratório para o seu estudo. É o conhecimento dos hábitos desses cogumelos que nos impõe a certeza de que, deixada a si, a endemia das tinhas irá silenciosa mas seguramente ganhando terreno, transformando-se de questão de solução trabalhosa em espinhoso problema.

c) *As tinhas nos asilos de crianças* — Uma antevisão desse problema desde já nos oferece, “mutatis mutandi”, o estudo dessa mesma questão nos asilos infantís. Nestes, especialmente em alguns, os casos de tinha são tão numerosos á ponto de podermos considerar esta moléstia, dentre as demais que atacam as crianças asiladas, de muito a mais frequente.

O quadro que segue apresenta-nos o resultado das primeiras pesquisas nesse terreno. Damo-lo com a ressalva de que o número real de casos está sempre acima das cifras que constam desse quadro e nunca abaixo. (*)

Asilos da crianças	Espécies encontradas					Número de casos por asilo
	<i>Tr. violaceum</i>	<i>Tr. acuminatum</i>	<i>Tr. cerebriforme</i>	<i>M. felineum</i>	<i>A. Schoenleinii</i>	
Casa da Infância . Educandário D. Duarte	87	1	—	2	1	91
Abrigo de Menores	55	—	5	—	2	62
Abrigo Sta. Maria	1	6	—	30	—	37
Asilo Div. Providência em Pinheiros	15	—	—	—	—	15
Asilo Div. Providência Moóca ...	2	13	—	—	—	15
Orf. C. Colombo (Sec. femin.) ...	—	5	—	—	—	5
Asilo Sta. Terezinha	2	7	—	—	—	9
Asilo Bom Pastor .	—	3	—	—	—	3
	2	—	—	—	—	2
Número de casos, por espécie	164	35	5	32	3	
TOTAL DE CASOS						239

(*) NOTA: Aos casos deste quadro podemos acrescentar mais 11 que se apresentaram á consulta, quando este nosso trabalho já se achava em curso de impressão. São crianças do Abrigo de Menores e que lá se contaminaram recentemente. Fica assim elevado a 48 o numero de casos desse Abrigo, e a 250 o total de casos observados até agora nos Asilos.

Por se tratar de asilos, o observador apressado seria levado a crer que tão alto grau de infestação estaria sob a dependência de uma possível ausência de cuidados higiênicos, o que na realidade não se dá. Os dois asilos mais atacados são, como se vê, a Casa da Infância que tem para mais de 45% de casos de tinha entre as crianças ali asiladas, e o Educandário D. Duarte com pouco mais de 13%. Contudo são estes dois asilos, sobretudo o segundo, modelos quanto às atenções de toda ordem de que são cercadas as crianças. Verificamos aí, com verdadeiro prazer, o elevado nível que alcançou, entre nós, a assistência a menores mais ou menos abandonados, uma assistência ativa e vigilante mas também carinhosa e compreensiva. Não obstante isso, em um tal ambiente, não há como vencer a endemia de tinha com os meios de tratamento de que dispõem e que aplicam sem esmorecimento. O tratamento externo, mediante substâncias químicas, não leva sempre de vencida uma dermatomicose como a tricofícia do couro cabeludo, especialmente quando determinada por um endotrix tão tenaz como o *Trichophyton violaceum*.

Tivemos a impressão de que uma luta assim sem resultado criará, aos poucos, uma mentalidade fatalista no que diz respeito à existência das tinhas nos asilos, levando ao abandono de toda medida de combate e à aceitação passiva de tão lastimável situação.

VI CONSIDERAÇÕES FINAIS

De tudo quanto se referiu deduz-se, sem a menor dúvida, a gravidade a que vai atingindo a questão das tinhas entre nós. Sobre ser moléstia considerada universalmente índice de atraso e de baixo nível de civilização, é das que necessitam cultura médica especializada e prolongada vigilância sanitária. Aquela, porque a maioria dos casos é de diagnóstico difícil mesmo para o médico, desde que não afeito ao estudo das dermatomicoses; e esta, devido ao tipo de difusão da moléstia, de contágio seguro mas insidioso e quase inaparente, e por isso mesmo traiçoeiro. É esse modo de contágio, em que a endemo-epidemia ganha terreno "em mancha de óleo" que explica os fatos que acabamos de referir: os asilos de crianças invadidos uns após os outros, alcançando a moléstia, em alguns deles, percentagens alarmantes; escolas, grupos escolares, famílias e até os parques infantís expostos e atingidos por um contágio que será no futuro cada vez mais frequente.

Não queremos ser mal compreendidos e por isso afirmamos com sinceridade que não encontramos a quem culpar por este estado de coisas, visto como a questão das tinhas é por nós considerada problema novo no panorama sanitário de S. Paulo. Mas, como tal, merece medidas urgentes capazes de refrear esse surto tão lastimável. Não se pode continuar a permitir que nos asilos os casos antigos dêem origem a novos casos, as medidas de tratamento não indo além de fricções mais ou menos anódinas e as medidas de profilaxia sendo na maioria quasi que inexistentes.

No que diz respeito aos casos das escolas, a situação do médico é atualmente das mais embaraçosas. Desde que o caso seja descoberto — e certamente nem todos o são — não pode deixá-lo na classe em contacto com os condiscípulos; vê-se obrigado a notificá-lo e a criança é proibida de cursar. Esta medida, quando obedecida, só teria como resultado tornar o menor analfabeto, mas não impediria o alastramento da moléstia. Esta passaria de preferência aos irmãos, aos primos, às crianças dos vizinhos, isto é, aos companheiros de folgedos do pequeno doente, que maior tempo teria para a eles se dedicar. Na realidade, porem, a proibição de frequentar a escola é pouco obedecida. As famílias procuram defender-se e tentam matricular a criança em outro grupo, até conseguir esse intento, por um cochilo da vigilância ou pelo natural desconhecimento da moléstia.

E, se a criança fica da fato isolada em casa, sob o tratamento precário das fricções e à espera de cura expontânea na puberdade, é de se imaginar que ela cresça tristonha, quasi sempre analfabeta e presa certa de um complexo de inferioridade que lhe amargará o futuro.

Ora, as tinhas são moléstias curáveis e o problema que lhes diz respeito tem sido já estudado e resolvido com eficiência em outros paises. Encontramos diante de nós, para resolvê-lo, uma senda luminosamente traçada. Adaptadas às condições do nosso ambiente, essas medidas se enfeixariam em um só organismo que seria ao mesmo tempo *centro de estudo e órgão de ação contra as tinhas*.

Aparelhado de um laboratório de micologia e de uma consulta externa, esse centro estaria em condições de dar aos médicos, que dele necessitassem, um minucioso conhecimento da clínica das tinhas, o que facilitaria sobremodo a vigilância especializada de todos os agrupamentos infantís. A ele caberiam tambem os exames micológicos e culturais necessários à eludicação dos casos suspeitos.

Junto desse centro, e sob sua imediata direção, estaria o órgão de combate, destinado ao censo e ao tratamento dos casos existentes. A este competiria a aplicação do melhor meio de ação que, a nosso ver, não deve, nas atuais condições, ser exclusivo. Queremos com isso dizer, sem entrar em pormenores que não cabem nos moldes deste trabalho, que, com muita prudência e bom senso, devemos recorrer a diversos modos de tratamento, sobretudo à depilação pela radioterapia e pelo acetato de tálio, em suas exatas e específicas indicações. Estamos bem ao par dos perigos que envolve a aplicação destes dois sistemas de tratamento, e é por isso mesmo que a queremos feita em um ambiente estritamente especializado para esse fim, de maneira a ser máxima a segurança e mínimos os riscos.

Como medida complementar, mas não menos necessária, da luta contra as tinhas, alvitramos igualmente a criação de um atestado da não existência de moléstia contagiosa do couro cabeludo, expedido por médico idôneo, documento esse que seria exigido obrigatoriamente ao admitir-se uma criança em qualquer coletividade infantil (escolas, asilos, orfanatos, "play-grounds", etc.).

O centro de estudo e combate às tinhas, a que acima nos referimos, e os médicos que nele tivessem feito estágio, seriam os naturalmente indicados para expedir esses atestados que, digamos de passagem, não podem ser substituídos pelos que atualmente são exigidos — e não de maneira geral — e que dizem respeito a moléstias infécto-contagiosas.

E assim é, porque, lembramos mais uma vez, as manifestações clínicas das tonsurantes microspórica e tricofítica são muito frequentemente de diagnóstico difícil para o médico mesmo culto mas não particularmente exercitado para reconhecê-las.

Ao finalizarmos este trabalho, em que esboçamos em largos traços a questão das tinhas entre nós, em seu tríplice aspecto: clínico, micológico e sanitário, parece-nos desnecessário reforçar com mais palavras a evidência dos fatos e dos números que aí vão citados.

Contudo, numa justa homenagem a Sabouraud, que nos serviu de guia e exemplo, queremos lembrar que, em circunstâncias semelhantes, mais enérgico ainda foi o seu apelo, mostrando "*a extrema urgência de tomar medidas sérias*" (21) contra a invasão das ti-

(21) Sabouraud, R. — 1895 — Diagnostic et traitement de la pelade et des teignes de l'enfant — Paris.

nhas. E na Paris desse tempo o número de casos em proporção com o número de habitantes, não era maior do que é atualmente em S. Paulo.

RESUMO

O A. refere neste trabalho os primeiros resultados colhidos num inquérito que está realizando sobre as tinhas na cidade de S. Paulo. A influência que a pesquisa metódica exerce sobre o conhecimento do problema pode ser avaliada, já à primeira vista, pela constatação do seguinte fato: o número de casos de tinha, observados durante 6 anos ao acaso da frequência de um ambulatório, foi elevado ao dobro em somente 4 meses de procura sistemática, os primeiros do inquérito em andamento.

Os 442 casos verificados (437 humanos e 5 em animais) foram estudados minuciosamente sob os pontos de vista epidemiológico, clínico e micológico.

Vão a seguir, em resumo, as constatações do A. a respeito dos diferentes pontos da questão das tinhas:

1) *Distribuição dos casos segundo a idade* — A incidência das tinhas do couro cabeludo marca seu ritmo de maior frequência a partir do fim da idade pre-escolar mantendo-se bem alta a percentagem dos casos durante boa parte da chamada idade escolar. Com a aproximação e o início da puberdade há uma abrupta diminuição desse ritmo de frequência que vai sendo, cada vez mais, representado por menores percentagens. A frequência de casos por quinquênios, que de 0 a 5 anos é de 21,05%, sobe a 56,97% no período que vai de 6 a 10 anos, para cair a 17,39% de 10 a 15 anos, reduzindo-se daí em diante a percentagens insignificantes. Dessas cifras deduz--se, como já era sabido, a incidência preponderante, e de certo modo quasi exclusiva, dos casos de tinha durante a vida infantil em suas diversas fases: primeira infância, idade pre-escolar e idade escolar. Vê-se também claramente a influência que o maior convívio e a promiscuidade das escolas exerce para um aumento notável da frequência de casos.

2) *Distribuição dos casos segundo a cor e o sexo* — Em S. Paulo nenhuma das raças mostra-se naturalmente imune às tinhas. Sobre um total de 437 casos humanos, havia 349 brancos, 52 pretos, 35 pardos e 1 amarelo. O maior número de indivíduos de raça branca explica-se por ser esta de muito a predominante dentre todas as que constituem a população da cidade.

Em relação ao sexo, parece ao A. não ser devida ao acaso a maior incidência de casos que se assinala para o sexo masculino. Sobre 437 casos humanos, 293 pertencem ao sexo masculino e 144 ao feminino. O A. não se pode furtar à impressão de que nos asilos as tinhas do couro cabeludo atingem maior número de meninos do que de meninas. Dir-se-ia que, *em situação igual de carência de medidas de profilaxia*, as condições favorecedoras do contágio são maiores entre as crianças de sexo masculino do que entre as de sexo feminino. Considerando que para o contágio é necessário o transporte, do couro cabeludo doente para o couro cabeludo sã, de uma partícula de cabelo ou de escama parasitados, é de se imaginar, pelo menos nos asilos, mais fácil esse contágio entre os meninos que são obrigados a ter o cabelo curto, do que entre as meninas. Nestas, a cabeleira longa forma uma espécie de verdadeiro capacete protetor que dificulta, nas crianças doentes, a disseminação de fragmentos de cabelo e de escama, e nas crianças sãs protege de um certo modo a superfície do couro cabeludo. Este fato merece, contudo, ser verificado em maior número de casos.

3) *Facies da flora dermatofítica em S. Paulo* — O A. diz que se refletirmos sobre o modo de formação da população de S. Paulo, tendo em vista a forte contribuição a ela dada pelas correntes migratórias européias e asiáticas, e se considerarmos as condições de humidade e calor do nosso clima sub-tropical que são favoráveis à flora em geral — é de se prever, no estudo das dermatomicoses, o encontro de uma flora dermatofítica muito rica e sobretudo variada. Realmente a observação dos fatos confirma essa hipótese. Não menos de 12 espécies de cogumelos de tinhas foram isoladas pelo A., a saber, dentre as *Tricofícias*, o *T. violaceum* em 214 casos, o *T. acuminatum* em 62 casos, o *T. glabrum* em 5 casos, o *T. cerebriforme* em 7 casos, o *T. gypseum asteroides* em 2 casos, o *T. g. granulatum* em 3 casos, o *T. (faviforme) album* em 1 caso; dentre as *Microsporias*, o *M. felineum* em 123 casos, o *M. lanosum* em 2 casos; e dentre os *Acorions*, o *A. Schoenleinii* em 17 casos, o *A. gypseum Bodin* em 4 casos, o *A. gallinae* em 1 caso.

O A. confronta a própria estatística com a de Abílio Martins de Castro e tirando a média de ambas conclue que, pelo menos no estado atual das pesquisas micológicas aqui entre nós, dentre os 3 gêneros — *Tricofiton*, *Microsporon* e *Acorion* — é ao primeiro que se deve atribuir o maior número de casos, cerca de 50,40%, vindo logo em seguida as *Microsporias* com 37,48% e por último os *Acorions* com 12,10%.

4) *Localização das lesões* — No que diz respeito à sede das lesões resulta das investigações do A. que os *Tricofitons* e o *Acorion Schoenleinii* têm especial predileção pela localização no couro cabeludo; os *Microsporons* também aparecem com maior frequência nessa sede, todavia, à diferença dos outros, são encontrados, em número notável de casos, como causadores de lesões da pele glabra, verificando-se aqui justamente o contrário do que observou Sabouraud na região de Paris. Essa divergência é devida ao fato de serem nossas *Microsporias* causadas, não pelo *M. Audouinii* como lá acontece, mas sim pelo *M. felineum* cujo comportamento é diferente.

5) *Considerações sobre o aspecto clínico, cultural e botânico das tinhas em S. Paulo* — Com exceção do *T. (faviforme) album* e do *A. gallinae* que serão objeto de trabalho à parte, o A. fez um estudo pormenorizado das espécies que isolou. Descreve os quadros clínicos que elas determinam, o aspecto microscópico do cogumelo nas escamas e unhas, e sua configuração e disposição arquitetural nos cabelos. As culturas das diversas espécies são descritas tanto no que diz respeito ao desenvolvimento como ao aspecto macroscópico. O estudo botânico foi realizado em culturas sobre lâmina, segundo o método de Rivalier e Seydel. Completam este capítulo pesquisas experimentais de inoculação em animais de laboratório.

6) *As tinhas nos agrupamentos humanos* — O A. põe em relevo o papel que as condições de vida em conjunto nas famílias, escolas e asilos, representam para o alastramento de moléstias como as tinhas que se caracterizam por um acentuado grau de transmissibilidade e por notável cronicidade.

Família — O A. reputa as pequenas epidemias familiares muito mais frequentes do que se pode deduzir dos dados que foram colhidos. Do material em exame puderam ser separadas 30 famílias com mais de um caso de tinha, perfazendo um total de 84 casos. As fontes de contágio, dentro da família, para as *Tricofícias* e *Microsporias*, são representadas pelos irmãos e com menor frequência pelos primos e crianças vizinhas que frequentam o mesmo ambiente familiar. Para o *Favus*, há a considerar ainda o contágio de pais para filhos e de tios para sobrinhos.

Ainda no que diz respeito às *Tricofícias* e *Microsporias*, notável é o papel que representam os animais domésticos na origem das epidemias familiares.

Escola — Como ficou provado no capítulo que trata da frequência das tinhas segundo a idade, é justamente no limite entre o fim da idade pre-escolar e o início da escolar que o ritmo da frequência de casos se acelera sendo alcançada a percentagem máxima precisamente entre as crianças de 7 a 8 anos de idade. Esse aceleramento quasi que abrupto da incidência encontra sua explicação nas novas condições de vida da criança, que sai da vida em família, em que os contáctos e exposição a influências mórbidas são limitados, e penetra na vida social, sua sociedade sendo representada preponderantemente pela vida em conjunto nas escolas. Não obstante não ter ainda realizado um inquérito sistemático nas escolas, o A. pôde, contudo, referir 33 casos de tinha que a ele foram trazidos pela iniciativa expontânea dos pais. São crianças que frequentam 23 das nossas escolas, e muitas delas atacadas de tinha já há alguns meses e mesmo anos. Dada a grande contagiosidade das tinhas e o difficil diagnóstico dos casos iniciais para os médicos não especializados, é justo supor-se serem esses dados apenas o índice incompleto de uma situação que não tardará a se transformar em espinhoso problema.

Asilos — Uma antevisão da gravidade desse problema já é oferecida pelo estudo das tinhas nos asilos infantis. Em alguns destes, os casos de tinha são tão numerosos a ponto de se poder considerar esta moléstia, dentre as demais que atacam as crianças asiladas, de muito a mais frequente.

O A. verificou a presença de 250 casos de tinha em 9 asilos em que pôde ser realizado um inquérito cuidadoso. Em um dos asilos, mais de 45% das crianças apresentavam tinha do couro cabeludo!

7) *Considerações finais* — Uma situação de tal ordem dispensa palavras. É evidente a necessidade de ação imediata e enérgica. Não há dificuldades intransponíveis, pois que as tinhas, com boa orientação e técnica, são moléstias curáveis e o problema que lhes diz respeito tem sido já estudado e resolvido com eficiência em outros paizes.

Deve-se lembrar, contudo, que o conhecimento das tinhas representa, a seu modo, quasi uma especialidade dentro da especialidade, por exigir do dermatologista uma longa experiência da biologia dos fungos e a prática necessária de laboratório para o seu estudo. Medidas de combate bem dirigidas deveriam, porisso, estar a cuidado de uma organização que seria ao mesmo tempo *centro de estudo e órgão de ação contra as tinhas*.

A este competiria:

- fazer o censo das tinhas,
- tratar dos casos existentes,
- exercer vigilância especializada sobre todos os agrupamentos infantis,
- executar os exames micológicos e culturais necessários à elucidação dos casos suspeitos,
- dar aos médicos, que dele necessitassem, um minucioso conhecimento da clínica das tinhas.

Como medida complementar o A. alvitra igualmente a criação de um atestado de não existência de moléstia contagiosa do couro cabeludo, expedido pelo centro acima referido ou pelos médicos que nele tivessem feito estágio. Esse atestado seria exigido obrigatoriamente ao admitir-se uma criança em qualquer coletividade infantil (escola, asilo, orfanato, "play-ground", etc.).

SUMMARY

The A. refers, in this work, to the first results obtained in an inquiry that he is doing about the tineae in the city of São Paulo (Brazil). The bearing that methodic research has on the knowledge of the problem can be appreciated, even at first sight, by the following fact: the number of tineae cases observed in six years at random in the dispensary was doubled in only four months of systematic search, the first four months of the inquiry in course.

The 442 verified cases (437 humans and 5 animals) were thoroughly studied under the epidemiologic, clinic and mycologic points of view.

A summary follows the author's findings regarding the various topics on tineae:

1) *Distribution of cases according to age* — The occurrence of tineae of the scalp begins its rhythm of highest frequency at the end of the pre-school age and keeps high the case percentage throughout a major portion of the so-called school age. With the approach of beginning puberty there is a sudden fall in the rhythm of frequency which then slags gradually to smaller percentages. The frequency of cases for the five year age periods which from 0 to 5 th year is 21,05%, reaches 56,97% in the period which goes from the 6th to the 10th year to fall to 17,39% in the period from the

10th to the 15th year of age and from thence on the case percentage is very slight. One concludes from these figures, as was already known, the main, and in a way almost exclusive, occurrence of tineae cases during the childhood in its various phases: first age, pre-school age and school age. It is also clear that closer contact and promiscuous life in schools are factors in the striking increase in the occurrence of cases.

2) *Distribution of cases according to color and sex* — In São Paulo none of the races was naturally immunized against the tineae. On a total of 437 human cases there were 349 white, 52 negroes, 35 mulattoes and 1 yellow. The higher incidence in the white race is explained by the fact that it by far outnumbers all others which make up the city population.

Regarding sex it seems to the A. that it is not mere chance the higher occurrence in males. In 437 human cases, 293 belonged to the male sex and 144 to the female. The author's impression is that in Asylums the tineae of scalp are more common in male than in female children. One might expect that *in identical situation of deficient hygiene*, conditions helping contact would be more numerous amongst children of the male than in the female sex. Considering that for contagion it is necessary the transportation of hair or scale fragments from the diseased to the unaffected scalp, one expects, at least in Asylums, easier contagion amongst boys obliged to have short hair, than among girls. In these the long hair acts as a protective helmet which makes difficult, in the affected children, the dissemination of hair or scale fragments and in the healthy ones protects the scalp surface. This fact however needs to be investigated in a larger number of cases.

3) *Dermatophytic picture of the São Paulo flora* — The A. says that if we ponder on the building up of São Paulo population, considering the strong contribution of European and Asiatic migration and conditions of humidity and heat of our subtropical climate, which are favorable to the flora in general, one would expect, in the study of the dermatomycosis, to find a very rich and, above all, varied dermatomycotic flora. Such hypothesis is confirmed by the observation of the facts. No less than 12 species of tineae were isolated by the A. and they are, among the *Trichophyciae*: *T. violaceum* in 214 cases, *T. acuminatum* in 62 cases, *T. glabrum* in 5 cases, *T. cerebriforme* in 7 cases, *T. gypseum asteroides* in 2 cases, *T. g. granulosum* in 3 cases, *T. (faviforme) album*

in 1 case; among the *Microsporidae*, the *M. felineum* in 123 cases, the *M. lanosum* in 2 cases; and among the *Achorions*, the *A. Schoenleinii* in 17 cases, the *A. gypseum* Bodin in 4 cases, the *A. gallinae* in 1 case.

The A. compares his own statistics with that of Abilio Martins Castro and drawing the average from the two concludes that at least in the actual phase of the mycologic researches among us, out of the three generis, *Trichophyton*, *Microsporion* and *Achorion*, to the first named ought to be attributed the bigger number of cases, about 50,4%, coming next the *Microsporidae* with 37,48% and finally the *Achorions* with 12,1%.

4) *Localization of the lesions* — Regarding the location of the lesions, it pops out from author's investigations that the *Trichophytons* and *Achorion schoenleinii* have special predilection for the scalp. The *Microsporions* also occur more frequently in that same region; however, contrasting with those, they occur frequently too in the glabrous skin, a fact exactly opposite to that observed by Sabouraud in Paris. Such discrepancy is due to the fact that our *Microsporidae* are caused, not by the *M. Audouinii* as happens there, but by the *M. felineum* whose behaviour is different.

5) *Considerations on the clinical, cultural and botanic aspects of the tineae in São Paulo.* — With the exception of *T. (faviforme) album* and the *A. gallinae* which will be dealt with in a separate work, the A. studied thoroughly the species that he isolated. He described the clinical pictures that they cause, the microscopic aspect of the fungus in the scales and nails, and its disposition and architectural distribution in the hairs. The cultures of the various species were described regarding its development and macroscopic aspect. The botanical study was done on cultures over slides, according to the method of Rivalier and Seydel. This chapter is completed by the research of experimental inoculations on laboratory animals.

6) *The tineae in the human grouping.* — The A. brings out the roll that conjoint life conditions in families, schools and asylums plays in the spreading of a diseases like the tineae which are in a high degree contagious and markedly chronic.

Family — The A. believes that the small family epidemics are much more frequent than one can conclude from his own data. Out of the examined material 30 families could be picked up which had more than one case of tineae, making up a total of 84 cases. The sources of contagion within the family, for *Trichophyciae* and

Microsporidae are represented by brothers and sisters and, less frequently, by cousins, and neighbourhood children who frequently visit the families. For *Favus* one must consider also the contagion from parents and uncles or aunts to the children.

Still regarding the *Trichophyciae* and *Microsporidae*, the domestic animals play important roll in the origin of family epidemics.

School — As proven in the chapter that deals with tineae frequency according to age, it is exactly in the boundaries between the end of pre-school age and the beginning of school age that the rhythm of frequency of the cases accelerates, being reached the highest percentage precisely in children between 7 and 8 years of age. Such almost sudden acceleration in childhood meets its explanation in the new conditions of life of the child who leaves family life where contagion and exposition to morbid influences are limited and enters social life, being his social medium represented mainly by school children. Although the A. has not yet made a systematic inquiry in the schools he could nevertheless make reference to 33 cases of tineae brought to him spontaneously by the parents. They are children who attend 23 of our schools and many of them were tineae carrier for a few months or even years. The strong contagiousness of tineae and the difficulty for the non specialized physician to diagnose cases with beginning disease makes one think that these data are only the incomplete index of a situation that will soon become a very serious problem.

Asylums — A foresight of the seriousness of the problem is already given by the study of the tineae in asylums. In some of these the cases of tineae are so numerous that one can consider such disease by far the most frequent in the asylums children.

The A. met 250 cases of tineae in 9 Asylums in which he could make a careful inquiry. In one of them over 45% of the children had tineae of the scalp!

7) *Final considerations* — Such situation speaks by itself. It is clear the necessity for prompt and energetic action. There is no insurmountable obstacle; if one follows good technic and orientation the tineae are curable diseases and the problem it presents has already been studied and efficiently solved in other countries.

One ought to keep in mind, however, that the knowledge of tineae represent, in a way, almost a speciality within the dermatological speciality, because it requires from the dermatologist a long

experience with the biology of the fungus and the mastering of laboratory technic, for its study. Well directed fighting measures should be under the care of an organization which would be at the same time *center of study and organ of action against the tineae*.

Such organization would:

- make the statistics of the tineae,
- treat the diagnosed cases,
- keep specialized watchfulness on all children grouping,
- make mycological and cultural examinations necessary for the clearing up of suspected cases,
- minister to the needy physician thorough knowledge of the tineae clinic.

As a complementary measure the A. suggests the giving out, by the above organization or by physicians that took its course on tineae, of certificates of the non-existence of tineae of the scalp, to children. Such certificate would be compulsory required on the admission of a child in any infantile community (school, asylum, orphanage, play-grounds, etc.).

SOBRE O PADRÃO BACTERIOLÓGICO DO LEITE EM SÃO PAULO

*Considerações em torno de 626 análises, efetuadas de
Agosto de 1934 a Dezembro de 1937*

A. FRÂNCIA MARTINS

Chefe da Sub-divisão Técnico-administrativa do Instituto Adolfo Lutz.
Ex-bacteriologista da extinta Inspetoria de Fiscalização do Leite e
Lacticínios.

A elaboração do presente trabalho resultou de estudos detalhados sobre os resultados dos exames bacteriológicos efetuados na extinta Inspetoria de Fiscalização do Leite e Lacticínios, e marcam documentadamente a orientação técnica daquele serviço, até Junho de 1938, quando foi extinto.

O complexo problema da distribuição higiênica do leite às grandes cidades sofre dia a dia modificações sensíveis em aperfeiçoamento, a maioria delas baseadas sobre os exames bacteriológicos. Si a química verifica o teor normal de cada componente e as suas variações, resultando em coibição da fraude, a bacteriologia orienta sobre a higiene, compreendendo as técnicas de manipulações por que passa o produto desde a ordenha até a entrega ao consumidor. Podemos dizer que a primeira faz o controle policial e a segunda, o higiênico. Ambas se completam, para se obter um produto apto ao consumo.

Antes de iniciarmos os trabalhos no laboratório de bacteriologia daquela Inspetoria, já contávamos com mais de três anos de experiência na fiscalização das Usinas de beneficiamento do leite, na Capital. O trabalho rigorosamente entrosado entre as diferentes seções, permitiu concatenar os resultados e orientar as medidas sanitárias indispensáveis, de forma a aproveitar o máximo dos esforços dispendidos.

Onde quer que surgisse qualquer dúvida sobre medidas de técnica, lá se encontrava o laboratório de bacteriologia pronto para

esclarecer os pontos obscuros, da mesma maneira que na eclosão de um surto epidêmico, o inquérito sanitário ocorre para elucidar as fontes causadoras do mal.

Um serviço perfeito de fiscalização sanitária do leite é um serviço de equipe, devendo congregiar os elementos de todas as secções especializadas, de sorte a manter um ritmo constante e eficiente.

Com esta orientação, obtivemos resultados surpreendentes, e o exame detalhado dos dados que se seguem demonstram vontade firme em acertar.

Os dados numéricos adiante expostos, estão grupados em diversos capítulos. Serviram exclusivamente para estudar o estado bacteriológico do leite em S. Paulo, para resolver em que limite poderíamos fixar o padrão bacteriológico provisório, sem incorrer na falta, que julgamos grave, de limitar o número de germes de um determinado tipo de leite, fóra das condições habituais.

No conceito exato de um leite "bom", devemos levar em conta vários fatores e não um só. Por exemplo, quando queremos classificar um determinado leite, precisamos conhecer sua origem, a distância e o número de horas que medeia entre a sua ordenha e o local de consumo, o local onde é ordenhado, e as condições de transporte. Com estes dados já podemos incluir o produto num dos tipos estabelecidos, para em seguida tratar do seu teor microbiano e completar a sua classificação.

O teor microbiano é de real valor no estudo do produto, devendo ser não só quanto ao número de germes como também a sua qualidade. Na pesquisa dos elementos do grupo *Escherichia-aerobacter*, encontramos base bastante para nos orientar sobre a técnica de manipulação do produto, e colocá-lo entre os leites que podem ou não ser entregues ao consumo. O mesmo acontece com os exames bacteriológicos das águas, onde o índice "coli" é de valor primário.

Por princípio já pacífico em higiene leiteira, todo o leite destinado ao consumo deve ser pasteurizado, visto entrar a pasteurização não como técnica de conservação do produto, mas como medida de ordem sanitária, expurgando o produto dos elementos bacterianos patogênicos e prejudiciais à saúde humana.

Não podemos confiar unicamente nos cuidados técnicos para afirmar que um leite cru não necessita de ser pasteurizado, porque por mais cuidadosas que sejam as técnicas adotadas, nada impedirá que em certas circunstâncias um leite permaneça isento de germes de poluição. É o que ensina a prática e confirmam os estudos efe-

tuados por nós e por pesquisadores americanos. Porisso o próprio leite "certificado" americano mereceu atenção dos poderes públicos que acabou indicando para o mesmo a pasteurização.

Estabelecendo como princípio que todo o leite destinado ao consumo deve ser pasteurizado, devemos levar em conta *sempre*, o número de germes que o leite contem antes de ser pasteurizado. O número de bactérias de um produto após a pasteurização e a sua qualidade, tem valor final, isto é, indica unicamente número de germes vivos que o consumidor vai ingerir, mas não demonstra a qualidade do leite. A qualidade do leite nesse caso é dada pelo julgamento dos dois exames: antes de pasteurizar e após a pasteurização.

A pasteurização mata a maioria das bactérias, principalmente as patogênicas que são termolábeis, mas não destroi as toxinas bacterianas produzidas por aqueles germes durante sua fase de proliferação. Pode ser um leite pasteurizado pobre em germes vivos, mas rico em toxinas prejudiciais à saúde. Porisso os americanos na classificação de um leite, exigem, como condição básica, que se revele o teor microbiano do leite antes e depois da pasteurização.

Somos de opinião que é este o único critério a ser adotado. Fóra disso, não há classificação rigorosa e muito menos científica.

Insistindo na contagem dos germes antes da pasteurização, queremos dar apóio à acerção de que tanto menos contaminado é o leite antes da pasteurização, tanto melhor será ele após a pasteurização. Por irmos higienisar um leite pasteurizando-o, não quer dizer que devemos nos descuidar com o seu trato numa fase anterior a ela, muito pelo contrário, devemos cercá-lo dos cuidados máximos exigidos pela técnica. Convem lembrar a frase de Leslie Frank, citada por Barros Barreto:

"It believed that a policy which abandons production precautions and relies solely upon pasteurization is not sound. There can be no reasonable doubt that pasteurization, if properly applied, will prevent milk borne infections. Pasteurization is in this respect certainly superior to raw milk precautions. But on the other hand, the pasteurization process is not always properly applied. It is designed and operated by human beings. Many of the designs are not sound; occasional slips in operation are inevitable. Suppose we abandon production precautions entirely of largely; suppose many of the cows are not tuberculin tested and that a high percentage of tuberculosis exist in the herd (true for many of our large

cities); suppose that we take no precautions against typhoid carriers on the farm, etc., if then, a failure in pasteurization does occur, our last safeguard is down, and the consumer is left defenseless”.

Estes conceitos são de alta significação, quando se encara o problema sob o ponto de vista sanitário, não querendo justificar medidas de menos rigor, que longe de beneficiar o público consumidor, vem apenas locupletar o comerciante.

A higienização do leite começa na ordenha e termina com a entrega do produto ao consumidor. Todas as etapas são importantes, nenhuma delas deve ser descuidada, sob pena de incorrerem em falha irreparável.

O frio é o elemento físico sem par na maioria das técnicas de manipulação do leite. O calor entra apenas no momento da pasteurização, é passageiro e deve ser sempre seguido pelo frio, sem fase intermediária. É a pasteurização, quer adotemos os processos antigos, como o rápido, o lento, quer sigamos os modernos, praticados em camada delgada, como os aparelhos Stassano, em placas, etc..

O aperfeiçoamento dos aparelhos de pasteurização visam antes de tudo uma ação uniforme do calor em toda a massa líquida de forma a reduzir ao infinitésimo as possibilidades de persistirem germes patogênicos, vivos. Os sistemas fechados, têm por fim manter o leite fóra do contácto do ar, impedindo alterações do seu gosto normal, desprendimento de elementos voláteis (CO₂), e destruição de algumas vitaminas facilmente oxidáveis a temperaturas elevadas.

Com o avanço da técnica da pasteurização vemos cada dia salvar-se o interesse público, na defesa de sua saúde, sem levar em conta o interesse comercial. Este, deverá amoldar-se às leis sanitárias, ser sujeito sempre a modificações, desde que para isso esteja em jogo a saúde pública. Não pode haver direitos adquiridos, em se tratando da saúde de um povo.

Com o ponto de vista acima exposto, iniciou o laboratório de bacteriologia da extinta Inspetoria de Fiscalização do Leite e Lactínicos, as suas atividades, dentro do espírito de colaboração que reinava entre as secções daquela Inspetoria.

Os dados, que seguem adiante, foram colhidos, como dissemos, de Agosto de 1934 a Dezembro de 1937, isto é, três anos e meio de serviço. A falta de pessoal impediu que mais se fizesse pois o laboratório de bacteriologia contava apenas, além do seu chefe,

com mais três auxiliares técnicos e um servente. As amostras eram colhidas exclusivamente por mim, exceção feita das amostras de leite engarrafado destinado ao consumo, que eram colhidas pelos inspetores médicos, e conservadas, até o laboratório, em caixas térmicas.

Si, na realidade, os exames foram feitos no laboratório de bacteriologia, e muitas vezes certos estudos foram orientados por ele, não menos verdade é que sua alta produção foi um reflexo do conjunto do serviço.

Aquí expresso meus agradecimentos a todos que colaboraram na Inspetoria de Fiscalização do Leite e Laticínios, muito especialmente ao meu ex-chefe e amigo Fausto d'Oliveira Quaglia, a cuja conduta, probidade e profunda honestidade, reverencio-me respeitosamente.

PLANO DE AÇÃO

Imediatamente ao iniciarmos as nossas atividades, procuramos assentar qual seria o nosso programa de ação. Bem diferente de outras cidades, S. Paulo possui várias qualidades de leites que são fornecidos ao consumo, e dentro dessas qualidades, várias modalidades também existem. Por exemplo, o leite tipo C provém de vários estabelecimentos e cada um deles possui um tipo C diferente, se quizessemos entrar em certos detalhes técnicos. Como então proceder à coordenação dos estudos que deveriam ser encetados sem demora?

Resolvemos a questão baseados na experiência que já possuíamos do serviço de fiscalização durante 3 longos anos, em que corremos todos os estabelecimentos da Capital e deles tínhamos uma compreensão exata.

Primeiramente começamos a estudar cada tipo de leite em si, e dentro de cada tipo, as diferentes procedências isoladamente. Cada procedência era estudada desde a chegada do leite ao primeiro centro de recebimento até a distribuição ao consumo, de sorte que acompanhávamos o produto por todo o seu percurso, e podíamos desta forma ajuizar dos métodos empregados em cada procedência.

Desnecessário seria frisar a grande dificuldade que tivemos de vencer, não só materialmente, como com falta de pessoal adequado para o mister. Para lembrar de passagem algumas delas, confesso que a colheita de amostras feita de madrugada era feita por mim, quando estas amostras eram colhidas nas Usinas da Capital ou do

Interior, e que a bile que usavamos para certo meio de cultura era também eu que ia ao matadouro da Armour pedir graciosamente a vesícula, que com excessiva gentileza me fornecia o Inspetor Chefe da Fiscalização Federal naquele Entrepasto.

De outra forma, nada teríamos feito.

Resumindo, o nosso plano de ação ficou assim traçado:

a) *Leites tipo "C"*.

1.º Cap. — Leites crus chegados nas Usinas do Interior

2.º Cap. — Leites crus vindos do Interior e as amostras colhidas na Capital.

3.º Cap. — Leites pasteurizados no Interior e amostras colhidas lá mesmo.

4.º Cap. — Leites pasteurizados no Interior e as amostras colhidas na Capital.

5.º Cap. — Leites pasteurizados na Capital.

6.º Cap. — Leites engarrafados destinados ao consumo.

b) *Leites tipo "A" cru — Granjas.*

c) *Leites dos Vaqueiros.*

Estudemos, neste trabalho, somente a primeira parte (a) e seus capítulos.

PRIMEIRA PARTE (A)

DEC. 6.603, art. 21 § 3.º — "*O Leite C é o leite pasteurizado cuja produção e higienização, não podendo satisfazer as condições exigidas para o de tipo B, preencha, entretanto, as demais exigências deste Regulamento.*"

Uma das condições exigidas para este tipo de leite é não ser entregue ao consumo depois de *36 horas de ordenha*, além de várias outras.

Ora, o leite tipo "C" era, portanto, o grosso do leite fornecido à população da Capital, porque somente uma pequena parte podia preencher as condições para o leite "A" e "B".

Pouco nos importa comparar este tipo de leite com o correspondente americano, que seria forçosamente o "culinário", pois as nossas condições aqui são muitíssimo diferentes, não só em aperfeiçoamento higiênico como na perfeita compreensão do assunto, quer por parte do povo quer por parte do Governo.

O que importava saber é como este leite se apresentava — sob o ponto de vista bacteriológico — ao ser adquirido pelo público. O regulamento anterior, Dec. 5.032, fixava em 500.000 o número de germes por cc. para este tipo de leite, padrão provisório, mas este padrão era fictício, não correspondia à realidade, porquanto não era baseado em dados *nossos*, mas tirados da legislação americana. Como tudo que é feito desta forma não pode ir para diante, o padrão jamais foi exigido e muito menos verificado.

Não querendo incidir no mesmo erro, e conhecendo como conhecíamos as manipulações que sofria o leite antes da distribuição, o dec. 6.603 estabeleceu no seu artigo 30: — “O Diretor Geral do Serviço Sanitário fixará periodicamente, por proposta da Inspeção de Fiscalização do Leite e Laticínios, de acordo com os estudos feitos no laboratório desta, os padrões bacteriológicos para o leite cru tipo “A” e para os tipos de leite pasteurizado, antes e depois da pasteurização”.

Dessa forma, o principal escopo do laboratório de bacteriologia era promover um inquérito sobre o estado bacteriológico do leite fornecido ao consumo e dele dar proposta ao Governo de um padrão “*provisório*” que seria mudado logo que as condições do leite melhorassem, até se fixar um padrão definitivo. Assim procedendo, não iríamos fixar “*ab initio*” um padrão arbitrário, mas estabelecer limites razoáveis, dentro do espírito de verificação real, com a preocupação de ir aperfeiçoando, certos de que agiríamos num terreno sólido e científico.

Durante a aquisição dos dados para estudo iríamos fazendo ver aos comerciantes a má qualidade de seu produto e, dessa forma, quando fossemos fixar o primeiro padrão, já estaríamos em um ponto mais elevado que o início e eles com melhor boa vontade aceitariam as medidas impostas por este primeiro padrão, por ver que o serviço público colaborava de *boa vontade* na melhoria da qualidade do leite.

O padrão, uma vez estabelecido, seria exigido com o rigor merecido.

Nesta “*Primeira parte — (a)*” — passemos a estudar o

1.º CAPÍTULO

LEITES CRÚS CHEGADOS NAS USINAS DO INTERIOR

Os leites chegados às Usinas do Interior são aqueles oriundos das fazendas produtoras, transportados pela maneira mais rudimentar possível, variando este transporte de acordo com a localização das fazendas e com o grau de adiantamento de cada fazendeiro.

Em geral, são os leites ordenhados pela madrugada e transportados para a Usina logo após, de sorte que a chegada a estes estabelecimentos dá-se mais ou menos das 9 horas em diante.

Não entraremos aqui em detalhes sobre as condições de transporte, mas convem salientar que alguns leites permanecem maior tempo nesse transporte que outros, de acordo com a distância de cada fazenda à Usina receptora, de forma que forçosamente o resultado bacteriológico há de ser diverso.

No agrupamento dos resultados abaixo, fugimos de entrar em investigações da proveniência desta ou daquela amostra, bem como do tempo que mediou entre a ordenha e a chegada à Usina. Como as amostras foram colhidas em horas diferentes e em ocasiões diversas do ano, em viagens subsequentes feitas ao Interior, consideramos todas elas como estando em igualdade de condições.

Daremos na tábua abaixo, um agrupamento dos resultados obtidos pelo exame do leite considerado neste capítulo, referindo-se estes resultados aos dados obtidos pelas contagens em placas somente.

Abstemo-nos de citar os resultados das contagens pelo método de Breed, por nos parecer este menos preciso que aquele, conforme a verificação que fizemos no decorrer do nosso serviço.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites crus chegados às Usinas do Interior, nas diferentes classes, com a porcentagem respectiva

Total das contagens	Resultados incontáveis (*)	Frequência do conjunto de procedências	Classes	
16	2 ou 12,50%	1 ou 6,25%	de 0	75,00% ou 12
			a 500.000	
		4 ou 25,00%	de 500.001	
			a 1.000.000	
		1 ou 6,25%	de 1.000.001	
			a 1.500.000	
		2 ou 12,50%	de 1.500.001	
			a 2.000.000	
		1 ou 6,25%	de 2.000.001	
			a 2.500.000	
		1 ou 6,25%	de 2.500.001	
			a 3.000.000	
		—	de 3.000.001	
			a 3.500.000	
		2 ou 12,50%	de 3.500.001	
			a 4.000.000	
	de 4.000.001			
	a 4.500.000			
	de 4.500.001			
	a 5.000.000			
	de 5.000.001			
	a 10.000.000			
	de 10.000.001			
	a 15.000.000			
2 ou 12,50%	de 15.000.001			
	a 20.000.000			
	de 20.000.001			
	a 25.000.000			
	de 25.000.001			
	a 30.000.000			

(*) Quando escrevemos "resultados incontáveis", referimo-nos a um resultado cuja placa de diluição de 1:100.000 apresentava mais de 300 colônias.

O pequeno número de exames feitos não nos autoriza a tirar conclusões sólidas sobre o problema. Mais não pudemos fazer, devido as dificuldades não só de pessoal para a colheita de amostras, como a deficiência de pessoal técnico existente na zona norte até Dezembro de 1937. Pelas exigências de técnica, a colheita de amostras tem que preencher determinadas condições, e cada viagem que fazíamos ao Interior, somente algumas amostras podíamos trazer.

Mesmo poucos, os resultados já nos dão uma idéia do conjunto, por serem mais ou menos uniformes as condições de colheita das amostras.

Examinando a tábua de frequência acima, verificamos ter havido maior condensamento dos resultados nas primeiras classes, isto é, de 0-4.000.000, apesar de ter havido um aumento do valor de cada classe a partir de 5.000.000. É, portanto, de 75,00% a porcentagem de análises nestas primeiras classes, o que nos leva a pensar ser dentro do limite de 4.000.000 que a maioria do leite crú vindo das fazendas chegam às Usinas.

As manipulações por que passam os leites que estamos estudando são de lastimar quanto à higiene. Basta lembrar que um leite com tão poucas horas de ordenha já possui um número de germes alcançando a classe dos milhões. Para reforçar este conceito, segue abaixo um quadro revelando a porcentagem e a quantidade de elementos do grupo *Escherichia-aerobater* encontrados neste leite.

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
N.º de análises (16)	—	—	2	1	13
Porcentagem	—	—	(12,5%)	(6,25%)	(81,25%)

Pesquisas negativas	0
Pesquisas positivas	16 — 100,00%
N.º de pesquisas	16

Por aí se vê que todo o leite chegado às Usinas do Interior já possui o índice de contaminação coli, revelando um mau tratamento nas manobras habituais da ordenha. Nem de outra forma poderia ser, si levarmos em consideração as condições em que é o leite ordenhado nestas fazendas, e a falta de higiene na limpeza dos utensílios usuais.

Procuraremos voltar sobre a questão em outro ponto deste trabalho.

2.º CAPÍTULO

LEITES CRÚS VINDOS DO INTERIOR E COLHIDOS NA CAPITAL

Feito sumariamente um estudo sobre os leites crús chegados às Usinas do Interior, estudemos este mesmo leite crú quando transportado para a Capital, afim de sofrer aqui a pasteurização.

Os leites crus que entram nas Usinas do Interior e que devem ser enviados nesse estado para a Capital, sofrem somente uma filtração, em geral centrífuga, e um resfriamento à temperatura próxima de zero. Durante o transporte, as latas em que o leite é transportado são cercadas de gelo, mas isto nem sempre acontece e, quando acontece, a carga de gelo é em geral insuficiente. A temperatura de chegada desse leite, de uma maneira geral, não é boa, de sorte que este produto transforma-se num verdadeiro caldo de cultura.

É o trem leiteiro um trem de última carreira, mixto, excessivamente vagaroso, fazendo o percurso de Queluz a S. Paulo em cerca de 10-12 horas, quando não sofre atrasos de 4-6 horas, o que é comum. Os carros chamados "refrigeríficos" são antes estufas que geladeiras, e a sua limpeza interior não é meticulosa. Carros verdadeiramente refrigeríficos só possui a Cia. Paulista, como veremos adiante.

São estes os dados que julgo indispensáveis conhecer para se fazer um bom entendimento do "porque" do quadro que abaixo vamos estudar.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites crus vindos do Interior e as amostras colhidas na Capital, nas diferentes classes, com a porcentagem respectiva.

Total das contagens	Resultados incontáveis	Frequência do conjunto de procedências	Classes
62	10 ou 16,12%	2 ou 3,22%	de 0 a 500.000
		3 ou 4,83%	de 500.001 a 1.000.000
		2 ou 3,22%	de 1.000.001 a 1.500.000
		2 ou 3,22%	de 1.500.001 a 2.000.000
		3 ou 4,83%	de 2.000.001 a 2.500.000
		1 ou 1,61%	de 2.500.001 a 3.000.000

Total das contagens	Resultados incontáveis	Frequência do conjunto de procedências	Classes	
		—	de 3.000.001 a 3.500.000	
		3 ou 4,83%	de 3.500.001 a 4.000.000	
		1 ou 1,61%	de 4.000.001 a 4.500.000	
		—	de 4.500.001 a 5.000.000	
		4 ou 6,45%	de 5.000.001 a 10.000.000	72,58% com os 10 incontáveis
		8 ou 12,90%	de 10.000.001 a 15.000.000	
		10 ou 16,12%	de 15.000.001 a 20.000.000	
		6 ou 9,67%	de 20.000.001 a 25.000.000	
		7 ou 11,29%	de 25.000.001 a 30.000.000	

Notamos pelo estudo cuidadoso da tábua acima que 72,58% dos resultados acham-se incluídos na classe dos 5.000.000 e nas seguintes com 16,12% desses resultados, como incontáveis. Apenas 27,41% dos resultados, com 17 contagens, encontram-se nas classes até 5.000.000.

Ora, no capítulo anterior vimos que os leites crus ao chegarem às Usinas do Interior apresentavam resultados das contagens bacteriológicas grupados nas primeiras classes, isto é, até 4.000.000.

Este mesmo leite ao chegar na Capital, após várias horas de viagem, como assinalámos, aumenta suas contagens de tal sorte, que a maioria dos resultados vai enquadrar-se entre 5 e 30.000.000, ou mais.

São dados insofismáveis que vêm confirmar o que falávamos a respeito do transporte e conservação do produto durante este período.

Si antes de partir, o índice coli já era elevado, conforme examinamos no Capítulo que a este antecedeu, ao chegar à Capital, este índice estaria evidentemente aumentado. Damos abaixo o quadro assinalando a presença dos elementos do grupo *Escherichia-aerobacter*, nas diferentes diluições. Chamamos a atenção, no entanto,

para o fato de que não utilizavamos diluições superiores a 1/10.000, pois já era esta diluição muito elevada para evidenciar um elemento que não deveria existir de forma alguma no leite.

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
N.º de análises (58)	—	1	3	7	47
Porcentagem	—	1,7%	5,1%	11,8%	81,0%

Pesquisas negativas	0
Pesquisas positivas	58 — 100%
N.º das pesquisas	58

Em S. Paulo a pasteurização do leite é feita tanto no Interior como na Capital, portanto para se estabelecer um padrão bacteriológico do leite pasteurizado que óra estudamos, precisamos meditar bem nesses dados. É obvio que um leite para merecer o qualificativo de *bom* necessita de umas tantas medidas de ordem higiênica que deverão ser adotadas desde a ordenha até a entrega ao consumidor. Entram aquí fatores importantes, dos quais destaco a temperatura de conservação e tempo de ordenha. Todas estas medidas destinam-se a um único fim: evitar tanto quanto possível a contaminação bacteriana e a sua multiplicação. Não é somente o número de germes que o leite contem ao ser entregue ao consumo que interessa à hygiene pública, mas também aqueles que já conteve, quer numericamente quer qualitativamente. Quero me referir à *história do leite*, si assim posso me exprimir, bacteriologicamente falando.

Si um germe é inoculado em um tubo de caldo comum, no fim de certo número de horas, este caldo estará não só alterado na sua composição físico química, como possuirá certas substâncias tóxicas elaboradas pelo próprio germe, substâncias essas que variam em maior ou menor quantidade e qualidade, conforme o germe inoculado.

O mesmo acontece com o leite, produto altamente favoravel ao crescimento bacteriano e já contaminado à sua saída do úbere. No fim de certo tempo, si as condições o permitirem, o leite que só possui alguns germes ao sair do úbere, irá não só adquirir outros como dar crescimento aos que já possuía. A finalidade das medidas higiênicas no caso não é produzir um leite esteril, mas um leite com poucas bactérias e inofensivas à saude, quer por si representadas, quer pelas toxinas que poderão elaborar.

É sabido que os germes do grupo coli elaboram toxinas mais ou menos ativas e que, segundo os trabalhos experimentais de Génésio Pacheco, atuam de forma diversa, quer sobre o intestino, enterotrópicas, quer sobre o sistema nervoso, neurotrópicas. Este pesquisador utilizou-se, nas experiências, de leite contaminado com germes do grupo coli e, trabalhando em alça isolada de coelho, chegou a resultados muito interessantes e trazidos à luz do dia em brilhante nota prévia.

Não querendo me alongar nesses assuntos, dos quais a bacteriologia comprova a cada passo as afirmações acima, chegamos à conclusão de que é de máxima importância para se estabelecer o padrão bacteriológico de um leite pasteurizado, *fixar o número de germes dele antes da pasteurização*. São assim quasi todas as legislações estrangeiras tidas como paradíguas.

3.º CAPÍTULO

LEITES PASTEURIZADOS NO INTERIOR E COLHIDOS PARA ANÁLISE LA MESMO

À medida que vamos penetrando no estudo das diversas modalidades de leites, vamos compreendendo a complexidade do problema em questão. Neste capítulo, vamos estudar o leite pasteurizado no Interior, mas cujas amostras para exame foram colhidas no próprio local da pasteurização. Estas amostras eram apreendidas com absoluta obediência aos preceitos técnicos, colocadas em frascos estéreis, transportadas para o laboratório dentro de caixa térmica e no prazo máximo de 12 horas eram distribuídas para exame.

Há uma certa dependência deste capítulo com o primeiro, onde se estudou o leite que chega crú às Usinas do Interior. É fato sabido em higiene leiteira que o número de germes de um leite pasteurizado depende em parte do número de germes existente no mesmo leite antes de pasteurizar. A pasteurização reduz o número de germes, mas não esteriliza o leite. Foi a esta redução que se denominou "eficiência da pasteurização", e o número que exprime esta redução "coeficiente da pasteurização".

A eficiência da pasteurização é um fenômeno por demais complexo, dependente de vários fatores e merece ser bem estudada para poder ser bem interpretada. Com efeito, possuindo um certo leite uma determinada quantidade de germes, ao sofrer a pasteurização, a redução é função da temperatura de aquecimento, tempo de manutenção à temperatura de pasteurização, espessura da camada líquida,

sistema de agitação, sistema de resfriamento, temperatura de resfriamento, da flora qualitativa do leite e outros fatores de menor importância.

Si considerarmos que a técnica da manipulação foi perfeita e rigorosa, o coeficiente de pasteurização depende no caso, em maior parte, da qualidade dos germes, que poderão ser termoestáveis ou termolábeis. O estado físico do leite também representa um elemento ponderável na eficiência da pasteurização.

Vimos, portanto, como é importante para a constituição dum padrão bacteriológico o número de germes que contem o leite crú, acrescidos ainda dos comentários que fizemos no capítulo anterior.

Em estudos praticados no laboratório da Inspetoria do Leite, chegamos à conclusão de que o coeficiente da pasteurização, entre nós, varia de 90 a 99%, aproximadamente.

Em condições equivalentes, podemos dizer que um leite crú que contem um maior número de germes que um outro, conterà após a pasteurização, ainda um número maior que este outro.

Conhecidos e recapitulados estes fatos indispensáveis a uma boa compreensão dos dados, vamos estudar o gráfico em questão.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites pasteurizados no Interior e colhidas as amostras lá mesmo, nas diferentes classes, com a porcentagem respectiva.

Total das contagens	Resultados incontáveis	Frequência do conjunto de procedências	Classes
11	—	10 ou 90,90%	de 0 a 500.000 90,90%
		—	de 500.001 a 1.000.000
		—	de 1.000.001 a 1.500.000
		1 ou 9,09%	de 1.500.001 a 2.000.000
		—	de 2.000.001 a 2.500.000
		—	de 2.500.001 a 3.000.000
		—	de 3.000.001 a 3.500.000
		—	de 3.500.001 a 4.000.000
		—	de 4.000.001 a 4.500.000
		—	de 4.500.001 a 5.000.000
		—	de 5.000.001 a 10.000.000
		—	de 10.000.001 a 15.000.000
		—	de 15.000.001 a 20.000.000
		—	de 20.000.001 a 25.000.000
		—	de 25.000.001 a 30.000.000

Tábua estatística representando a sub-divisão da classe 0 a 500.000 da tábua acima.

Total das contagens	Frequência do conjunto de procedências	Classes	
10	7 ou 70,00%	de 0 a 25.000	90.0%
	2 ou 20,00%	de 25.001 a 50.000	
	—	de 50.001 a 75.000	
	—	de 75.001 a 100.000	
	—	de 100.001 a 125.000	
	1 ou 10,00%	de 125.001 a 150.000	
	—	de 150.001 a 175.000	
	—	de 175.001 a 200.000	
	—	de 200.001 a 250.000	
	—	de 250.001 a 300.000	
	—	de 300.001 a 350.000	
	—	de 350.001 a 400.000	
	—	de 400.001 a 450.000	
	—	de 450.001 a 500.000	

Como vemos a maioria, dos resultados encaixou-se na primeira classe de 0-500.000, com uma porcentagem de 90,90%. Afim de se estudar melhor o gráfico e, como houve forte condensação dos resultados na 1.^a classe, resolvemos subdividir esta primeira classe num quadro ao lado. Observamos que 70,00% dos resultados acham-se na classe 0-25.000, e 20% na seguinte, de 25.001-50.000.

Sabemos, no entanto, que este leite, antes de ser pasteurizado, apresenta um número de germes aproximado de quasi 4.000.000, o que dá um coeficiente de pasteurização de mais de 99,00%. Também convem salientar que este leite ao ser pasteurizado possui pouca idade, pois as Usinas acham-se em geral situadas nas zonas próximas da produção. Vem a pasteurização agir como medida higiênica de primeiríssima ordem, impedindo uma maior proliferação da flora bacteriana. Pena seja que as medidas higiênicas não se prolonguem acompanhando o leite até a Capital, como veremos no próximo capítulo.

Houve ao mesmo tempo uma melhoria do índice coli, tornando-se mesmo algumas pesquisas negativas, como vemos no quadro abaixo:

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
N.º de análises (11)	—	1	4	2	1
Porcentagem	—	9,09%	36,3%	18,1%	9,09%

N.º total de pesquisas	11
Pesquisas positivas	8 — 74,6%
Pesquisas negativas	3 — 25,4%

Boas são, portanto, as análises dos leites pasteurizados no Interior, cujas amostras foram colhidas lá mesmo.

Veremos no Capítulo seguinte como se comporta este mesmo leite depois de sofrer a viagem para a Capital.

4.º CAPÍTULO

LEITES PASTEURIZADOS NO INTERIOR E COLHIDAS AS AMOSTRAS NA CAPITAL

Conhecido o estado bacteriológico do leite logo após a sua pasteurização no Interior, passemos a estudar este mesmo produto quando dá entrada nas Usinas da Capital.

Devemos, no entanto, para justeza de raciocínio, fazer um rápido exame de como se processa este transporte para a Capital.

Com exceção de uma procedência que vem para a Capital já engarrafado, todo o leite restante é transportado em latas de 50 litros. Estas latas já vêm lavadas e vaporizadas da Capital e no Interior são novamente lavadas e conservadas até o seu enchimento, de boca para cima. Desta forma, sempre em seu fundo persiste uma certa quantidade de água residual, conforme constatamos em várias viagens de inspeção que durante o serviço tivemos ocasião de praticar. O exame desta água residual, verdadeiro caldo de cultura, revelava um número de germes excessivo, em geral com mais de 300 colônias na placa de diluição de 1/100 mil.

Estamos de acordo, portanto, com a maioria, si não todos, os autores estrangeiros e nacionais, e para citar alguns, como Heine-man (The Milk — pg. 314), Moreno (Le Leche — pg. 134), M. J. Ferreira e João de Barros Barreto (Inquérito, sob o ponto de vista higiênico, do leite fornecido ao Rio de Janeiro. Trabalho apresentado ao 3.º Congresso Brasileiro de Higiene). O leite, já pasteurizado, vinha misturar-se com este resíduo aquoso rico em bactérias e destruir em segundos o que a pasteurização tanto conseguiu. Convem lembrar que também nesta água residual encontramos indícios de poluição, evidenciados pela presença de organismo do grupo *Escherichia-aerobacter*. As latas por sua vez não têm um fecho hermético, e durante o transporte, por intermédio dele, dá-se uma contínua contaminação do produto. Sofrem as latas também batidas e choques de toda espécie, constituindo-se mossa maiores ou menores que dificultam a limpeza das mesmas.

Por sua vez o transporte é feito em condições precárias, em geral. Já dissemos em capítulo anterior a morosidade do trem leiteiro na zona Norte. Nas demais zonas, o transporte é quasi sempre mais rápido, porem constituem zonas de pequena produção em relação à da Central.

Carros frigoríficos de boa construção, só os possui a Cia Paulista, mas, mesmo nestes, o carregamento de gelo é em geral insuficiente para manter a temperatura interior dos carros, próxima de zero. Em quasi todos os casos, é o frio do leite enlatado que vem resfriar o carro, chegando habitualmente o produto a S. Paulo com temperatura pouco recomendada pelas medidas higiênicas.

São essas as condições em que o leite pasteurização é transportado para a Capital. Da mesma forma acontece com o leite que vem cru do Interior.

Imaginado pelo exposto, não poderiam ser boas as condições bacteriológicas desse leite. Vem ele sofrendo uma contínua contaminação, e encontrando esta meio ótimo e temperatura adequada ao bom desenvolvimento bacteriano. Há exceção somente para o leite que já vem engarrafado do interior, conforme veremos em outro capítulo.

Estudemos agora o gráfico das análises bacteriológicas desse tipo de leite.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites pasteurizados no Interior, cujas amostras foram colhidas na Capital, nas diferentes classes, com a porcentagem respectiva.

Total das contagens	Resultados incontáveis	Frequência do conjunto de procedências	Classes	
55	—	33 ou 60,00%	de 0 a 500.000	85,45%
		5 ou 9,09%	de 500.001 a 1.000.000	
		4 ou 7,27%	de 1.000.001 a 1.500.000	
		5 ou 9,09%	de 1.500.001 a 2.000.000	
		—	de 2.000.001 a 2.500.000	
		4 ou 7,27%	de 2.500.001 a 3.000.000	
		—	de 3.000.001 a 3.500.000	
		1 ou 1,81%	de 3.500.001 a 4.000.000	
		1 ou 1,81%	de 4.000.001 a 4.500.000	
		—	de 4.500.001 a 5.000.000	
		1 ou 1,81%	de 5.000.001 a 10.000.000	
		1 ou 1,81%	de 10.000.001 a 15.000.000	
		—	de 15.000.001 a 20.000.000	
		—	de 20.000.001 a 25.000.000	
—	de 25.000.001 a 30.000.000			

Tábua estatística representando a sub-divisão da classe de 0 a 500.000 da tábua acima

Total das contagens	Frequência do conjunto de procedências	Classes	
33	1 ou 3,03%	de 0 a 25.000	93,93%
	5 ou 15,15%	de 25.001 a 50.000	
	2 ou 6,06%	de 50.001 a 75.000	
	6 ou 18,18%	de 75.001 a 100.000	
	1 ou 3,03%	de 100.001 a 125.000	
	2 ou 6,06%	de 125.001 a 150.000	
	2 ou 6,06%	de 150.001 a 175.000	
	3 ou 9,09%	de 175.001 a 200.000	
	3 ou 9,09%	de 200.001 a 250.000	
	1 ou 3,03%	de 250.001 a 300.000	
	2 ou 6,06%	de 300.001 a 350.000	
	4 ou 12,12%	de 350.001 a 400.000	
	—	de 400.001 a 450.000	
1 ou 3,03%	de 450.001 a 500.000		

Como vemos, a maior parte das contagens, 85,45%, acham-se enquadradas nas quatro primeiras classes, isto é, até 2.000.000, com 60% delas condensadas na primeira classe até 500.000. Na sub-divisão dessa classe em outras menores, conforme nos mostra o quadro acima, a maioria das contagens, 93,93%, acham-se entre as classes de 50.001 a 400.000, afastando-se bem do gráfico semelhante exposto no capítulo precedente, onde a maioria das contagens se enquadra na classe de 0-25.000.

É bem claro o que acabo de expor, pois sabemos como é transportado este leite para S. Paulo.

Si, porem, as condições de transporte fossem melhoradas, quanto ao acondicionamento, quanto à temperatura e quanto ao tempo de transporte, fatalmente este leite chegaria em outras condições. É uma medida que se impõe, pois, sendo este leite já pasteurizado, e não indo sofrer outro processo de higienização do que um resfriamento, toda a contaminação que houver, poderá ter consequências graves, sabendo-se ser o leite um produto básico na alimentação dos adultos e crianças. É princípio assentado em higiene leiteira que um leite pasteurizado não deverá sofrer mais manipulações afóra o engarrafamento.

Para corroborar como o que acabamos de expor, damos o gráfico de presença de elementos do grupo coli, que seria de toda conveniência comparar com o do capítulo anterior.

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
N.º de análises (36) ..	—	4	12	14	6
Porcentagem	—	11,11%	33,33%	38,88%	16,66%

N.º total de pesquisas 36
 Pesquisas positivas 36 — 100%

5.º CAPÍTULO

LEITES PASTEURIZADOS NA CAPITAL

Merece certa atenção o estudo deste capítulo. Como sabemos, ao chegar na Capital, a maioria do leite cru que vai ser pasteurizado acha-se com as contagens bacteriológicas acima de 5.000.000. São precisamente 72,58% desses leites, conforme estudamos no Capítulo 2.

Si examinarmos o quadro que damos abaixo, vemos que após a pasteurização estes leites revelam contagens em geral muito boas, as exceções são devidas a descuidos de técnica, perfeitamente sanáveis, como tivemos ocasião de provar em diferentes vistorias e que constam de relatórios especiais de serviço.

São 85,71% dos resultados que se acham na classe até 500.000, e mesmo nesta classe, 75% acham-se nas duas primeiras classes da sub-divisão feita dessa primeira classe.

Ainda poderíamos obter resultados muito melhores si se exigisse um pouco mais de cuidado e para que isto acontecesse, bastaria o estabelecimento do padrão provisório para estimular um aperfeiçoamento técnico e vontade de produzir bom produto. Este padrão deveria ser o mesmo que o proposto para o leite pasteurizado no interior, isto é, 100.000 germes por cc., mesmo porque este leite antes de pasteurizar deveria obedecer às mesmas restrições que as exigidas para o pasteurizado no Interior.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites pasteurizados na Capital, nas diferentes classes e com a respectiva porcentagem

Total das contagens	Frequência nas classes	Classes	
14	12 ou 85,71%	de 0 a 500.000	85,71%
	1 ou 7,14%	de 500.001 a 1.000.000	
	—	de 1.000.001 a 1.500.000	
	—	de 1.500.001 a 2.000.000	
	1 ou 7,14%	de 2.000.001 a 2.500.000	
	—	de 2.500.001 a 3.000.000	
	—	de 3.000.001 a 3.500.000	
	—	de 3.500.001 a 4.000.000	
	—	de 4.000.001 a 4.500.000	
	—	de 4.500.001 a 5.000.000	
	—	de 5.000.001 a 10.000.000	
	—	de 10.000.001 a 15.000.000	
	—	de 15.000.001 a 20.000.000	
	—	de 20.000.001 a 25.000.000	
—	de 25.000.001 a 30.000.000		

Tábua estatística representando a sub-divisão da classe de 0 a 500.000 da tábua acima

Total das contagens	Frequência do conjunto de procedências	Classes	
12	4 ou 33,33%	de 0 a 25.000	75,00%
	5 ou 41,66%	de 25.001 a 50.000	
	1 ou 8,33%	de 50.001 a 75.000	
	—	de 75.001 a 100.000	
	—	de 100.001 a 125.000	
	1 ou 8,33%	de 125.001 a 150.000	
	—	de 150.001 a 175.000	
	—	de 175.001 a 200.000	
	—	de 200.001 a 250.000	
	1 ou 8,33%	de 250.001 a 300.000	
	—	de 300.001 a 350.000	
	—	de 350.001 a 400.000	
	—	de 400.001 a 450.000	
	—	de 450.001 a 500.000	

Mas como se poderia exigir para este leite as mesmas condições que aquele estudado no Capítulo 3 e 4? Com o aperfeiçoamento da manipulação, do transporte e da produção.

Isto é tudo, é verdade, porem julgamos que o aperfeiçoamento terá que vir gradativamente, razão pela qual defendemos o sistema dos padrões provisórios até o estabelecimento do definitivo. Naturalmente que algumas modificações teriam que ser introduzidas pelos estabelecimentos diversos, mas não estavam eles já fazendo muitas delas, bem radicais até, obedecendo e aquiescendo às imposições da Inspetoria? A finalidade da Inspetoria era cumprir a lei em vigor, dentro de sua própria autonomia e naquilo que dela dependia somente.

Estas medias obrigaríam aos usineiros a procurar o leite num rádio mais curto da Capital, trazendo incontestáveis vantagens com isso à higiene do leite. O tempo de ordenha é um fator de primeira importância na qualidade do leite.

— Voltando ao estudo do gráfico deste capítulo, e comparando-o com aquele do Capítulo 3, vemos neles uma grande semelhança.

Semelhança, digo, mas são em realidade de qualidades bem diferentes.

Aqueles pasteurizados no Interior têm algumas horas de ordenha e um número de germes que raramente ultrapassa o limite dos 4.000.000. O pasteurizado aqui na Capital, além dos germes que já continha no Interior, é acrescido de outros durante o transporte e todos eles multiplicados várias vezes, devido a temperatura ser favorável a isto. A pasteurização aqui dá-se também após muitas horas de ordenha, sofrendo o leite aquelas transformações que a pasteurização em absoluto não corrige, como estudamos no Capítulo 2.

Como vemos, a qualidade do leite pasteurizado depende de inúmeros fatores. Não é uma escolha arbitrária desta ou daquela modalidade no modo e local da pasteurização que resolve o problema. Para fazê-lo precisamos meditar e conhecer bem as nossas condições, as nossas possibilidades de êxito imediato neste ou naquele ponto, e só então é que devemos optar por um determinado caminho.

Ter sempre em mente que tudo entre nós está no começo e manda o bom senso que se investigue primeiro para em seguida, com dados seguros, executar.

— Como nos demais capítulos, daremos abaixo um quadro resumo da presença dos elementos do grupo colí neste leite pasteurizado.

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
N.º de pesquisas (14) .	5	1	3	—	—
Porcentagem	35,7%	7,1%	21,4%	—	—

N.º de pesquisas	14
Pesquisas positivas	9 — 64,2%
Pesquisas negativas	5 — 35,7%

6.º CAPÍTULO

LEITE ENGARRAFADO DESTINADO AO CONSUMO.

No estudo dos capítulos anteriores verificamos que há diferentes espécies de leites dentro do mesmo tipo C, diferentes em se levando em conta o tipo de pasteurização, o número de horas que medeia entre a ordenha e a pasteurização e o número de germes que cada um desses leites forneceu antes de pasteurizar.

Assim sendo, podemos dispor em três tipos os leites engarrafados destinados ao consumo:

1.º tipo — Leite pasteurizado no Interior, na própria zona de produção, engarrafado lá mesmo e distribuído ao consumo na Capital.

2.º tipo — Leite vindo cru do Interior, pasteurizado na Capital, e imediatamente engarrafado para distribuição ao consumo.

3.º tipo — Leite pasteurizado no Interior, enviado em latas para a Capital, sofrendo aí novo resfriamento e em seguida engarrafado para distribuição ao consumo.

Conhecedores dos detalhes acima, podemos melhor interpretar os resultados grupados nos gráficos e estabelecer a discussão entre eles.

Insisto na lembrança de que os dados que estão sendo expostos referem-se aos anos de 1934 (Agosto) até 1937 (Dezembro).

1.º TIPO

Leite pasteurizado no Interior, na própria zona de produção, engarrafado lá mesmo e distribuído ao consumo na Capital.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites pasteurizados e engarrafados no Interior e as amostras colhidas na distribuição ao consumo, na Capital

Total das contagens	Resultados incontáveis	Frequência do conjunto de amostras	Classes	
116	7 ou 6,03%	95 ou 81,89%	de 0 a 500.000	81,89%
		6 ou 5,17%	de 500.001 a 1.000.000	
		2 ou 1,72%	de 1.000.001 a 1.500.000	
		—	de 1.500.001 a 2.000.000	
		1 ou 0,86%	de 2.000.001 a 2.500.000	
		3 ou 2,58%	de 2.500.001 a 3.000.000	
		—	de 3.000.001 a 3.500.000	
		—	de 3.500.001 a 4.000.000	
		—	de 4.000.001 a 4.500.000	
		—	de 4.500.001 a 5.000.000	
		—	de 5.000.001 a 10.000.000	
		1 ou 0,86%	de 10.000.001 a 15.000.000	
		1 ou 0,86%	de 15.000.001 a 20.000.000	
		—	de 20.000.001 a 25.000.000	
		—	de 25.000.001 a 30.000.000	

Tábua estatística representando a sub-divisão da classe de 0 a 500.000 da tábua acima

Total das contagens	Frequência do conjunto de amostras	Classes	
95	48 ou 50,52%	de 0 a 25.000	67,36%
	16 ou 16,84%	de 25.001 a 50.000	
	7 ou 7,36%	de 50.001 a 75.000	
	6 ou 6,31%	de 75.001 a 100.000	
	6 ou 6,31%	de 100.001 a 125.000	
	2 ou 2,10%	de 125.001 a 150.000	
	2 ou 2,10%	de 150.001 a 175.000	
	1 ou 1,05%	de 175.001 a 200.000	
	2 ou 2,10%	de 200.001 a 250.000	
	2 ou 2,10%	de 250.001 a 300.000	
	—	de 300.001 a 350.000	
	1 ou 1,05%	de 350.001 a 400.000	
	1 ou 1,05%	de 400.001 a 450.000	
	1 ou 1,05%	de 450.001 a 500.000	

Quadro representativo da presença dos elementos do grupo *Escherichia-aerobacter* nas diferentes diluições

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
Pesquisas positivas	16	23	42	14	1
Porcentagem	16,00%	23,00%	42,00%	14,00%	1,00%

Total das pesquisas	100
Pesquisas positivas	96 — 96,00%
Pesquisas negativas	4 — 4,00%

CONDIÇÕES DE MANIPULAÇÃO:

a) Local de pasteurização: Interior, na própria zona de produção.

b) Sistema de pasteurização: Sistema rápido até Outubro de 1937, e daí para cá, pasteurização em placas.

c) Acondicionamento e transporte: Acondicionado em garrafas no próprio local da pasteurização e transportado para a Capital em carros frigoríficos.

d) Consumo: Na Capital, em geral 24 horas após a ordenha.

Uma análise da tábua estatística junto chama logo a atenção para o maior grupamento dos resultados na classe de 0-500.000, e dentro dessa classe, 67,36% dos resultados acham-se enquadrados até as classes de 50.000.

Indiscutivelmente as condições técnicas desse leite são bem satisfatórias, visto haver o afastamento de qualquer outra manipulação do produto após a pasteurização, com exceção do engarrafamento.

O leite chegado às Usinas do Interior têm pouca idade, de sorte que sendo pasteurizado nessas condições, o produto é beneficiado com contagens bacterianas relativamente baixas, não havendo tempo para uma desintegração em massa das albuminas em albumoses e peptonas, produtos esses que podem provocar perturbações de caráter tóxico.

Sendo engarrafado logo após a pasteurização, tecnicamente vem preencher os requisitos exigidos pela higiene leiteira, não sendo mais possível haver recontaminações durante o transporte. Desde que

as condições ótimas de temperatura sejam mantidas desde o engarrafamento, os resultados bacteriológicos têm que ser bons. Aperfeiçoar ainda mais este sistema é relativamente fácil, visto acharem-se centralizados num só local todas as fases de manipulações.

O inconveniente desse processo é ser ele dificilmente adaptável às condições gerais de coleta e pasteurização do leite, vindo das fazendas porque a maioria dos leites enviados à Capital passam por inúmeras Usinas do Interior. Para adotar o sistema, cada Usina deveria ter maquinaria completa para permitir o engarrafamento "in loco", tornando-se dispendioso e talvez de difícil execução.

Estudos poderiam ser feitos nesse sentido, mas qualquer que seja o resultado, não vem ele invalidar o conceito que aqui emitimos sobre o valor do processo.

2.º TIPO

Leite vindo cru do Interior, pasteurizado na Capital e imediatamente engarrafado para distribuição ao consumo.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites pasteurizados e engarrafados na Capital e as amostras colhidas na distribuição ao consumo

Total das contagens	Resultados incontáveis	Frequência do conjunto de amostras	Classes	
270	1 ou 0,37%	255 ou 94,44%	de 0 a 500.000	94,44%
		8 ou 2,96%	de 500.001 a 1.000.000	
		3 ou 1,11%	de 1.000.001 a 1.500.000	
		1 ou 0,37%	de 1.500.001 a 2.000.000	
		1 ou 0,37%	de 2.000.001 a 2.500.000	
		—	de 2.500.001 a 3.000.000	
		—	de 3.000.001 a 3.500.000	
		—	de 3.500.001 a 4.000.000	
		—	de 4.000.001 a 4.500.000	
		—	de 4.500.001 a 5.000.000	
		—	de 5.000.001 a 10.000.000	
		1 ou 0,37%	de 10.000.001 a 15.000.000	
		—	de 15.000.001 a 20.000.000	
		—	de 20.000.001 a 25.000.000	
—	de 25.000.001 a 30.000.000			

Tábua estatística representando a sub-divisão da classe de 0 a 500.000 da tábua acima

Total das contagens	Frequência do conjunto de amostras	Classes	
255	72 ou 28,23%	de 0 a 25.000	60,39%
	82 ou 32,15%	de 25.001 a 50.000	
	26 ou 10,19%	de 50.001 a 75.000	
	24 ou 9,41%	de 75.001 a 100.000	
	11 ou 4,31%	de 100.001 a 125.000	
	12 ou 4,70%	de 125.001 a 150.000	
	5 ou 1,96%	de 150.001 a 175.000	
	3 ou 1,17%	de 175.001 a 200.000	
	3 ou 1,17%	de 200.001 a 250.000	
	4 ou 1,56%	de 250.001 a 300.000	
	2 ou 0,78%	de 300.001 a 350.000	
	6 ou 2,35%	de 350.001 a 400.000	
	2 ou 0,78%	de 400.001 a 450.000	
	3 ou 1,17%	de 450.001 a 500.000	

Quadro representativo da presença de elementos do grupo *Escherichia-aerobacter* nas diferentes diluições

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
Pesquisas positivas	72	119	47	3	1
Porcentagem	29,14%	48,17%	19,02%	1,21%	0,40%

Total das pesquisas	247
Pesquisas positivas	242 97,97%
Pesquisas negativas	5 — 2,02%

CONDIÇÕES DE MANIPULAÇÃO:

a) Local de pasteurização: Capital, longe do local da produção, que é o Interior.

b) Sistema de pasteurização: Sistema lento. Uma parte das amostras, até princípios de 1936, eram de leites pasteurizados no Interior e engarrafados na Capital.

c) Acondicionamento e transporte: Resfriado no Interior. Transportado para a Capital em latões e engarrafados logo após a pasteurização. Carros frigoríficos de má construção.

d) Consumo: Na Capital, em geral 36 horas ou mais após a ordenha.

O estudo da tábua anexa demonstra haver, como no caso anterior, um agrupamento dos resultados na 1.^a classe de 0-500.000, e nas duas primeiras, até 50.000, da sub-divisão da classe de 0-500.000.

Aparentemente possui este tipo de leite, sob o ponto de vista higiênico, a mesma qualidade que o tipo anterior, mas tal não é a verdade, si levarmos em consideração o que expuzemos nos Capítulos anteriores. Vem ele crú para a Capital, em más condições de transporte e temperatura, alcançando os resultados bacteriológicos feitos em amostras tiradas aqui, a cifras de muitos milhões. Ora, a pasteurização reduz o número de germes, mas não reintegra o produto nas suas condições originais, visto já haver sofrido transformações bio-químicas de valor apreciável.

Para que este tipo de leite fosse semelhante ao precedente, seria necessário que ao ser pasteurizado na Capital, contivesse o

mesmo número de germes do que o pasteurizado e engarrafado no Interior. Isto, na verdade, não acontecia na ocasião em que foram coletados estes dados, e creio que não acontece ainda hoje, porque as condições de transporte do leite ainda são as mesmas.

Em algumas amostras, o índice coli esteve ausente, mas em porcentagem inferior que a do leite engarrafado no Interior.

3.º TIPO

Leite pasteurizado no Interior enviado em latas para a Capital, sofrendo aí novo resfriamento e em seguida engarrafado para distribuição ao consumo.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites pasteurizados no Interior e transportados para a Capital afim de serem resfriados novamente e engarrafados para distribuição ao consumo. Amostras colhidas na distribuição

Total das contagens	Resultados incontáveis	Frequência nas classes	Classes
490	13 ou 2,65%	118 ou 24,08%	de 0 a 500.000
		65 ou 13,26%	de 500.001 a 1.000.000
		51 ou 10,40%	de 1.000.001 a 1.500.000
		31 ou 6,32%	de 1.500.001 a 2.000.000
		16 ou 3,26%	de 2.000.001 a 2.500.000
		47 ou 9,59%	de 2.500.001 a 3.000.000
		16 ou 3,26%	de 3.000.001 a 3.500.000
		23 ou 4,69%	de 3.500.001 a 4.000.000
		9 ou 1,83%	de 4.000.001 a 4.500.000
		17 ou 3,46%	de 4.500.001 a 5.000.000
		56 ou 11,42%	de 5.000.001 a 10.000.000
		15 ou 3,06%	de 10.000.001 a 15.000.000
		7 ou 1,42%	de 15.000.001 a 20.000.000
		3 ou 0,61%	de 20.000.001 a 25.000.000
3 ou 0,61%	de 25.000.001 a 30.000.000		

Tábua estatística representando a sub-divisão da classe de 0 a 500.000 da tábua acima

Total das contagens	Frequência nas classes	Classes
118	4 ou 3,38%	de 0 a 25.000
	8 ou 6,77%	de 25.001 a 50.000
	3 ou 2,54%	de 50.001 a 75.000
	7 ou 5,93%	de 75.001 a 100.000
	2 ou 1,69%	de 100.001 a 125.000
	10 ou 8,47%	de 125.001 a 150.000
	5 ou 4,23%	de 150.001 a 175.000
	12 ou 10,16%	de 175.001 a 200.000
	13 ou 11,01%	de 200.001 a 250.000
	16 ou 13,55%	de 250.001 a 300.000
	11 ou 9,32%	de 300.001 a 350.000
	11 ou 9,32%	de 350.001 a 400.000
	6 ou 5,08%	de 400.001 a 450.000
	10 ou 8,47%	de 450.001 a 500.000

Quadro representativo da presença de elementos do grupo *Escherichia-aerobacter*, nas diferentes diluições

	Posit. 1 cc.	Posit. 1/10	Posit. 1/100	Posit. 1/1.000	Posit. 1/10.000
Pesquisas positivas	1	5	99	129	188
Porcentagem	0,23%	1,18%	23,40%	30,49%	44,44%

Total das pesquisas	423
Pesquisas positivas	422 — 99,77%
Pesquisas negativas	1 — 0,23%

CONDIÇÕES DE MANIPULAÇÃO:

a) Local de pasteurização): No Interior, raramente era pasteurizado na Capital.

b) Sistema de pasteurização: Sistema rápido. Quando pasteurizado na Capital, o sistema utilizado era o lento.

c) Acondicionamento e transporte: Enlatado no Interior, após a pasteurização e transportado para a Capital em carros frigoríficos de má construção.

Resfriado na Capital e engarrafado para entrega ao consumo.

d) Consumo: Na Capital, em geral 36 horas ou mais, após a ordenha.

Não podemos separar nenhuma das classes ou grupo de classes do quadro anexo, como contendo um número razoável de análises. Estas se distribuem quase que uniformemente em todas as classes, demonstrando haver uma oscilação das contagens bacterianas, evidenciando falta de uniformidade nas técnicas de manipulação adotadas.

Encontramos nos dois primeiros tipos estudados resultados elevados, mas em número relativamente menores, fato que se pode considerar como esporádico e, como tal, passível de afastamento.

É inconcebível que um leite após a pasteurização possa sofrer um transporte em más condições, em latas com água residual rica em germes, e mal vedadas, ser novamente manipulado na Capital, atravessando filtros metálicos, canos de longa metragem, e a superfície exposta e canelada de um resfriador.

Os dados que acabamos de expor são reais, claros e precisos, não dando ensejo a outras interpretações e merecem meticoloso estudo.

A teoria já fazia supor quais seriam os resultados práticos, mas não poderiam ser mais confirmadores do que foram.

Em resumo, os leites tipo C, engarrafados e examinados quando distribuídos ao consumo, revelaram contagens bacterianas variadas.

O estudo comparativo desses resultados numéricos, não nos esclarece sobre a qualidade do leite, da mesma forma que uma água cristalina não garante pureza alguma.

Mas si estudarmos os resultados desses exames, levando-se em conta a história do leite, então teremos elementos de sobra para um julgamento razoável, justo e sanitário.

Diante do exposto, passemos à discussão geral sobre o padrão bacteriológico.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Na exposição que acabamos de fazer procuramos sistematizar o assunto de forma a permitir uma perfeita compreensão da matéria.

Resolvidos como estávamos em solucionar o problema dos padrões bacteriológicos, procuramos com nossa orientação, acompanhar o leite desde a sua chegada às Usinas do Interior até a sua distribuição ao consumo.

Dessa maneira, poderíamos aquilatar qualquer modificação havida no produto e dependente dessa ou daquela fase de manipulação. Estudados estes detalhes, fácil seria, quando já tivessem sido estabelecidos os primeiros padrões bacteriológicos, corrigir as falhas que por ventura viessem incidir durante a higienização do produto.

Repassando o que foi dito, assinalamos alguns dados que nos pareceram de relevância, pois para um estudo perfeito sobre o assunto, não podemos prescindir de nenhum fator que esteja intimamente ligado à manipulação do produto.

O estudo de uma única fase de manipulação, nada mais representa que algarismos esparsos, sem ligação alguma com o conjunto do problema.

Si considerassemos apenas os resultados das contagens bacteriológicas do leite chegado às Usinas de pasteurização, ficaríamos

sem saber como este leite se apresentaria após esta higienização, o mesmo acontecendo si examinássemos o produto no Interior e não fizéssemos o mesmo ao chegar à Capital.

Para se estabelecer um conceito exato de um leite que é entregue ao consumo, é imprescindível conhecê-lo desde a sua ordenha até o acondicionamento final, sem esquecer o número de horas que medeia entre a ordenha e a pasteurização e entre esta ordenha e a entrega ao consumo. O sistema de pasteurização, a temperatura durante o transporte e as contagens bacteriológicas, têm que corroborar para o parecer final. É o verdadeiro inquérito sanitário.

Porisso, levar em conta somente o número de germes que um leite possui após a pasteurização é o mesmo que querer julgar um germe pelo seu aspecto morfológico. É indispensável para classificar um leite, conhecer, entre outros fatores, o número de germes que ele possui antes e depois da pasteurização.

Com a mesma quota bacteriana depois da pasteurização, é melhor o leite que possui menor número de germes antes de pasteurizar.

Cremos que este é um ponto pacífico em higiene leiteira, e o consideramos como tal.

Qual seria a orientação para se firmar o padrão bacteriológico, ante os dados que atrás expuzemos?

- 1 — Fixar o número de germes do leite antes de pasteurizar.
- 2 — Fixar o número de germes do mesmo leite após a pasteurização.
- 3 — Fixar o número de horas que medeia entre a ordenha e a pasteurização.
- 4 — Fixar o número de horas que medeia entre a ordenha e a entrega ao consumo.

Esses são os pontos gerais e básicos.

O primeiro passo a tomar, decorrente dos estudos que fizemos, seria fixar em 2.000.000 milhões o máximo de germes para o leite cru tipo C antes de pasteurizar. À primeira vista este número pode parecer excessivo, como realmente o é, mas, revendo a tábua estatística do 1.º Capítulo, verificamos que 75,00% dos leites chegados às Usinas do Interior acham-se enquadrados nas classes até 4.000.000, inclusive. Fixando o máximo em 2.000.000, não seríamos rigorosos nem excessivamente benevolentes, mas estabeleceríamos um padrão acessível e fácil de ser obtido com algumas medidas coercitivas e educativas. Uma vez todos os leites chegados

às Usinas do Interior estivessem dentro do padrão, novo padrão seria fixado, até chegarmos ao padrão definitivo, sem passarmos abruptamente a este último. Haveria uma melhora gradativa, mas segura, sem levantar celêumas da parte dos interessados.

Em seguida, medidas sanitárias seriam tomadas afim de trazer à Capital este produto crú, de forma a não ultrapassar o padrão fixado para o Interior. Ou, caso não fosse isso possível, deveria ser ele pasteurizado no Interior e exigido um transporte para a Capital de forma adequada a impedir recontaminações durante o percurso.

O padrão a ser adotado para o leite pasteurizado e engarrafado, colhidas amostras durante a entrega ao consumo, segundo os nossos estudos, deveria ser de 100.000, e, com isto, o serviço seria pouco rigoroso, pois, revendo as tábuas estatísticas do 6.º Capítulo, verificamos que os 1.º e 2.º tipos enquadram-se com folga neste padrão. Os leites correspondentes ao 3.º tipo estariam muito fora do padrão, mas medidas educativas e coercitivas deveriam ser tomadas de forma a obrigar os usineiros a chegarem com o seu produto nas condições mínimas exigidas pelo padrão provisório.

O termo "benevolente" que empregamos algumas vezes atrás, não quer dizer "fraqueza" ou pouco caso para com a saúde pública. Benevolência, seria no sentido de colaboração, cabendo ao serviço dar assistência técnica quando este julgasse necessário. Foi o que fiz por muitas vezes por solicitação dos interessados.

A colaboração do serviço seria sempre no sentido educativo, assumindo com as responsabilidades próprias das suas determinações, perfeitamente factíveis com os ditames técnicos.

Para que o serviço de fiscalização pudesse exigir determinado padrão, seria obrigatório que ele estivesse aparelhado e em condições de fornecer ensinamentos precisos, capazes de impor sua autoridade técnica.

É preciso exigir, mas saber exigir, para não voltar atrás ou deixar de cumprir uma lei por inexequivel.

As duas últimas condições que expuzemos atrás, referentes ao número de horas que medeia entre a ordenha e a pasteurização e entre aquela e o consumo, deveriam ser fixadas também com critério técnico. Nas condições atuais, grande parte do leite vem de zonas distantes, sujeitas à morosidade dos atuais trens leiteiros e a suas variações de horários. Melhorados estes fatores, aquele número de horas deveria ser reduzido. Demais, o incentivo da

produção leiteira em zonas próximas à Capital, viria beneficiar enormemente as condições de distribuição de um leite bom.

Em resumo, a obtenção de um leite bom, depende dos fatores que passamos em revista rapidamente. O esforço para melhoria deveria ser dirigido para o conjunto das parcelas desse todo, e nunca para uma só delas.

Não devemos nos esquecer de que é o leite um produto facilmente deteriorável, e que uma vez isso acontecido, não há pasteurização que o reintegre às suas condições originais.

APÊNDICE

Os estudos que acabamos de expor foram feitos de Agosto de 1934 a Dezembro de 1937. Só agora nos foi possível trazer à luz. No entanto, a lei em que nos baseamos e durante a qual efetuamos os estudos, Dec. 6.603, de 11 de Agosto de 1934, não mais está em execução.

O Dec. 10.395 de 26 de Julho de 1939, modificado pelo Dec. 10.657 de 31 de Outubro do mesmo ano, reza em seu Art. 261: "entende-se por leite pasteurizado tipo C, o que, produzido e submetido à pasteurização em outros municípios produtores, for engarrafado nos locais onde for consumido e satisfizer às seguintes condições:

- a) ser distribuído ao consumidor dentro de 36 horas, a contar da pasteurização;
- c) conter, no máximo, 500.000 germes por centímetro cúbico;
- d) apresentar prova de redutase não inferior a 5½ horas para o início da descoloração."

Pedimos vênias para nos reportar ao que atrás foi dito, que serve como discussão sobre o artigo citado.

Em seguida, daremos uma tábua estatística sobre as contagens bacteriológicas efetuadas em 1939 e 1940, constante dos livros de análises arquivadas no Instituto Adolfo Lutz.

A confecção da tábua obedeceu ao mesmo critério das anteriores, afim de facilitar uma comparação.

LEITES TIPO C

Resultados das contagens feitas de 1939 a 1940
 Grupamento nas classes
 Sob a vigência do Dec. 10. 395 de 26-7-1939

N.º de amostras	Resultados incontáveis	Frequência nas classes	Classes
504	10 ou 1,98%	428 ou 84,92%	de 0 a 500.000
		27 ou 5,35%	de 500.001 a 1.000.000
		5, ou 0,99%	de 1.000.001 a 1.500.000
		6 ou 1,19%	de 1.500.001 a 2.000.000
		6 ou 1,19%	de 2.000.001 a 2.500.000
		6 ou 1,19%	de 2.500.001 a 3.000.000
		4 ou 0,79%	de 3.000.001 a 3.500.000
		—	de 3.500.001 a 4.000.000
		2 ou 0,39%	de 4.000.001 a 4.500.000
		3 ou 0,59%	de 4.500.001 a 5.000.000
		1, ou 0,19%	de 5.000.001 a 10.000.000
		2 ou 0,39%	de 10.000.001 a 15.000.000
		—	de 15.000.001 a 20.000.000
		2 ou 0,39%	de 20.000.001 a 25.000.000
		2 ou 0,39%	de 25.000.001 a 30.000.000

Sub-divisão da classe de 0 a 500.000 da tábua acima

N.º de amostras	Frequência nas classes	Classes		
428	98 ou 22,89%	de 0 a 25.000	41,34%	81,03%
	79 ou 18,45%	de 25.001 a 50.000		
	47 ou 10,98%	de 50.001 a 75.000		
	40 ou 9,34%	de 75.001 a 100.000		
	24 ou 5,60%	de 100.001 a 125.000		
	27 ou 6,30%	de 125.001 a 150.000		
	12 ou 2,80%	de 150.001 a 175.000		
	20 ou 4,67%	de 175.001 a 200.000		
	21 ou 4,90%	de 200.001 a 250.000		
	25 ou 5,84%	de 250.001 a 300.000		
	13 ou 3,03%	de 300.001 a 350.000		
	8 ou 1,86%	de 350.001 a 400.000		
	8 ou 1,86%	de 400.001 a 450.000		
	6 ou 1,40%	de 450.001 a 500.000		

Quadro representativo da presença de elementos do grupo *Escherichia-aerobacter* nas diferentes diluições

Diluições	1 cc.	1/10	1/100	1/1.000	1/10.000	1/100.000
Pesquisas positivas	81	102	149	66	61	23
Porcentagens ..	16,26%	20,48%	29,91%	13,25%	12,24%	4,61%

Total das pesquisas 498
 Pesquisas positivas 482 — 96,78%
 Pesquisas negativas 16 — 3,21%

Convem lembrar que atualmente todo o leite é pasteurizado na Capital, vindo cru do Interior e que é limitado o número de horas para entrega ao consumidor, *a partir da pasteurização somente.*

Estudando a tábua acima, notamos grande maioria dos exames na classe de 0-500.000 (84,92%).

A sub-divisão dessa classe, conforme vemos na tábua ao lado, revela haver um condensamento dos resultados, 81,03%, até a classe de 200.000.

Si compararmos esta tábua estatística com aquelas correspondentes aos leites do 1.º e 2.º tipos do 6.º Capítulo, verificamos que:

Leites do 1.º tipo — até 50.000 67,36%
 Leites do 2.º tipo — " " 60,39%
 Leites tipo C — 1939-1940 — 50.000 41,34%

Não consideramos os leites do 3.º tipo, 6.º Capítulo, por acharmos que seria inviável continuar com aquele sistema, por não corresponder aos ditames técnicos.

A diferença que apontamos acima, vem justificar a nossa indicação de 100.000 germes por cc. para o leite engarrafado destinado ao consumo.

Repiso que foram estas as conclusões a que chegamos, baseados unicamente no longo estudo que fizemos.

Outro ponto que necessitamos frizar é que, para o estabelecimento do padrão bacteriológico do leite pasteurizado, os dados devem ser colhidos de amostras apanhadas durante a distribuição ao consumo, isto é, nos carros transportes em seu percurso na rua e nas

leiteirias, e não dos frigoríficos das Usinas. No frigorífico das Usinas, as condições são ótimas, bem diferentes daquelas dos carros distribuidores e leiteirias. São desses locais que o público vai adquirir o leite, e é nessa ocasião que o leite deve estar dentro do padrão máximo exigido. Assim foram colhidas as amostras que serviram aos nossos estudos.

Exigir o padrão máximo só para os leites que ainda permanecem nos frigoríficos das Usinas, não é ser justo para com o consumidor, único escopo da fiscalização sanitária.

Como dissemos atrás, as medidas higiênicas sobre distribuição do leite devem ir até o produto ser adquirido pelo consumidor e não parar nos frigoríficos das Usinas. Porisso a verificação do padrão bacteriológico deve ser feita nessas circunstância, e deve ser calculado com os dados delas obtidos. A fiscalização dos gêneros alimentícios, tais como massas de tomate, conservas, vinhos, cervejas, etc., não se faz unicamente nos estabelecimentos produtores, mas também na rua, no vendedor a varejo. No entanto, os produtos acima enumerados são acondicionados de forma inviolável e são de duração longa, mantendo em geral as mesmas condições, tanto na fábrica como no varejo. Ao passo que o leite, é um produto facilmente alterável e é do retalhista que o público vai adquirí-lo, e o retalhista sendo mero comerciante, preocupa-se em primeiro plano com os seus lucros — quanto menos gastar melhor. Ora, higiene não se faz sem dispêndio, e é necessário que a autoridade sanitária exija para obter resultado.

Passemos ao estudo do gráfico representativo do grupo coli. Neste gráfico notamos uma alta porcentagem de frequência em todas as diluições quasi, demonstrando que, apesar de pasteurizado na Capital, onde os recursos higiênicos e de fiscalização são maiores, não foi possível reduzir o coli. Também nos nossos estudos encontramos a sua presença nas diferentes diluições, mas em porcentagem inferior nas altas diluições.

As medidas higiênicas tomadas para diminuir o número de germes do leite, se forem bem orientadas, deverão forçosamente reduzir a incidência do coli nas altas diluições e acabará por afastá-lo habitualmente. Como prova, basta comparar os três tipos de leites que estudamos no 6.º Capítulo, onde o 3.º tipo oferece resultados desoladores de contagem do coli.

Alongamo-nos em excesso nessas considerações de ordem higiênica, mas não poderíamos deixar de esplanar nosso ponto de vista, visando unicamente o terreno doutrinário.

Para finalizar esta parte, vou dar a tábua estatística das análises de leites praticadas durante o ano de 1941, até as vésperas da saída deste artigo, isto é, Outubro, análises estas feitas no Instituto Adolfo Lutz.

NOTA — O decreto 12.216 de 7 de Outubro do corrente ano, modificou, entre outros, o artigo 261 do decreto que citamos atrás. Entre as modificações consta a redução do padrão bacteriológico do leite tipo C, para 200.000 germes por cc., mantendo em 36 horas o prazo máximo da entrega do leite ao consumo, a contar unicamente da pasteurização. Pedimos atenção para a tábua organizada abaixo, com as amostras colhidas em 1941, até a ocasião da saída do citado decreto.

O estudo comparativo feito entre estas tábuas e aquelas correspondentes aos anos de 1939 e 1940, demonstra haver um aumento do número de análises acima de 200.000. Houve também sensível acréscimo nas porcentagens de presença do coli nas altas diluições. Não encontramos explicação cabal para o fato de ter havido um maior número de contagens negativas, pois elas correspondiam num grande número de vezes a contagens globais em placas acima de 1.000.000.

Assinalo o achado, apenas.

Tábua estatística representando a frequência das contagens de germes dos leites tipo C pasteurizados e engarrafados na Capital, durante o ano de 1941, até Outubro

N.º de amostras	Resultados incontáveis	Frequência nas classes	Classes	
135	7 ou 18 %	75 ou 55,55%	de 0 a 500.000	55,55%
		20 ou 14,81%	de 500.001 a 1.000.000	
		7 ou 5,18%	de 1.000.001 a 1.500.000	
		5 ou 3,70%	de 1.500.001 a 2.000.000	
		3 ou 2,22%	de 2.000.001 a 2.500.000	
		8 ou 5,92%	de 2.500.001 a 3.000.000	
		2 ou 1,48%	de 3.000.001 a 3.500.000	
		2 ou 1,48%	de 3.500.001 a 4.000.000	
		1 ou 0,74%	de 4.000.001 a 4.500.000	
		—	de 4.500.001 a 5.000.000	
		4 ou 3,96%	de 5.000.001 a 10.000.000	
		—	de 10.000.001 a 15.000.000	
		—	de 15.000.001 a 20.000.000	
		1 ou 0,74%	de 20.000.001 a 25.000.000	
		—	de 25.000.001 a 30.000.000	

Sub-divisão da classe de 0 a 500.000 da tábua acima

N.º de amostras	Frequência	Classes		
75	3 ou 4,00%	de 0 a 25.000	25,33%	
	16 ou 21,33%	de 25.001 a 50.000		
	6 ou 8,00%	de 50.001 a 75.000		61,31%
	6 ou 8,00%	de 75.001 a 100.000		
	1 ou 1,33%	de 100.001 a 125.000		
	5 ou 6,66%	de 125.001 a 150.000		
	4 ou 5,33%	de 150.001 a 175.000		
	5 ou 6,66%	de 175.001 a 200.000		
	1 ou 1,33%	de 200.001 a 250.000		
	10 ou 13,33%	de 250.001 a 300.000		
	6 ou 8,00%	de 300.001 a 350.000		
	5 ou 6,66%	de 350.001 a 400.000		
	5 ou 6,66%	de 400.001 a 450.000		
	2 ou 2,66%	de 450.001 a 500.000		

Quadro representativo da presença de elementos do grupo *Escherichia-aerobacter* nas diferentes diluições

Diluições	1 cc.	1/10	1/100	1/1.000	1/10.000	1/100.000
Pesquisas positivas	—	1	21	36	31	9
Porcentagens ..	—	0,74%	15,55%	26,66%	22,96%	6,66%

Total de pesquisas	135
Pesquisas positivas	98 — 72,59%
Pesquisas negativas	37 — 27,40%

NOTA — Ainda constam uma amostra com um milhão e outras com dez milhões, que julgamos de bom alvitre não constar no quadro, por nos parecer diluição excessivamente alta.

São essas as considerações que julguei melhor tecer neste apêndice.

Como cada dia que passa milhões de litros de leite são ingeridos pela população da Capital, urge que se cuide cada vez mais a sério o problema, que muito ainda tem que evoluir entre nós.

Não nos devemos convencer da boa qualidade dos nossos leites, em outros pontos do Paiz bebe-se coisa peor, mas estamos muito longe de atingirmos, pelo menos, um limite razoavel.

Para conseguí-lo, basta seguir as regras higiênicas conhecidas e calcadas em experiências nossas, seguindo como diretriz teórica o progresso de outros paizes, mais felizes do que nós neste ponto.

Querer resolver os problemas concernentes ao leite, sem encará-los por um estudo de conjunto é falsear com a verdade e fugir aos pontos capitais da resolução do problema.

A técnica de manipulação do leite evolue continuamente, urge que se acompanhe esta evolução, visando sempre os interesses da saude pública.

NOTA

Para melhor esclarecimento dos nossos exames, vou citar quais os métodos empregados para o exame bacteriológico do leite praticado no laboratório de bacteriologia da extinta Inspetoria de Fiscalização do Leite e Lacticínios.

1 — Método de contagem em Placas.

Agar — standard.

Agar	1,5%
Extrato de carne	0,3%
Peptona	0,5%
Água destilada	

A peptona empregada era de "Witte", e o extrato de carne "Lemco".

pH — 6,6 — 6,8.

Tempo de incubação: 24 horas a 37°C.

Usavamos 24 horas como tempo de incubação e não 48 horas, por pretendermos encurtar o tempo para dar o resultado dos exames, visto ser este tempo de grande importância para a fiscalização tomar qualquer providência que julgasse necessária.

Todos os estudos foram feitos com este tempo de incubação.

Semeavamos as placas desde 1cc. até a diluição de 1/100 mil, diluição esta já bem elevada para evidenciar contagens altas.

Só eram contadas as placas com mais de 30 colônias e menos de 300, acima dessa última cifra na placa de 1/100.000, davamos o resultado como "Incontável".

2 — Pesquisa de elementos do grupo *Escherichia-aerobacter*.

A) Meio empregado: Meio bilioso de Kessler Swernarton.

Diluições — desde 1 cc. de leite até diluição 1/10.000. Não consideravamos diluição acima de 1/10.000 por desnecessárias.

B) Placas de Teague e Rosólico.

As mesmos diluições usadas para o meio de Kessler eram passadas nas placas de Teague e Rosólico, em superfície.

Leitura dos resultados:

Verificação de gás, mais de 10%, nos tubos com meio de Kessler e de colônias típicas nas placas de Teague e Rosólico.

Em casos de dúvida, procedia-se ao isolamento do germe e identificação em série de açúcar, além da verificação da morfologia e coloração do mesmo.

Tempo da leitura: 24 horas. Algumas vezes a leitura era feita em 48 horas, principalmente nos casos de dúvida sobre o desprendimento gasoso no meio de Kessler.

3 — Diluições.

As diluições eram feitas em solução fisiológica a 9‰.

PASTEURELOSE HUMANA

BRUNO RANGEL PESTANA

Assistente do antigo Instituto Bacteriológico — Chefe da Sub-divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz.

MARIA ARANTES

Biologista do Instituto Adolfo Lutz.

ETTORE RUGAI

Biologista do Instituto Adolfo Lutz.

De dois doentes do Hospital de Isolamento "Emílio Ribas", tivemos ocasião de isolar duas *Pasteurelas*, cujo estudo constitue o presente trabalho.

Revedo a literatura sobre pasteurelose humana, Levi-Bruhl, em 1938, regista 16 casos assim distribuídos: 4 de pleuriz, 4 de meningite, 1 de conjuntivite, 1 de gastro-enterite e um sob a forma de erupção penfigóide do qual o germe foi isolado por hemocultura.

Dois casos de pleuriz e três de meningite foram fatais. Em casos consecutivos a mordeduras por gatos, a infecção permaneceu localizada e sem sintomas alarmantes.

Regamey, em 1939, revendo o assunto, estuda detalhadamente todos os casos registados pela literatura, chega à conclusão de que só os 7 seguintes casos podem ser considerados como legítimas infecções por pasteurelas: Debré (C. R. Soc. Biol, 82, 224 (1919)); o mesmo caso publicado por Hundeshagem (Med. Klin. 1919, 1008); Teissier, Gastinel e outros (J. Physiol. et Path. gén. 20, 212, 241 (1922)); Lévy-Bruhl (Rev. Path. comp. et Hyg. gén. 34, 277 (1934)); Levy-Bruhl et Soupault (idem, 36, 646 (1936)); Regamey (Zbl. Bakter. I Orig. 142, 431 (1938)); Foerster: 2 casos (Klin. Wschr. 1938, 599). Os outros 10 casos registados devem ser considerados apenas como prováveis pelas divergências culturais e biológicas ou por falta de estudos.

Diz o referido autor que a infecção abrange sempre pessoas que lidam diariamente com animais. Via de regra, o germe permanece no local da infecção ou se localiza nas mucosas: pleura, meninges, pericárdio. A forma septicêmica é raríssima no homem.

Recentemente, Boisvert descreveu um novo caso provocado por mordida de coelho que terminou pela cura. Pelas propriedades biológicas, culturais, sorológicas e imunológicas, não há dúvida sobre a classificação.

OBSERVAÇÕES

I — Doente n. 322 — B. R., português, 22 anos, branco, solteiro, morador em Osasco, trabalhava em matança de gado.

Entrou para o Hospital em 17 de Março de 1938, como suspeito de febre tifóide, com *pleuriz purulento*. Temperatura 39°C.. Pulso 130. O exame de sangue feito em 17-3-38 deu hemocultura negativa e a reação de Widal positiva a 1/800 para a *Eberthella typhosa*.

Em 21-3-38, novo exame foi feito, tendo sido a hemocultura negativa e a reação de Widal positiva a 1/400. O doente retirou-se do Hospital em 26-3-38.

Em 25 de Março, recebemos o pús da pleura para exame, tendo sido encontrados em exame direto coco-bacilos Gram-negativos, com intensa coloração bipolar. Semeados em agar-sangue, deu cultura pura de um coco-bacilo Gram-negativo. Em agar-sonoro desenvolveu-se somente depois de 48 horas. A cultura isolada adaptou-se ao agar-comum, depois de algumas passagens, dando bacilos com coloração bipolar, imóveis. Em caldo comum cresceu delicadamente com turvação uniforme. Não cresceu em água de levedo, na batata e biles, deu indol e H₂S (caldo comum e papel acetato de chumbo). Não alterou o leite tournesolado. Não liquefez a gelatina. Não hemolítico em placas de agar-sangue de coelho.

Não fermenta a lactose, trealose, L-arabinose, inulina, dulcita, inosita, rafinose, salicina e maltose, amido e dextrina. Fermenta sem gás: dextrose, sacarose, manita, manose, galatose, sorbita, xilose e levulose.

O soro do doente aglutinou o germe, na diluição de 1/800.

II — Doente 1.033 — R. S. C., brasileiro, nove anos, residente à Avenida Cruzeiro do Sul.

Entrou em 27-12-38, como suspeito de febre tifóide, com *pleuriz purulento*. Temperatura 39°C.. Pulso 120. A hemocultura foi negativa e a reação de Widal positiva.

O exame direto do pús da pleura, feito em 7-1-39, revelou a presença de bacilos Gram-negativos e cocos Gram-positivos.

Feita a cultura em agar-soro e agar-sangue, foi isolado um bacilo Gram-negativo, com extremidades arredondadas e coloração bipolar. Nas placas de agar-soro houve um crescimento mais tardio (48 horas). Com alguns repiques adaptou-se bem ao agar-comum, desenvolvendo-se bem à temperatura ambiente.

O germe isolado era um bacilo Gram-negativo, imóvel, produzindo indol e H₂S — (caldo comum e papel acetato de chumbo), não alterando o leite tournesolado. No caldo comum cresce delicadamente com turvação uniforme. Não cresce em água de levedo, em biles e em batata. Não liquefaz gelatina. Não hemolítico em placas de agar-sangue de coelho.

Não fermenta a lactose, trealose, L-arabinose, inulina, dulcita, inosita, rafinose, salicina e maltose, amido e dextrina.

Fermenta sem gás a dextrose, sacarose, manita, manose, galatose, sorbita, xilose e levulose.

As culturas isoladas se mostraram patogênicas para a cobaia e para o coelho. As duas culturas recentemente isoladas e inoculadas intraperitonealmente na cobaia produziram forte reação local, com elevação de temperatura, terminado pela cura. Inoculadas na veia de coelho, mataram, em 40 horas. O germe foi reisolado do sangue do coração. As culturas isoladas do coelho e inoculadas em cobaia por via intramuscular mataram em 48 horas, tendo sido novamente isolado o germe. A autópsia revelou hemorragia dos órgãos internos e derrame peritonial fibrinoso.

Os soros preparados com as raças isoladas ns. 322 e 1033 aglutinaram a raça 128 avicida de Maninger e a raça bovisséptica 0,1448 do Instituto Lister, assim como as raças 322 e 1033 foram aglutinadas pelo soro preparado com a amostra 0.1448 bovisséptica do Instituto Lister, conforme demonstra o quadro abaixo:

Provas de aglutinação

Antígenos	Soros		
	Amostra 322	Amostra 1.033	Amostra 128 Maninger
Amostra 0.1448 Bovisséptica Instituto Lister. Título 1/800	1/800	1/800	x
Amostra 1.033. Título 1/640	x	x	1/320
Amostra 322. Título 1/400	x	x	1/200

(x) Não foi feita a aglutinação.

Aos Drs. José Augusto Arantes, diretor, e Luiz Pereira Barreto Neto, médico interno, do Hospital "Emílio Ribas" em S. Paulo, muito agradecemos as informações prestadas a respeito dos doentes.

RESUMO

Duas Pasteurelas foram isoladas de dois doentes com pleuriz purulento do Hospital de Isolamento Emílio Ribas.

Os germes isolados (322 e 1.033) foram identificados pelos seus caracteres culturais e pelas provas de aglutinação.

Cocobacilos, Gram-negativos, com intensa coloração bipolar e imóveis. Cresceu em agar comum e caldo com turvação uniforme. Não se desenvolve em batata, em biles e água de levedo. Produz indol e hidrogênio sulfurado. Não altera o leite tournesolado e não liquefaz a gelatina.

Produz ácido, sem gás em dextrose, sacarose, sorbita, manita, xilose, manose, galatose e levulose. Não ataca a lactose, maltose, salicina, trealose, amido, dextrina, L-arabinose, inulina, dulcita, inosita e rafinose.

O soro preparado com as amostras isoladas 322 e 1.033 aglutinou as amostras avicida 128 de Maninger e bovisséptica 0,1448 do Instituto Lister. O soro preparado com a amostra 0,1448 do Instituto Lister aglutinou as raças 322, 1.033.

SUMARY

Two Pasteurellas were isolated from pleural pus from two patients admitted to the Isolation Hospital "Emílio Ribas".

These isolated organisms (322 and 1.033) were identified by their cultural characteristics and agglutination specific anti-serum tests.

Cocobacille, Gram-negative, showed bipolar staining and are nonmotile. Growth in plain agar and both with uniform turbidity. No visible growth in potato, in bile and yeast water. Indol and hydrogen sulfid were produced. Litmus milk no change. Gelatin no liquefaction.

Acid but not gas from dextrose, sucrose, sorbitol, manitol, xylose, mannose, galactose and levulose. No acid from lactose, maltose, salicin, trealose, starch, dextrin, L-arabinose, inulin, dulcitol, inositol and raffinose.

The sera immunized with strains 322 and 1.033 were agglutinated by strain avicida 128 Maninger and strain boviséptica 0,1448 from the Lister Institute. The sera immunized with the strain 0,1448 from Lister Institute were agglutined by the strains 322, 1.033.

REFERÊNCIAS

- BOISVERT, L. P. — 1941 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 116, 1902.
 DEBRÉ — 1919 — *C. R. Soc. Biol.*, 82, 224.
 HEMDESHAGEN — 1919 — *Med. Klin*, 1008.
 FOERTER, W. — 1938 — *Klin. Wschr.*, 599.
 LEVY-BRUHL — 1934 — *Rev. aPth. comp. et Hyg. gén.*, 34, 277 (citado por Regamey).
 LEVY-BRUHL e SOUPAULT — 1936 — *Rev. Path. comp. et Hyg. gén.*, 36, 646 (citado por Regamey).
 TEISSIER, R. — 1938 — *Zentralblat. für Bakt. Orig.*, 142, 431.
 REGAMEY, R. — 1938 — *Zentralklah. für Bakt. Orig.* 142, 431.

CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ANIMAIS DE LABORATÓRIO

HASSIB ASHCAR

Assistente do Diretor do Instituto Adolfo Lutz.

- I. *Importância do Biotério*
- II. *Animais de laboratório mais usados e principais aplicações.*
- III. *Conceito de animal de experiência.*
- IV. *Condições somáticas e imunológicas: sua importância.*

I. IMPORTÂNCIA DO BIOTÉRIO

Em todas as ciências biológicas, e particularmente na medicina, a observação e a experimentação constituem os métodos do estudo científico para a invenção e a descoberta. Essas últimas só poderão ser favorecidas, quando providas as modernas necessidades das pesquisas científicas e da proteção dos pesquisadores. Dessas necessidades, uma das mais importantes nos laboratórios científicos de fisiopatologia, bacteriologia e farmacodinâmica, é o biotério.

As limitadas possibilidades de experimentação em seres humanos obrigam, necessariamente, os pesquisadores a recorrer aos chamados animais de laboratório. Desses, os que por suas dimensões são considerados de grande porte destinam-se, principalmente, aos serviços de produção, enquanto que os de pequeno porte são mais propícios às pesquisas.

O biotério, que deve prover e manter os animais em condições ótimas para as provas "in anima vili", merece, atualmente, atenção especial, em virtude do grande desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas e da aplicação de novos e mais rigorosos métodos de pesquisa.

Já é passado o tempo em que o biotério tinha como função, apenas, alojar e alimentar, empiricamente, os animais para as ex-

periências "in vivo". Nesse sentido, nada nos pareceu mais expressivo do que a frase de Courmont: "A l'heure actuelle, les recherches scientifiques sont trop complexes pour se contenter de la cave de Claude Bernard ou du grenier de Pasteur".

II. ANIMAIS DE LABORATÓRIO MAIS USADOS E PRINCIPAIS APLICAÇÕES

A) MAMÍFEROS

a) *Símios*: Esses animais prestam-se principalmente ao estudo experimental das moléstias humanas produzidas por virus filtráveis. Vejamos as espécies mais sensíveis, citadas por Levaditi e Lèpine, a algumas dessas moléstias.

Tifo exantemático: *Troglodytes niger* (chimpanzé), *Macacus sinicus*, *M. cynomolgus*, *M. inuus*, *Ateles vellerosus* e *M. rhesus*.

Febre amarela: *Macacus rhesus*, *M. cynomolgus*, *M. speciosus* e *M. inuus*.

Moléstia de Nicolas-Favre: *M. cynomolgus*, *Troglodytes niger*, *Cercopithecus callithrix*, *M. inuus*, *Cercocebus fulliginosus*, *Cynocephalus babuin*, *Cebus fatuellus*, etc.

Herpes: *M. cynomolgus*, *C. callithrix*, *C. fulliginosus*, *M. sinicus*, *Papio sphynx*, *Cynocephalus hamadryas*, *C. babuin* e *Cebus olivaceus* (América do Sul).

Encefalite letárgica: *Cercopithecus pathas*.

Poliomielite anterior aguda: *M. rhesus*, *M. cynomolgus*, *C. callithrix*.

b) *Perissodáctilos*: O cavalo (*Equus caballus*) é usado, principalmente, no preparo de séros terapêuticos: antimicrobianos, antitóxicos e antipeçonhentos. Dele ainda se obtém o soro normal para meios de cultura.

c) *Artiodáctilos*: O boi (*Bos taurus*) presta-se aos mesmos fins que o cavalo, porém é empregado em menor escala.

O carneiro (*Ovis aries*) é doador de sangue, cujos glóbulos vermelhos são indicadores de hemólise em reações de fixação do complemento e fornecedor de sangue para meios de cultura.

A cabra (*Capra hircus*), de pele branca, é usada na standardização de toxina estreptocócica.

d) *Carnívoros*: O cão comum (*Canis familiaris*) é muito utilizado nos trabalhos de cirurgia experimental e nos de fisiologia (dosagem de hormônios de cortex supra-renal e das glândulas paratireóides). Imunizado com o vírus da raiva, fornece o material para o preparo da vacina anti-rábica de uso veterinário.

O gato doméstico (*Felis catus*) é sensível aos vírus da: febre amarela, raiva, varíola e tracoma. Apresenta grande interesse nos ensaios de farmacodinâmica e no estudo da amebiose (sensível experimentalmente a *Entamoeba histolytica*).

e) *Roedores*: Coelho, cobaias, ratos e camundongos, animais sensíveis, de fácil aquisição e manipulação, são os eleitos para a maior parte das pesquisas.

Entre outras aplicações, citamos as provas de: proteção de soros terapêuticos; toxigenicidade de exotoxinas; virulência de microorganismos e de conservação da atividade patogênica de vírus filtráveis (inoculações sucessivas). Vejamos, particularmente, a cada espécie, os serviços em que são utilizados.

1) *Leporídios* — Coelho doméstico (*Lepus cuniculus*) — preparo de vacina anti-rábica de uso humano; preparo de soro hemolítico para as reações de Bordet e Gengou, de soros aglutinantes específicos para diagnóstico bacteriológico e de soro precipitante para identificação de proteínas; obtenção de antitoxinas, bacteriolisinas, citoxinas, etc.. Reação de Fridmann (coelhas com, pelo menos, 17 semanas de idade e 1500 grs. de peso).

2) *Cavídios* — A cobáia doméstica (*Cavia porcellus*) — e a preá comum (*Cavia aperea*) e outras, *C. rufescens* e *C. cutleri* constituem as espécies mais utilizadas. Empregam-se cobaias para: isolamento, identificação e prova de virulência de microorganismos; dosagem de toxinas e de antitoxinas; determinação do poder antigênico de anatoxinas; provas de inocuidade de medicamentos; obtenção de alexina para as reações de fixação do complemento; dosagem do hormônio do lobo posterior da hipófise; córneo-reação para determinação do limite da atividade do vírus vacínico (método de Gins); isolamento e passagens de vírus filtráveis; provas de proteção e de imunidade cruzada no estudo das relações imunológicas entre as várias Rickettsioses.

3) *Murídios* — Na tribu *murinae*, distinguimos com Trouesart (1881) e Miller (1910) citados por Donaldson, os gêneros:

Epyomis para as espécies maiores — os ratos; e, *Mus* para os representantes menores — os camundongos. Do gênero *Epyomis*, o rato branco é uma espécie docil que, reagindo facilmente às dietas de carência, é consagrada ao estudo experimental das vitaminas. Utilizam-se também os ratos para: dosagens biológicas de hormônios; transplantação de tumores e estudo de compostos químicos carcinógenos; verificação de espiroquetas e cogumelos patogênicos; transmissão experimental do bacilo de Stefansky; pesquisas fisiológicas (método de parabiose), etc..

Do gênero *Mus*, interessam, particularmente, os camundongos brancos, os quais são usados para: provas de virulência de pneumococos e estreptococos (16 a 20 gramas); provas de inocuidade de medicamentos, isolamento, identificação e determinação da toxigenicidade de microorganismos (20 a 30 gramas); prova de Aschheim-Zondek (camundongas jovens de 6 a 8 gramas); isolamento e passagem de virus filtráveis patogênicos.

B) AVES

Na estandardização biológica do hormônio testicular, emprega-se o "test" da crista de galo, introduzido na fisiologia experimental por Peyard. Para essa prova, servem tanto a crista como os brinços de galo castrado de raça Leghorn.

Os embriões de galinha, inoculados, na membrana cório-alan-tóidica, com virus vacínico puro, produzem a polpa para a vacina Jeneriana. Por semelhante técnica, obtem-se cultura de Rickettsias.

A pomba (*Columba livia domestica*), columbino muito sensível aos venenos ofídicos, é habitualmente usada para as dosagens dos mesmos.

Os canários, entre os passaros, são usados pelos ingleses para verificação da presença de concentrações tóxicas de CO nas minas de carvão; entretanto, segundo Desfosses, os alemães dão preferência aos camundongos, em substituição aos detentores químicos.

C) ANFÍBIOS

Entre os anuros, citaremos: a rã (*Leptodactylus ocellatus*) e o sapo (*Bufo marinus*).

A rã, espécie inócua, é muito utilizada nos trabalhos de fisiologia experimental e farmacodinâmica. Presta-se ao estudo dos mo-

vimentos cardíacos, respiratórios e intestinais; da ação do vago (inibidor) e do simpático (excitador) sobre o coração; da ação que, sobre esse órgão, exercem a bile, pilocarpina, clorofórmio, eter, nicotina, muscarina, atropina, etc.. Outros exemplos encontram-se descritos por Moura Campos.

III. CONCEITO DE ANIMAL DE EXPERIÊNCIA

Os animais de laboratório embora elevados na escala zoológica, diferem muito do homem, no campo da experimentação.

Nas provas "in anima nobili", ao lado dos fenômenos fisiológicos, interferem as atividades psíquicas e espirituais; ao passo que "in anima villi" tudo se reduz aos fenômenos fisiológicos.

Assim, no conceito de A. Paulino, a moléstia, no homem, é uma desgraça e uma prova individual e familiar; enquanto que, no animal, não passa de uma desordem somática.

Segundo o luminoso princípio de Broussais, a moléstia, para o biologista, constitue uma experiência espontânea, pois, as leis que regem o organismo doente são as mesmas que as do organismo normal, só variando a intensidade dos fenômenos.

O animal de experiência, na maioria das provas, exerce uma função semelhante à de um meio de cultura nas pesquisas bacteriológicas, ou, à de um reagente ou indicador nas determinações químicas. Nessas últimas, o reagente deve ter composição química definida, e, os fatores físicos interferentes deverão ser bem conhecidos, para que as análises possam ser comparadas, tanto qualitativa como quantitativamente.

Por outro lado, o meio artificial de cultura deve conter todos os alimentos, indispensáveis à nutrição e à reprodução dos germes, acompanhados de uma série de fatores físicos e químicos que devem variar segundo as espécies dos microorganismos, tais como: temperatura, grau de humidade, aerobiose ou anaerobiose, concentração hidrogeniônica, etc..

Por sua vez, o animal de experiência deve apresentar determinadas condições somáticas e imunológicas, segundo a prova a que se destina.

Analisaremos, no capítulo seguinte, essas condições, considerando conhecidas a suscetibilidade ou sensibilidade da espécie, raça ou variedade animal.

IV. CONDIÇÕES SOMÁTICAS E IMUNOLÓGICAS: SUA IMPORTÂNCIA

A) CONDIÇÕES SOMÁTICAS

1) *Higidez* — É essencial que os animais para laboratório sejam sadios, fortes, de desenvolvimento normal e livres de infecção ou infestação.

A obtenção de animais em condições de higidez plena depende de uma série de fatores complexos, que passaremos em rápida revista.

O estudo da hereditariedade, cuja base é o mendelismo, constitui os fundamentos da eugenia, da fitogenética, como também da zoogenética. Dos conhecimentos de zoogenética dependem, em grande parte, os resultados zootécnicos.

Cuidados especiais devem-se ter com a criação dos animais, selecionando os reprodutores, evitando a consanguinidade, protegendo a prenhez, observando as condições ótimas de aleitamento, desmame e separação dos sexos.

Influem no crescimento, na saúde e na resistência dos animais: a temperatura, luminosidade, arejamento e humidade; entretanto, fator particularmente decisivo é a alimentação. Os alimentos devem ser rigorosamente adequados sob os aspectos qualitativo e quantitativo, considerando-se, naturalmente, os hábitos alimentares das diferentes espécies. O teor vitamínico dos alimentos deve ser especialmente considerado na ração de camundongos e ratos, pois, sabemos quão sensíveis o são aos regimes ou às dietas de carência.

Para a prevenção das moléstias é necessário que os biotérios possuam instalações adequadas que facilitem a lavagem diária e a desinfecção periódica. Evitam-se prejuízos técnicos e econômicos pela profilaxia rigorosa das epizootias isolando e examinando os animais suspeitos, sacrificando e autopsiando os animais doentes, e incinerando os com moléstia transmissível.

2) *Peso* — Satisfeitas as condições de higidez e suscetibilidade às provas experimentais, o peso do animal é o fator que geralmente tem maior importância. Com efeito, estabelece-se a dose tóxica ou a dose mortal de uma droga, referindo-se ao peso de determinado animal. Do mesmo modo, em método padrão para a determinação de D.M.M. de uma toxina bacteriana é especificado o peso da espécie animal dentro de limites definidos.

Bem sabemos que do peso do animal depende o volume da massa sanguínea e que, variando o volume dessa última, variará no organismo a concentração da droga ou de outra substância administrada. Ainda mais se evidencia a importância do peso porque não é só a massa sanguínea que faz variar a ação de uma droga, mas todos os tecidos em que a mesma tem de agir ou de se fixar.

Os limites de peso a que acima aludimos são permitidos, em vista da impraticabilidade de se obter grande quantidade de animais com uma única determinação numérica ponderal.

Para ilustração do exposto, analisaremos um quadro do "Standard Methods":

Distribuição de cobaias para provas de laboratório

	gramas
Isolamento e identificação de <i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>	100 a 150
Dosagem das toxinas e antitoxinas diftérica e botulínica, desintoxicação da toxina diftérica (método sub-cutâneo)	230 a 280
Dosagem da toxina diftérica e de diluições da mesma pela prova intradérmica de suscetibilidade (Schick) (método sub-cut.)	250 a 280
Provas de virulência do <i>Corynebacterium diphtheriae</i> (método intradérmico)	250 a 350 (branca)
Isolamento e identificação de microorganismos	250 a 350
Determinação do poder antigênico dos toxóides diftéricos (líquidos) (método sub-cutâneo)	270 a 320
Verificação dos corpúsculos de Negri (raiva), aproximadamente	300
Dosagem da toxina, antitoxina e toxóide tetânicos (método sub-cutâneo)	330 a 380
Provas de inocuidade de medicamentos para uso humano	350 a 500
Dosagem da toxina e antitoxina diftéricas (método intradérm.)	350 a 450 (branca)
Determinação do poder antigênico do toxóide diftérico precipitado (método sub-cutâneo)	470 a 520
Para complemento, nas reações serodiagnósticas (previamente usadas ou normais), preferivelmente acima de	600

3) *Idade*: — Os animais jovens, de um modo geral, apresentam maior suscetibilidade do que os adultos. Nos primeiros a excitabilidade reflexa é mais exagerada, em virtude do incompleto desenvolvimento dos aparelhos: de inibição, de termoregulação, glandulares, de secreção e de eliminação. Com efeito, Penam e Simonet, Sordelli, Houssay e Massocco verificaram que os animais jovens são mais suscetíveis à insulina do que os adultos.

Lemos Monteiro verificou que os gatos domésticos jovens são mais sensíveis ao vírus amarelado, inoculado por via cerebral; e assim, poderíamos citar uma longa série de exemplos.

Em oposição, fogem à regra acima referida, os resultados das experiências de Lesné e Binet e das de Falk, citadas por R. Pereira. Os primeiros investigaram a suscetibilidade de certos animais em relação à ação tóxica da estricnina e da morfina para gatos e da cocaína para ratos, concluindo que os animais jovens são mais resistentes a esses tóxicos do que os adultos.

O segundo, procurando estabelecer a dose mínima mortal de estricnina para coelhos, cobaias e ratos, verificou que esse alcalóide é mais tolerado pelos animais jovens do que pelos adultos. Em certas experiências, a idade do animal apresenta um interesse maior do que o peso; tal acontece, por exemplo, nas pesquisas de hormônios que agem sobre o aparelho genital.

Concluindo diremos que, em princípio, devem ser excluídos das pesquisas habituais os animais muito velhos, e que o uso de jovens ou adultos depende da espécie animal e da natureza da prova experimental.

4) *Sexo*: — Na maioria das pesquisas é indiferente o emprego de machos ou de fêmeas; entretanto, há casos em que é formal o uso de animais de um determinado sexo (pesquisa de hormônios gonadotrópicos). As fêmeas, nas pesquisas habituais, devem, no entanto, estar livres e desembaraçadas de prenhez. A algumas provas experimentais os animais se comportam de modo diferente conforme o sexo. Exemplo curioso nos oferece a rã: no macho, devido ao reflexo do abraço "clasping reflex" peculiar ao sexo masculino, a estricnina provoca o cruzamento dos membros anteriores sobre o torax, enquanto na fêmea esses membros se distendem ao longo do corpo.

Outro exemplo interessante é o da diferença de sensibilidade da cobáia, ao arsênico, segundo o sexo.

Assim, Preyer, citado por R. Pereira, verificou que para matar-se um cobáio basta a dose de 8 miligramas, enquanto que para uma cobáia seria necessária uma dose de 17 miligramas, chamando ainda a atenção para o fato de que o macho, nesta espécie, é em geral mais volumoso do que a fêmea.

5) *Côr*: — A *côr* do pelo e da pele em si parece não influir nos resultados das pesquisas, pois está na dependência da espécie, raça ou variedade animal.

Quanto à *côr* do pelo, Laigret, observou que a sensibilidade do camondongo branco é igual à do cinzento, em relação ao vírus amarílico. Com relação à pele devem ser preferidos para as intradermo-reações os animais de pele branca, pois nesses torna-se mais nítida e segura a leitura dos resultados.

B) CONDIÇÕES IMUNOLÓGICAS

Depreende-se a importância dessas condições, pela utilização ampla de animais em trabalhos de imunologia.

Nas pesquisas imunológicas, a escolha de cada espécie animal depende, principalmente, da suscetibilidade a determinados antígenos e da constância das reações em resposta aos mesmos.

Na prática, entretanto, os resultados de tais pesquisas apresentam uma variabilidade considerável, mesmo tratando de animais da mesma espécie, idade e peso. Essa variabilidade, para alguns, depende de puras variações individuais, para outros, entretanto, reside nas diferenças morfológicas referentes ao tamanho do corpo, *côr* do pelo, tipo de pele, etc., provenientes de cruzamentos entre as raças da mesma espécie.

Analisaremos, para clareza do assunto, alguns exemplos de influência da raça sobre o comportamento imunológico.

Ubisch e P. do Amaral verificaram nítidas diferenças no comportamento das duas espécies, cobáia e preás, em relação ao antígeno diftérico. A *C. porcellus* reage facilmente à excitação antigênica, enquanto a *C. rufescens* mostra-se mais resistente, apresentando muito menor capacidade de produção de antitoxina diftérica.

Por outro lado, Souto e Ubisch observaram que os preás são mais resistentes ou, por outra, menos suscetíveis à toxina tetânica do que as cobáias. Disso decorre, evidentemente, a possibilidade de, empregando preás, obter títulos acima do real, quando se procura estabelecer a D.M.M. (dose mínima mortal) ou o L† (limite morte) da toxina; ou quando se dosa o poder protetor da antitoxina tetânica.

Digamos de passagem que nos serviços de imunização tem grande importância a escolha da via de inoculação, sendo preferíveis as vias de absorção mais lenta.

Outro fato que deve ser considerado é o da existência de imunidade anterior natural ou adquirida, nos animais de experiência; nesse sentido, não podemos deixar de referir as pesquisas de Ramon e seus colaboradores. Assim, esses AA., pesquisando a antitoxina estafilocócica no soro sanguíneo de 55 macacos (cinocefalos), verificaram a existência da mesma em todos eles.

Pesquisando a imunidade natural de 35 coelhos adultos do Instituto Butantã, que pertenciam às raças: russo, chinchila, azul de Viena e híbrida, verificamos que em 14 deles, o título de antitoxina estafilocócica do soro sanguíneo variava de 0,1 a 3,0 U.A.I. por cc.. Nos outros 11 coelhos os títulos permaneceram abaixo de 0,1 U.A.I., nos parecendo que esses animais não possuíam qualquer traço de antitoxina estafilocócica naturalmente adquirida.

Assim como verificara Ramon, pudemos observar que o referido título não depende da raça do animal.

Grasset, estudando experimentalmente a relação entre a imunidade antitóxica passiva e ativa no ciclo vital do coelho, verificou que: a imunidade passiva (de origem materna) vai decrescendo em valor, a partir do nascimento, tendendo a tornar-se nula entre o 2º e o 3º mês de vida. Por outro lado, a imunidade ativa, iniciando-se aos primeiros dias de vida se elevava progressivamente até atingir um nível apreciável após o 4º mês.

Depois das descobertas de Mendel que edificaram uma teoria biológica à semelhança das teorias físicas e químicas, que permite previsões que a observação e a experiência confirmam, perguntamos: a variação chamada individual, dos títulos antitóxicos de soros obtidos de animais da mesma espécie, idade e peso e imunizados em condições idênticas, não estaria ligada a fatores cromosômicos?

Nossa impressão é que seria útil e interessante analisar, minuciosamente, as condições imunológicas, para cada espécie animal que interessa, em relação ao plasma germinativo e ao fenótipo, na tentativa de tornar sondáveis, pelo menos, alguns dos atuais "mistérios" da Imunologia.

RESUMO

No presente trabalho, o A. faz considerações sobre a importância do biotério nos laboratórios científicos; menciona uma série de espécies animais e os principais serviços técnicos em que elas

são utilizadas. Discute o conceito de animal de experiência, e, finalmente, analisa a importância das condições somáticas e imunológicas nas provas "in anima vili".

ABSTRACT

In the present paper the A. considers the importance of the animal house in the scientific laboratories; he mentions a series of animal species and the principal technical works in which they are used. He also discusses the meaning of laboratory animal, and, finally, analyses the importance of the somatic and immunologic conditions in the tests made "in anima vili".

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit stellt der Autor Betrachtungen ueber die Wichtigkeit eines Tierparkes fuer das wissenschaftliche Laboratorium auf. Er erwaehnt eine Reihe von Tierarten und die hauptsaechlichsten technischen Arbeiten, in welchen dieselben verwendet werden. Er bespricht den Begriff des Versuchstieres und -analysiert die Wichtigkeit der immunologischen und somatischen Bedingungen bei den Experimenten "in anima vili".

BIBLIOGRAFIA

- ASCHHEIM, S. — 1935 — *J. Am. Med. Ass.*, 104: 1324-29.
- CAMPOS, M. M. — 1929 — *Manual Prático de Physiologia*, de Pimenta e Melo, Rio de Janeiro, Brasil.
- COURMONT, F. — 1939 — *Presse Med.*, 47 (18): 353-356.
- DESFOSES, P. — 1940 — *Presse Med.*, 48: 661.
- DONALDSON, H. H. — 1915 — *The Rat, Data and References Tables*, Philadelphia.
- GRASSET, E. M. D. — 1929 — *South African Inst. for Med. Res.* 24 (4): 171-190.
- JACKSON LABORATORY — 1941 — *Biology of Laboratory Mouse*, Philadelphia, ed. G. D. Snell. 1.^a ed.
- KOLMER, J. A. & BOERNER, F. — 1941 — *Approved Laboratory Technic*, 3.^a ed.
- LAIGRET, J. M. — 1933 — *C. R. Acad. Sciences*, 196 (7): 508.
- LEVADITI, G. & LEPINE, P. — 1938 — *Les Ultravirus des Maladies Humaines*, Paris.
- MONTEIRO, J. L. — 1930 — *Brasil Médico*, 44: 1087.
- PAPAIOANNOU, A. — 1938 — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31 (7): 582.

PAULINO, A. — 1938 — *Acta Médica*, 2:271-281.

PEREIRA, J. R. — 1929 — Manual de Pharmacologia, S. Paulo, Brasil.

RAMON, G., RICHOU, R. & DESCAZEUX, J. — 1935 — *C. R. Soc. Biol.*, 119: 1070.

SOUTO, A. B. & UBISCH, G. VON — 1939 — *Mem. Inst. Butantan*, 12: 313-348.

UBISCH, G. VON & AMARAL, J. P. do — 1935-1936 — *Mem. Inst. Butantan*, 10: 179-189.

WADSWORTH, A. B. — 1939 — Standard Methods, Baltimore.

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O MEIO DE LEVINE E VAUGHN E UM NOVO MEIO, ISENTO DE PEPTONA, PARA DETERMINAÇÃO DA PRODUÇÃO DE H₂S PELAS BACTÉRIAS.

ETTORE RUGAI

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

A capacidade sulfidrígena¹ das bactérias é constatação feita, provavelmente, por Gayon em 1877, segundo a citação de Vaughn e Levine.

Petri e Maassen em 1893 afirmam que em meios apropriados todos os germes produzem H₂S. Consideram, por isso, indispensável especificar o meio empregado, quando a prova é feita para diferenciação de germes. Hunter e Crecelius chegam a resultados semelhantes e concluem também que a reação tem valor diferencial quando se indica qual o método empregado.

Pacheco e Costa, em recente publicação, afirmam que a produção de H₂S é propriedade geral das bactérias. Concluem o trabalho dizendo: "A distinção entre bactérias produtoras e não produtoras de H₂S fica assim destituída de importância, uma vez que é uma propriedade geral das bactérias. Resta somente a questão da quantidade que poderá ter certo valor sistemático no computo das propriedades bioquímicas bacterianas".

A procedência da peptona, a importância de substâncias sulfuradas orgânicas ou inorgânicas, com enxofre em grau maior ou menor de oxidação, e, o reativo revelador de H₂S, tem sido o principal motivo dos trabalhos publicados no assunto.

Quanto à peptona, reina desacordo entre os autores.

Myers obteve maior produção com a peptona de Witte e Fairchild do que com a peptona Difco. Thompson conseguiu resultados

1 Termo proposto por Pacheco e Costa para exprimir a propriedade que possuem as bactérias de produzir H₂S.

Recebido para publicação em 18 de Outubro de 1941.

opostos. É preciso notar, porém, que aquele trabalhou com meio líquido e papel-acetato de chumbo e, este, com meio sólido e reativo incorporado. Hunter e Crecelius afirmam que não só a procedência tem influência, mas, ainda, as diferentes partidas da mesma marca.

Almy e James, comparando 5 peptonas de origem diferente, estabelecem as seguintes proporções: 1-7-15-19-24. Zobell e Felthman preferem a bacto-triptona pela uniformidade dos resultados. Carvalho Lima e Queiroz Teles, estudando a produção de H_2S pela *Shigella ambigua*, usaram a peptona de Witte, Difco e P. Davis. Concluíram que esta última favorece a produção de H_2S .

Rubner apontou em 1893 a cistina como importante precursor de H_2S e os sulfatos como não reduzíveis. Sasaki e Otsuda, Bürger, Tanner, Wohlgemut, Vaughn e Levine, Almy e James obtiveram resultados idênticos e verificaram ainda a irredutibilidade da taurina.

Tilley estabeleceu a seguinte classificação para o enxofre dos compostos sulfurados:

1.º) Enxofre não oxidado. É aquele que se desprende sob a forma de H_2S quando se aquece o composto com alcalis — cistina, cisteína, etc..

2.) Enxofre parcialmente oxidado. É aquele que se desprende sob a forma de SO_2 quando se aquece o composto com H_3PO_4 — sulfitos, hipo-sulfitos.

3.º) Enxofre oxidado. É o enxofre dos sulfatos e compostos semelhantes.

Nas bases desta classificação, Tilley estudou 6 peptonas e chegou à conclusão que a quantidade de H_2S é proporcional ao enxofre não oxidado e parcialmente oxidado, o que não acontece com o enxofre oxidado.

Atendendo à irregularidade da reação com as diversas peptonas, Kahn propõe que se ajunte ao meio o tiosulfato de sódio para assegurar resultados uniformes. Hunter e Crecelius, Wilson, propõem, com a mesma finalidade, o sulfito de sódio.

A influência dos carboidratos foi estudada por Seiffert trabalhando com salmonelas. A sacarose (0,5%) favoreceu a produção de H_2S . Em menor grau a levulose e a galatose. Em presença de glicose não houve produção de H_2S . A lactose pouco influenciou. Heap e Cadness obtiveram reações mais precoces com o *B. aertrycke*, em presença de glicose. Myers nega o valor da glicose e da lactose como ativadores.

Vaughn e Levine salientam que a porcentagem do agar é importante. Trabalhando com o grupo coli-aerógenos em meio de Levine e Vaughn constataram que a especificidade diminui à medida que se diminui a porcentagem do agar.

Como reagente do H₂S foi inicialmente usado o papel-acetato de chumbo. Sem dúvida o mais sensível pela não interferência do metal com o crescimento dos germes, e, da matéria orgânica, na combinação entre H₂S formando, e o reagente. É útil quando se trata de germes delicados ou quando o meio de cultura é muito colorido. Entretanto, pela grande sensibilidade — dez vezes mais sensível do que os métodos com indicador incorporado, segundo Zobell e Felthmann — torna, às vezes, o método pouco diferencial.

Com Orłowski, em 1895, têm início os métodos de pesquisa do H₂S com reagente incorporado ao meio de cultura. Com agar-acetato de chumbo ou tartrato de ferro o autor diferenciou o bacilo tífico do bacilo coli.

Sacquépée, em 1905, com os mesmos reativos incorporados à gelatina, estabeleceu a diferenciação entre o B. coli, B. tífico, B. paratífico A e B. Usou, também, com menor sucesso, o sulfato de níquel.

O chumbo mereceu mais atenção durante os primeiros 30 anos. É recomendado por Kligler, Thompson, Bailey e Lacy, Grosso, Levy e Valery-Radot, Tribondeau, Morishima, Tilley, Kahn, e Conn.

Kligler propoz o uso combinado do meio de Russel com o acetato de chumbo, substituindo o litmus pelo indicador Andrade, com o fim de observar ao mesmo tempo a fermentação e produção de H₂S pelo grupo tifo-paratifo-disentérico.

O ferro, já usado por Orłowski, é recomendado por Wilson, Schunck, Levine e colaboradores, Zobell e Felthmann. Titsler considera a reação com o ferro de interpretação mais fácil do que com o chumbo.

Darling, Pacheco e Melo, Pacheco e Costa, Hunter e Crecelius, dão preferência ao bismuto. Este último constatou que o bismuto é sensível tanto em meio ácido como alcalino e que o ferro perde a sensibilidade em meio ácido.

William e colaboradores, considerando que o ferro precipita com facilidade e que o chumbo e o bismuto são tóxicos, preferem o cobalto e o níquel. O cobalto é mais sensível, porém o níquel dá reação mais nítida e por isso usam os dois metais juntos.

Certamente, condições diversas de técnica e a influência da espécie bacteriana, conduzem a resultados diferentes.

A divergência dos autores, principalmente quanto à peptona e indicador, mostra, por si só, a necessidade de se estabelecer um meio "standard" para que os resultados sejam equivalentes.

Pacheco e Costa destituem de valor a distinção entre bactérias produtoras e não produtoras de H_2S . Discordamos desses autores. Estamos com Petri e Maassen, Hunter e Crecelius, que concluem: em meios apropriados todos os germes produzem H_2S , mas, a reação não perde seu valor diferencial desde que se mencione o método usado.

Assim considerando, apresentamos um novo meio, isento de peptona, como auxiliar na diferenciação entre algumas espécies da família *Enterobacteriaceae*.

MEIO DE CULTURA

CONSTITUINTES

I — Soro de boi	100 cc.
Água destilada	30 cc.
II — Fosfato mono-potássico	0,50 g.
Cloreto de sódio	7,50 "
Cloreto de cálcio	0,05 "
Cloreto de potássio	0,10 "
Citrato de ferro amoniacal	0,40 "
(palhetas vermelhas)	
Água destilada	1000,00 cc.

TÉCNICA DE PREPARAÇÃO

a) Misturar o soro com a água. Ajustar ao pH 7.4. Distribuir 3 a 4 cc. em tubos de 120mm. x 12mm.. Coagular inclinado seguindo a mesma técnica da preparação do soro coagulado de Loeffler.

b) Dissolver os sais da fórmula II nos 1.000 cc. de água. Ajustar ao pH 7.4. Filtrar. Distribuir em balões de 250 cc.. Esterilizar 20 minutos a 110°C..

c) Em cada tubo com o soro coagulado, distribuir 2 a 3 cc. da fórmula II de maneira que parte do soro fique descoberto.

d) Incubar para controlar a esterilidade.

Aconselhamos usar mistura de soro proveniente de vários animais, porque tivemos uma partida de meio cujo resultado não foi satisfatório o que só pudemos atribuir ao soro.

O estudo do comportamento deste meio foi feito comparativamente com o meio proposto por Levine e Vaughn (1932).

Trabalhamos com germes dos gêneros: *Salmonella*, *Proteus*, *Eberthella*, *Escherichia*, *Aerogenes* e *Shigella*.

O quadro abaixo expressa os resultados.

ESPÉCIE	N de amostras	Meio de Levine e Vaughn			Meio em estudo			Concordância entre os 2 meios
		Resultado			Resultado			
		+	-	% +	+	-	% +	
<i>S. schottmuelleri</i>	31	31	0	100 %	31	0	100 %	100 %
<i>S. paratyphi</i>	30	0	30	0 %	0	30	0 %	100 %
<i>S. ententidis</i>	9	9	0	100 %	9	0	100 %	100 %
<i>S. suipestifer</i>	6	5	0	100 %	5	0	100 %	100 %
<i>Salmonellas sp.</i> vários tipos H ₂ S + segundo Man. Bergey	12	12	0	100 %	12	0	100 %	100 %
<i>S. abortusovis</i>	1	1	0	100 %	1	0	100 %	100 %
<i>E. coli</i> isol. de água	80	0	80	0 %	0	80	0 %	100 %
<i>F. coli</i> isol. de fezes hum.	150	0	150	0 %	0	150	0 %	100 %
<i>E. coli</i> isol. de gânglios mesentéricos de porco	50	0	50	0 %	0	50	0 %	100 %
<i>E. freundii</i> isol. de água	55	41	14	75,5 %	41	14	75,5 %	100 %
<i>A. aerogenes</i> isol. de água	38	0	38	0 %	0	38	0 %	100 %
<i>A. cloacae</i> isol. de água	26	0	26	0 %	0	26	0 %	100 %
<i>E. typhosa</i>	40	40	0	100 %	40	0	100 %	100 %
<i>P. vulgaris</i>	4	4	0	100 %	4	0	100 %	100 %
<i>P. americanus</i>	15	15	0	100 %	15	0	100 %	100 %

Houve concordância em 100% dos casos entre o meio de Levine e Vaughn e o meio que estudamos. Com a *E. freundii* tivemos 75,5% das reações positivas (em ambos os meios), o que está em desacordo com Levine e Vaughn que obtiveram 100% de reações positivas com 43 amostras de germes "Intermediários" do grupo coli-aerógenes. Porém em trabalho posterior Vaughn e Levine estudaram 169 amostras de "Intermediários" obtendo só 74% de reações positivas.

A reação de H_2S não pode, pois, competir com a prova do citrato (meio de Koser e meio de Simon) para diferenciar a *E. coli* da *E. freundii*.

A reação com o meio que descrevemos é nítida e de facil interpretação. Processa-se em menos de 24 horas com as *salmonellas*, *proteus* e *E. freundii*. Com o b. tífico a reação é positiva somente em 48 horas.

RESUMO

O A. descreve um meio para prova de H_2S à base de soro de boi e com citrato de ferro amoniacal como indicador.

O meio não contém peptona, cujo valor na produção de H_2S varia com a origem.

Em estudos comparativos com o meio de Levine e Vaughn (1932) houve concordância em 100% dos casos. Foram empregadas 90 amostras de *salmonellas*, 40 de *E. typhosa*, 36 de *S. ambigua*, 19 de *proteus*, 280 de *E. coli*, 55 de *E. freundii*, 38 de *A. aerogenes* e 26 de *A. cloacae*.

ABSTRACT

In the present paper the A. describes a new medium as a test for H_2S , production by bacteria using beef-serum as base, and ammonio-citrate iron as indicator.

The medium does not contain peptone the value of which varies in production of H_2S according to its origin.

In comparative studies with the medium of Levine and Vaughn (1932) the A. observed that the results agreed in 100% of the cases. There were tested 90 strains of *Salmonellas*, 40 of *E. typhosa*, 36 of *S. ambigua*, 19 of *Proteus*, 280 of *E. coli*, 55 of *E. freundii*, 38 of *A. aerogenes* and 26 of *A. cloacae*.

BIBLIOGRAFIA

- ALMY, L. H. e JAMES, L. H. — 1926 — *Jour. Bact.*, 12, 319.
BAILEY, S. F. e LACY, G. R. — 1927 — *Jour. Bact.*, 13, 183.
BÜRGER, M. — 1914 — *Arch. für Hyg. und Bakt.* 82, 201 (cit. por Wilson).
BURNET, Et. e WEISSENBACH, R. J. — 1915 — *C. R. Soc. Biol.*, 68, 565.
CARVALHO LIMA e QUEIROZ TELES — 1940, *Ann. Paul. Med. e Cir.* 39, 9.

- CONN, H. J. — 1922 — *Jour. Bact.*, 7, 5.
- Committee on Bacteriological Technic Soc. Amer. Bact. — Methods of pure Culture Study — 1923 — A. 32.
- DARLING, S. T. — 1913 — *Am. Jour. Publ. Health*, vol. III, n.º 3 (citado por Carvalho Lima e Queiroz Teles).
- GAYON, M. V. — 1877 — *C. R. Sci.*, 85, 1074.
- GROSSO, G. — 1917 — *Pathologica*, 9, 183.
- HAWK, P. B. — 1918 — Practical Physiological chemistry, 6.^a Ed. (citado por Tilley).
- HEAP, H. e CADNESS, B. H. E. — 1924-25 — *Jour. Hyg.*, 23, 77.
- HUNTER, C. A. e CRECELIUS, H. C. — 1938 — *Jour. Bact.*, 35, 185.
- JORDAN, E. O. e VICTORSON, R. — 1917 — *J. Inf. Dis.*, 20, 457.
- KAHN, M. C. — 1925 — *Jour. of Bact.*, 10, 439.
- KLIGLER, I. J. — 1918 — *Jour. Exp. Med.*, 28, 319.
- KLIGLER, I. J. — 1917 — *Am. J. Publ. Health*, 7, 1042.
- KHOMENKO, I. A. — 1941 — Ref. no *Chemical Abstracts*, 35, 1082.
- LEVINE, M. e outros — 1934 — *Am. J. Publ. Health*, 24, 505.
- LEVINE, M. e outros — 1932 — *Proc. Soc. Biol. and Med.*, 29, 1022.
- LEVY, Pierre-Paul e PASTEUR VALERY, Radot — 1915 — *Presse Med.*, 51, 420.
- MORISHIMA, Kau-Ishico — 1918 — *Jour. Bact.*, III, 19.
- MEYRS, J. T. — 1920 — *Jour. Bact.*, 5, 231.
- NENKI — 1910 — *Monat. für Chem.*, 9 (apud. Kruse-Allg. Mikr. Leipsig 1919) (citado por Pacheco e Costa).
- ORLOWSKI — 1895 — *Jour. Med. Milit. Russe, After Jahresber. Path. Microorgan.*, 11, 528.
- PACHECO, G. e COSTA, G. A. — 1940 — *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35, 311.
- PACHECO, G. e COSTA, G. A. — 1940 — *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35, 381.
- PACHECO, G. e MELO, T. — 1932 — *An. Fac. Med. S. Paulo*, 8, 93.
- PATRICK, R. e WERKMAN, C. H. — 1933 — *Iowa State College Jour. Sci*, 7, 404 (citado por Vaghn e Levine).
- PETRI, R. J. e MAASSEN, A. — 1894 — *Zentralblatt*, 15, 908, ref.
- PETRI, R. J. e MAASSEN, A. — 1894 — *Zentralblatt*, 15, 906.
- PULLAR, E. e MURRAY, — 1936 — *J. Path. and Bact.*, 42, 513.
- REDFIELD — Tese de doutoramento, citado por Myers.
- RUBNER, M. — 1893 — *Zentralblatt. f. Bakt.*, 14, 64, ref.
- SACQUEPÉE e CHEVREL — 1905 — *C. R. Soc. Biol.*, 59, 535.
- SEIFFERT, O. — 1909 — *Zeit. für Hyg. u. Infektionskrankheit.*, 63, 273. (citado por Heap e Cadness).
- SASAKI, T. e OTSUDA, I. — 1912 — *Bioch. Zeit.*, 39, 208.
- SCHARDINGER, R. — 1894 — *Zentralblatt. f. Bakt.*, 16, 853, Orig.
- Society of Amer. Bact. Manual of Methods for Pure Culture os Bacteria — 1936.

- SCHUMK, I. V. e J. ELISA MITCHELL — 1924 — *Sci. Soc.*, 40, 107 (citado por Carvalho Lima e Queiroz Teles).
- SPRAY — 1936 — *Jour. Bact.*, 32, 135.
- TILLEY, F. W. — 1923 — *Jour. Bact.*, 8, 115.
- TILLEY, F. W. — 1923 — *Jour. Bact.*, 8, 287.
- TANNER, F. W. — 1917 — *Jour. Bact.*, 2, 585.
- THOMPSON, L. S. — 1921 — *Jour. Med. Res.*, 42, 383.
- TISTSLER, R. P. e SANDHOEZER — 1937 — *Am. Jour. Publ. Health*, 27, 1240.
- TRIBONDEAU, L. C. — 1918 — *C. R. Soc. Biol.*, 81, 524.
- VAUGHN, R. e LEVINE, M. J. — 1936 — *Jour. Bact.*, 32, 65.
- WILLIAM, P. e outros — VTDJ — *Jour. Bact.*, 40, 448.
- WILSON, W. J. — 1923 — *Jour. Hyg.*, 21, 392.
- WOHLGEMUTH, J. — 1... — *J. Zeit. f. Phys. Chem.*, 43, 641 (citado por Pacheco e Costa).
- ZOBELL, C. E. e MEYERS, K. F. — 1932 — *Jour. Inf. Dis.*, 51, 91.
- ZOBELL, C. E. e FELTHMAN, C. B. — 1934 — *Jour. Bact.*, 28, 169.

DADOS EPIDEMIOLÓGICOS SOBRE A DOENÇA DE CHAGAS EM UMA ZONA RESTRITA DO ESTADO DE SÃO PAULO

J. O. COUTINHO

Do Instituto Adolfo Lutz

Os estudos sobre a doença de Chagas no Estado de S. Paulo têm sido realizados de maneira pouco sistematizada, principalmente no que se refere à disseminação da doença.

Num longo período que vai até 1938 foram relatados para todo o Estado apenas 5 casos, embora seja grande a disseminação do *Triatoma infestans*, principal transmissor, entre nós, do *Trypanosoma cruzi*.

Os casos até aquela data são, na ordem cronológica, os seguintes: 1 de Bayma¹ (1914) em Ribeirão Preto; 1 de Carini e Maciel² (1914) de Brotas; Meyer³ (1915) cita, em relatório, mais um caso de Bayma, também de Ribeirão Preto; Vilela⁴ (1918) descreve 1 caso agudo em uma criança de Prata; muito posteriormente, Deusdedit⁵ (1934) refere-se a um caso sem, entretanto, ter diagnóstico parasitológico.

Ultimamente, devido aos estudos de pesquisadores estrangeiros, principalmente de Mazza⁶ e colaboradores, na Argentina, e Talice⁷ e aliados, no Uruguai os nossos pesquisadores começaram a encarar a questão com maior cuidado. Vemos assim que os casos, de 5 que eram até 1938, se elevaram até o presente a 11, registrando-se ainda o encontro de alguns animais (cães) naturalmente infectados.

Assim, Nelson V. de Barros⁸ (1938), em excursão feita ao município de Franca, relatou o achado de um cão parasitado pelo *Trypanosoma cruzi*, em uma casa onde era grande a incidência de *T. infestans* infectados. Cardoso e Rosenfeld⁹ (1940) relataram o

(+) Trabalho feito no Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob os auspícios da Comissão de Estudos da Leishmaniose, anexa ao Instituto Adolfo Lutz.

encontro de 3 casos humanos no município de Ituverava. Cardoso e Navajas¹⁰ (1941) comunicam o achado de mais 2 cães com a tripanosomose e dão o índice de infecção de barbeiros no Núcleo Colonial Barão de Antonina, em Itaporanga. E, muito recentemente, Pessôa, Coutinho e Moreira¹¹ (1941) assinalam 1 caso de uma criança em Pedregulho. Cardoso, Navajas e Alves dos Santos¹² (1941) descrevem mais 2 casos de Itaporanga.

O Prof. S. B. Pessôa, encarregado de chefiar a Comissão de Estudo da Leishmaniosê do Departamento de Saude do Estado, tendo verificado o que atrás dissemos sobre a necessidade de melhor sistematização dos estudos epidemiológicos referentes a essa tripanosomose no nosso Estado, encarregou-nos de estudar o problema em uma zona restrita. Para isso foi escolhido o Núcleo Colonial Barão de Antonina que oferece as condições propícias para desenvolvimento do plano traçado.

Com efeito, o Núcleo é constituído por uma faixa de terra situada entre os Rios Verde e Itararé, na zona Sul do Estado, no limite com o Paraná. Sua população é muito heterogênea, composta de colonos estrangeiros e elementos nacionais de outros pontos do país.

Com exceção da sede que é formada de casas de madeira e de alvenaria bem rebocadas, o tipo predominante de habitação é a casa de pau-a-pique barreada, cobertas umas de sapé, outras de telha (Fig. 1). Este tipo constitui o habitat ideal para o desenvolvimento de barbeiros, sendo aí, quasi na totalidade, habitadas por estes hematófagos com um índice de infecção de 45,3%, segundo Cardoso e Navajas¹⁰ (1941), e, segundo os nossos dados, de 64,2%.

O plano traçado, de um modo geral, visou:

- a) determinar previamente o índice de infecção de barbeiros nas casas de pau-a-pique;
- b) exame coletivo da população das casas em que fossem encontrados barbeiros parasitados;
- c) exame dos indivíduos que residiram algum tempo em casas dessa natureza;
- d) repetir a prova nos indivíduos que dessem o primeiro exame negativo.

Tendo-se assim em vista conhecer o número de pessoas com tripanosoma no sangue na zona escolhida, idealizamos para isso

a aplicação, em massa, dos métodos abaixo, na população morando em casas de pau-a-pique com triatomas infectados:

- a) exame de sangue periférico em gota espessa;
- b) intradermo-reação com antígeno de *Trypanosoma cruzi* preconizada por Meyer e Pifano¹³ (1941);
- c) xenodiagnóstico com *Triatoma infestans* de criação de laboratório.

Preliminarmente resolvemos, antes da execução total do plano visado, escolher algumas casas e um pequeno número de habitantes daquela localidade, para nos certificarmos do êxito provável de tal empreendimento, na descoberta de novos casos. Para isto separamos 50 indivíduos indiscriminadamente de várias idades e dos dois sexos, moradores das casas referidas acima. É o resultado deste inquérito preliminar que relatamos nesta nota.

O exame de gota espessa nada revelou entre os 50 pacientes examinados, nem mesmo para um caso que nos pareceu agudo, confirmado depois pelo xenodiagnóstico.

A intradermo-reação não nos pareceu eficaz; antes mesmo de iniciar o trabalho escolhemos 2 casos que haviam antes sido diagnosticados como doença de Chagas, por Cardoso, Navajas e Alves dos Santos¹⁰ (1941) e, ainda com *Trypanosoma* no sangue periférico, revelado pelo xenodiagnóstico. Feita a reação recomendada por Meyer e Pifano em ambos, o resultado foi negativo. Para certeza de que o antígeno era capaz de desencadear uma reação alérgica, utilizamos doentes de leishmaniose, com lesões ativas, nestes positivamente com quasi a mesma intensidade que com o antígeno específico, confirmando o que achou Pessôa em trabalho lido na Sessão de Junho da Secção de Dermatologia da Associação Paulista de Medicina: — “Positividade da intradermo-reação na leishmaniose com antígeno de *T. cruzi*”. Mesmo assim, pensamos que o material é insuficiente para um julgamento definitivo de seu valor, e pretendemos continuar a empregá-la em maior número de casos.

XENODIAGNÓSTICO

Com este meio de diagnóstico estão baseadas as observações realizadas nos 50 indivíduos deste inquérito preliminar.

Foram utilizados para os xenodiagnósticos ninfas de *Triatoma infestans*, de criação de laboratório, livres de tripanosomas, 4 ninfas

para cada pessoa. Estas, após o repasto sanguíneo no paciente, eram mantidas em temperatura nas vizinhanças de 25°C. e examinadas após um mês de incubação.

Como resultado de nossas primeiras pesquisas de campo obtivemos o seguinte: do total, 4 xenodiagnósticos mostraram-se positivos para o *Trypanosoma cruzi*, e em dois deles os doentes apresentavam sinais clínicos da doença. Nos dois restantes não havia referência a sinais nem encontramos sintomas clínicos da doença, mas residiam em casa altamente infestada por barbeiros.

Os doentes constam de 2 adultos e 2 crianças cujas observações relatamos abaixo:

CASO I — Temoteo Uchinsck, masculino, branco, casado, 41 anos, Russo (Bessarábia), residente no Núcleo, no lote 11-12 desde 1933, em casa de pau-a-pique, em índice de infecção de *Triatoma infestans* de 50%.

Como doenças anteriores refere-se a vários acessos de malária (terça maligna).

Examinado anteriormente pelo Dr. I. A. S., médico do Núcleo, apresentava edema palpebral unilateral direito, sem dacrioadenite. Edema mole, róseo do olho direito, predominando na pálpebra superior no ângulo súpero-interno. Pálpebra inferior quasi indene. Córnea e conjuntiva congestas, glândulas lacrimais indenens. Adenite preauricular do lado direito, apresentando um gânglio grande e ligeiramente doloroso. Temperatura axilar no momento do exame, 36°9.

Demais órgãos e aparelhos sem outros sinais clínicos evidentes ao exame sumário realizado.

Exame de sangue, entre lâmina e lamínula, em gota espessa e em lâmina estirada — negativo, embora repetido.

Xenodiagnóstico: realizado em 9-1-41 com 4 ninfas de *T. infestans*, positivo após um mês de incubação.

CASO II — Maria de Jesus Veiga, 30 anos, casada, brasileira, vinda de S. João da Boa Vista, residindo há algum tempo no Núcleo, no lote 74, em casa de pau-a-pique barreada e coberta de sapé. Índice de infecção do *T. infestans* na casa de 60%.

Apareceu à consulta no Centro de Saude do Núcleo nos primeiros dias de Junho dêste ano, dizia-se doente há cerca de 15 dias, queixando-se de dôr de dente e de um olho inchado.

Ao exame realizado no momento pelo Dr. I. Alves dos Santos, apresentava edema palpebral unilateral, edema mole, róseo das pálpebras, conjuntiva e esclerótica congestionadas quasi sem secreção, glândulas lacrimais indenens. Gânglio pre-auricular do mesmo lado do edema infartado e grande. Temperatura axilar no momento do exame, 37°2.

Exame de sangue periférico, entre lâmina e lamínula, gota espessa e lâmina estirada — negativo.

Xenodiagnóstico: realizado em 9-6-41 com 4 ninfas de *T. infestans*, examinados os barbeiros 1 mês depois (9-7-41) estavam altamente infectados por formas metacíclicas do *T. cruzi*.

Nesta doente não foram possíveis exames mais detalhados em virtude de ter-se mudado para o Estado do Paraná em local por nós desconhecido.

CASO III — Teresa Silva, 7 anos, parda, brasileira, residente há 3 anos no Núcleo, no lote 397, em casa de pau-a-pique barreada coberta de sapé (Fig. 1). Índice de infecção de barbeiros na casa de 79,2%.

Como antecedentes mórbidos referiu-se a malária, ascarirose, e não há referência ao complexo oftalmo-ganglionar.

Exame, pele e mucosas descoradas. Gânglios sub-maxilares infartos, predominando o direito, dentes perfeitos, amidalite hipertrófica. Hepertrofia difusa da tiróide, exoftalmia (Fig. 2). Ausência de sinais clínicos de sífilis. Pulmões normais. Baço palpável tipo 2 escala de Boyd. Coração normal à escuta, sem arritmia e taquicardia. Sistema nervoso normal.

Ao rápido exame realizado só notamos digno de nota: palidez da pele e mucosas, hipertrofia difusa da tiróide e exoftalmia.

Exame de sangue periférico em gota espessa entre lâmina e lamínula e esfregaços — negativo.

Xenodiagnóstico: realizado em 4-6-41 com 4 ninfas de *T. infestans*, examinados os triatomas 1 mês após o repasto sanguíneo, mostraram-se positivos para formas metacíclicas do *Trypanosoma cruzi*.

CASO IV — Atanael Felipe Araujo, masculino, 7 anos, preto, brasileiro, residente no Núcleo, no lote 100, há muito tempo, em casa de pau-a-pique barreada e coberta de sapé, infestada por barbeiros com um índice de infecção de 37,5%.

Em sua história não se refere a sinais clínicos da fase aguda da doença; tem passado malário.

Exame, pele e mucosas descoradas, gânglios impalpáveis. Tiróide normal, sem exoftalmia.

..Aparelho respiratório: normal.

Aparelho circulatório: coração aparentemente normal à escuta, ausência de arritmia e taquicardia.

Baço palpável e duro.

Exame de sangue periférico negativo para *T. cruzi* em gota espessa, entre lâmina e lamínula a fresco e em esfregaços.

Xenodiagnóstico: realizado em 1-6-41 com 4 ninfas de *Triatoma infestans*, examinadas 1 mês após o repasto humano, estavam positivas para formas metacíclicas de *T. cruzi*.

COMENTARIOS

Nesta nota relatamos os motivos que nos levaram à realização deste inquérito preliminar. As observações dos casos encontrados positivos são dados de uma maneira muito resumida: — não é nossa finalidade principal o estudo clínico dos casos, mas sim verificar a incidência da doença nos moradores daquela zona, uma vez que

os dados que atualmente possuímos sobre a extensão da doença são muito escassos, dando a impressão de sua quasi inexistência no Estado. A parte clínica será, naturalmente, cuidada com a ampliação do inquérito e com o aumento do número de casos que fatalmente irá surgir.

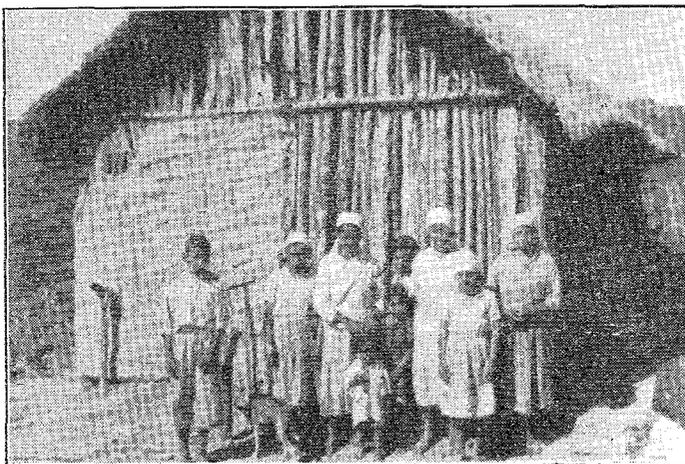


FIG. 1

Casa de pau-a-pique altamente infestada por *Triatoma infestans* e onde foi encontrado um caso de doença de Chagas.

Nenhuma conclusão pode ser tirada no momento, uma vez que as observações são ainda em número reduzido.

Apenas podemos chamar a atenção para certos pontos:

1º) que o xenodiagnóstico é o método ideal para um inquérito da doença de Chagas, embora apresente certas dificuldades, que podem ser removidas. Mazza⁶ (1940) diz que seus resultados são idênticos aos de gota espessa. Verificamos, entretanto, o contrário do que pensa aquele autor.

2º) que o exame feito em uma amostra de 50 pessoas morando em casas com triatomas infectados, sem escolha de casos, nos forneceu uma porcentagem da doença de 8%.

Reputamos como alta a incidência da moléstia de Chagas naquela localidade.

Os estudos deverão ser continuados para uma melhor visão de conjunto sobre a extensão do mal.

Deixamos consignados aqui os nossos agradecimentos ao Dr. I. Alves dos Santos, laborioso médico do Núcleo, pelas facilidades que nos proporcionou na execução dos trabalhos.

RESUMO

O A. após tecer comentários sobre a falta de estudos sistematizados quanto à epidemiologia da Moléstia de Chagas no Estado de São Paulo, relata em nota os resultados obtidos na fase inicial de um inquérito realizado em uma localidade (Núcleo Colonial Barão de Antonina, município de Itaporanga, S. Paulo, Brasil).

Tendo separado 50 pessoas, da localidade, moradores em casas com triatomas infectados, encontrou 4 com *Trypanosoma cruzi* no



FIG. 2

Fotografia de uma criança com forma crônica de doença de Chagas.

sangue periférico; o que dá uma porcentagem de 8% de doentes. Como não houve escolha de indivíduos acha que tal índice é muito elevado. Ressalta o valor do Xenodiagnóstico como meio de diagnóstico para a doença, tanto na fase aguda como nos casos crônicos. Chama a atenção para a menor eficácia da gota espessa em relação ao último e descrê o valor da intradermo-reação com antígeno de *Trypanosoma cruzi*. Tece comentários em torno do tipo de habitação existente na localidade.

SUMMARY

The A. after commenting the lack of systematic studies in epidemiology of Chagas disease in the State of São Paulo, Brazil, gives the results obtained in the initial phase of a survey made in a small locality (Núcleo Colonial Barão de Antonina, Itaporanga, São Paulo).

Four persons out of 50, who lived in houses in which were found infected kissing-bugs, showed *Trypanosoma cruzi* in the peripheral blood, giving a significant result of 8%.

This result emphasizes the value of the xenodiagnostic as a means of detecting the disease, either in the acute or chronic phase.

Attention is called to the relative efficiency of the thick-film method in comparison to the good results obtained with the xenodiagnostic.

A small number of intradermoreaction employed did not give good results to the Author. Further experiments, however, must be made. Every sort of houses are mentioned, and commented in relation to the possibilities of being good breeding places for the kissing-bugs.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BAYMA, T. — 1941 — *Rev. Med. de S. Paulo*, XVII, 1, 21.
- 2 — CARINE, A. e MACIEL, J. — 1914 — *Ann. Paul. Med. e Cir.*, II, 3, 75-77.
- 3 — MEYER, C. L. — 1915 — Relatório sobre a administração e os trabalhos do Instituto Bacteriológico durante o ano de 1914. — S. Paulo — Tip. Diário Oficial — 1915.
- 4 — VILELA, E. — 1918 — *Brasil Médico*, XXXII, 9 65.
- 5 — ALVES, DEUSDEDIT — 1934 — *Gaz. Ch.*, XXXII, 8, 223-225.
- 6 — MAZZA, S. — 1940 — Métodos de investigación de la Enfermedad de Chagas. La vicerotomia Cardio-héptica — M. E. P. R. A. Publicação n.º 43, 3-19.
- 7 — TALICE, R. e col. — 1940 — Enfermedad de Chagas. Monografía del Instituto de Higiene de Montevideo.
- 8 — BARROS, N. V. — 1938 — *Rev. Biol. Hig.*, 9, 2, 97-100.
- 9 — CARDOSO, F. A. e ROSENFELD, G. — 1940 — *Rev. Clin. S. Paulo*, VII, 5, 155-173.
- 10 — CARDOSO, F. A. e NAVAJAS, E. — 1941 — *Rev. Clin. S. Paulo*, 9, 6 179-187.
- 11 — PESSÔA, S. B., COUTINHO, J. O. e MOREIRA, J. D. — em publicação na *Rev. Clin. S. Paulo*.
- 12 — CARDOSO, F. S., NAVAJAS, E. e ALVES DOS SANTOS, J. — em publicação na *Rev. Clin. S. Paulo*.
- 13 — MEYER, M. e PIFANO, F. — 1941 — *Brasil Médico*, IV, 18, 317-319.

TÉCNICA DO PREPARO DA VACINA E ANTÍGENO PARA A LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.

MARCELO OSVALDO ÁLVARES CORRÊA

Médico do Serviço de Leishmaniose com exercício no Instituto Adolfo Lutz

A finalidade do presente artigo reside na exposição da técnica seguida pela Comissão de Estudos da Leishmaniose, no preparo da vacina profilática e do antígeno para intradermo-reação de Montenegro, técnica esta apurada e estandardizada depois de passar por modificações inúmeras, ditadas pela experimentação e pela prática diária.

A vacinação preventiva com germes mortos foi pela primeira vez efetuada em larga escala pela Comissão de Estudos da Leishmaniose; já anteriormente Sales Gomes¹ havia tentado iniciar experiências nesse sentido com vacinas dosadas para tal fim, mas não lhe foi possível levá-las avante por motivos de força maior.

Os resultados obtidos foram assaz animadores, demonstrando claramente o aparecimento de notável resistência à leishmaniose nos indivíduos vacinados, como se depreende dos trabalhos publicados pela Comissão sobre o assunto 2-3. O real valor profilático da vacinação confere-lhe os méritos de, juntamente com a profilaxia medicamentosa do homem parasitado, — o único provável reservatório do parasita — constituir a coluna mestra da luta contra a endemia, tanto mais que o combate aos flebótomos transmissores ainda é possibilidade longínqua dado o conhecimento pouco satisfatório das espécies incrimináveis e suas respectivas biológicas.

A reação alérgica de Montenegro, ainda é o método mais prático e seguro para o diagnóstico da leishmaniose tegumentar, em se atendendo às condições de trabalho nas zonas rurais. Não é de absoluta especificidade, porquanto é positiva na tuberculose

Recebido para publicação em 15 de Outubro de 1941.

ganglionar⁴, podendo ser negativa nos casos em início e em raros casos antigos; é todavia o melhor método devendo ser interpretada segundo o critério clínico⁵, pois há possibilidade de reações negativas e falsas em casos especiais, como acima assinalámos.

Por conseguinte, cremos ser de interesse o relato da técnica empregada no preparo da vacina e do antígeno.

ISOLAMENTO DAS LEISHMANIAS

Efetuada com o fito de fornecer cepas para o preparo de vacina e antígeno, o isolamento tem obedecido à técnica que descrevemos abaixo, de resultados sempre positivos e com pequeno número de tubos contaminados.

Escolhe-se um nódulo de preferência ainda não ulcerado, fazendo-se cuidadosa assepsia da região com tinctura de iodo e lavando-se posteriormente com solução fisiológica esterilizada. Após anestesia local com cloretila, com uma agulha de punção, de calibre grosso, fazem-se várias perfurações em sentido oblíquo ao redor da lesão tendo-se o cuidado de evitar que a ponta da agulha ultrapasse a zona limítrofe da mesma, injetando-se ao mesmo tempo, solução fisiológica. Com uma pipeta Pasteur estirada, aspira-se então pelos orifícios assim feitos o líquido sanguinolento que se semeia em tubos para cultura, nunca menos de 10 para cada isolamento.

Em lesões francamente ulceradas faz-se assepsia com tinctura de iodo ou sublimado, lava-se com álcool e solução fisiológica e pratica-se a curetagem dos bordos da úlcera semeando o material com alça de platina.

As amostras com que trabalhamos atualmente são as seguintes, com seus respectivos números de repiques até 14-10-1941:

Amostra n.º 1 — Proveniente do Instituto Adolfo Lutz em 3-7-1939; número de repiques 123.

Amostra n.º 2 — Proveniente do Instituto Adolfo Lutz em 3-7-1939; número de repiques 120.

Amostra n.º 3 — Amostra J. V., proveniente do Instituto Adolfo Lutz em 3-7-1939; número de repiques 126.

Amostra n.º 4 — Amostra J. A., proveniente do Instituto Adolfo Lutz em 3-7-1939; número de repiques 127.

- Amostra nº 5* — Isolada no Departamento de Parasitologia do Snr. A. B. C. em 3-1-1940; número de repiques ... 81.
- Amostra nº 6* — Isolada no Departamento de Parasitologia em 31-5-1940 de nódulo nasal do Rhesus nº 1 inoculado com amostra nº 5; número de repiques 52.
- Amostra nº 7* — Isolada no Departamento de Parasitologia em 18-4-1940 de nódulo nasal do Rhesus nº 2 inoculado com amostra nº 5; número de repiques 50.
- Amostra nº 8* — Isolada do Snr. A. N. no Departamento de Parasitologia em 29-7-1940; número de repiques 43.
- Amostra nº 9* — Isolada no Departamento de Parasitologia em 18-4-1940 de nódulo nasal do Rhesus nº 2 inoculado com amostra nº 6; número de repiques 42.
- Amostra nº 10* — Isolada do Snr. J. F. L. em Araçatuba em Outubro de 1940; número de repiques 32.
- Amostra nº 11* — Isolada do Snr. A. C. em Araçatuba em Outubro de 1940; número de repiques 35.
- Amostra nº 12* — Isolada no Departamento de Parasitologia em 11-4-1941 de nódulo nasal do Rhesus nº 11 inoculado com material de várias amostras; número de repiques 14.
- Amostra nº 13* — Isolada no Departamento de Parasitologia em Maio de 1941 de nódulo nasal do Rhesus nº 12 inoculado com material de várias amostras; número de repiques 10.
- Amostra nº 14* — Isolada no Departamento de Parasitologia em 23-6-1941 de nódulo do Rhesus nº 13 inoculado com material de várias amostras; número de repiques 8.

MEIOS DE CULTURA

Inicialmente foi usado o clássico meio de N. N. N. cujo rendimento entretanto não era dos mais satisfatórios, uma vez que havia necessidade de culturas bastante ricas dada a elevada concentração de leptomonas exigida pela vacina; por outro lado, neste meio as leptomonas aglutinavam em grandes grumos, tornando pouco homogênea a emulsão para a vacina ou antígeno. Por tais razões Rugai iniciou pesquisas sistemáticas visando a obtenção dum meio de cultura bastante satisfatório e econômico, objetivo este atingido

com o meio que descreve no número anterior desta Revista⁶. Com efeito, o funcionamento deste meio tem sido excelente proporcionando abundante crescimento e aglutinação muito menos intensa que a obtida com o meio de N. N. N.: o fator econômico foi respeitado uma vez que orçando em 3\$000 o preço de 1 litro deste último, o custo de igual quantidade do meio de Rugai orça em 4\$000.

Foi também experimentado por nós o meio de Salle⁷ que proporciona crescimento abundante e bastante homogêneo. Tendo em vista entretanto o seu alto custo — 14\$000 o litro — e a satisfatória homogeneidade do crescimento em meio de Rugai, mais simples e econômico, a preferência deste último se impõe.

TÉCNICA DE PREPARO

As várias amostras de leptomonas de que dispomos são mantidas em culturas por repiques sucessivos fazendo-se a semeadura em tubos de ensaio de 15 x 160 mms.. Distribuem-se 6 cc. do meio deixando-se os tubos inclinados até solidificar; juntam-se então 2-3 cc. de solução de cloreto de sódio a 12^o/₀₀ e guarda-se à temperatura ambiente, sendo conveniente usá-los dentro de 2-5 dias.

As culturas necessárias para semeadura das garrafas provêm de tubos maiores, de 21 x 210 mms. nos quais usamos 15 cc. do meio e 5-6 cc. de solução de cloreto de sódio a 12^o/₀₀; o fato de utilizarmos tubos de dimensões diferentes explica-se por razões econômicas.

Os repiques são feitos de um tubo para outro, após prévio exame ao microscópio da cultura, por meio duma alçada que se mistura com o líquido do tubo a repicar.

As culturas finais para o preparo da vacina e antígeno são feitas em garrafas de Roux deitadas.

Os frascos usados inicialmente são bem lavados com sabão comum e cheios com a seguinte solução, com a qual permanecem durante 24 horas;

Solução saturada de bicromato de potássio ..	50 cc.
Ácido sulfúrico	50 cc.
Água	1.000 cc.

Lava-se em água corrente e seca-se em estufa.

Como o gargalo do frasco é assaz largo, contorna-se este inconveniente que aumenta as possibilidades de contaminação, com o

seguinte artifício, correntemente usado: Tomam-se tubos de ensaio de 15 x 160 mms., corta-se o fundo, enrola-se em algodão e ajusta-se firmemente ao gargalo, fechando naturalmente a abertura externa com tampão de algodão. Protege-se o conjunto por um capúz de papel.

Em cada frasco distribuem-se 100 cc. da base do meio de Rugai e esteriliza-se a 110°C. durante 20 minutos; resfria-se a 56°C. e adicionam-se 15-20 cc. de sangue de coelho desfibrinado, mistura-se sem fazer bolhas e colocam-se as garrafas inclinadas até solidificar.

Para a sementeira toma-se um tubo dos maiores — um para cada garrafa — examina-se previamente uma alçada do mesmo ao microscópio, juntam-se diretamente no tubo 15 cc. de solução de cloreto de sódio a 12‰, mistura-se bem, aspira-se com pipeta e transporta-se para o frasco de Roux. Guarda-se à temperatura ambiente.

Para a decantação, escolhem-se frascos com tempo de cultura entre 10-15 dias tirando-se uma alçada para exame, agita-se e aspira-se o conteúdo com pipeta de 20 cc. e lava-se o frasco com 10 cc. de solução de cloreto de sódio a 12‰, para acarretar o restante das leptomonas. O líquido extraído é colocado em tubos de centrifugação esterilizados, fechados com tampão de algodão solidamente presos por elásticos; centrifuga-se durante 10 minutos com velocidade de 3 a 5.000 rotações.

Decanta-se o líquido sobrenadante e lava-se o sedimento duas vezes, com solução de cloreto de sódio a 8,5‰, centrifugando sempre da mesma maneira.

Preparo da emulsão — em balão de 500 cc., com pérolas de vidro, colocam-se 300 cc. de solução de cloreto de sódio a 8,5‰ feita em água bi-distilada e esteriliza-se em autoclave a 120°C., meia hora. Os sedimentos do tubos são emulsionados com 10 cc. desta solução e adicionados ao balão, até se obter uma opacidade de suspensão igual à do padrão. Usam-se aproximadamente 6-8 garrafas para a emulsão da vacina e 1-2 para o do antígeno.

Guarda-se o balão em estufa a 40°C. durante 4 dias, agitando-se durante 10 minutos, 2 a 3 vezes por dia; ajunta-se então ácido fênico puro na proporção de 0,4%, guarda-se mais um dia e distribue-se em ampolas de 1 cc..

Como garantia final contra uma eventual contaminação, as ampolas são submetidas a 3 banho-marias a 60°, com duração de meia-hora cada um.

CONTAGEM DO NÚMERO DE LEPTOMONAS

O padrão é uma emulsão em que foi feita a contagem aproximada do número de leptomonas por centímetro cúbico, sendo renovado de 3 em 3 meses. A contagem é sempre feita logo que a emulsão é dada como satisfatória, porquanto os tempos posteriores alteram as leptomonas tornando pouco prática a contagem.

Está atualmente fixado como concentração ótima, para vacina o número de 90 a 100.000.000 de leptomonas por cc. e para o antígeno de 3. a 5.000.000.

Para a contagem emprega-se o hematímetro de Thoma-Leitz, fazendo-se a contagem tal qual se faz para glóbulos brancos: aspira-se até a marca 1, a emulsão a ser contada — antígeno ou vacina — e completa-se até a marca 11 com solução de formol a 10% que mata e fixa as leptomonas.

CONTROLE DE ESTERILIDADE

É feito pela secção competente do Instituto Adolfo Lutz sendo o conteúdo da ampola semeado em meios próprios para aeróbios, anaeróbios e cogumelos. Os meios usados são os seguintes:

A — MEIOS PARA AERÓBIOS

- 1 — Agar comum inclinado.
 - 2 — Caldo comum.
 - 3 — Meio semi-sólido de Hitchens.
- Incubar a 37°C. durante 15 dias.

B — MEIOS PARA ANAERÓBIOS

- 1 — Meio semi-sólido de Hitchens com Vaspar.
- Incubar a 37°C. durante 15 dias.

C — MEIOS PARA COGUMELOS

- 1 — Meio de Sabouraud (líquido).
- 2 — Meio de Sabouraud (sólido).
- 3 — Meio com mel.

Incubar a 20°C. ou deixar em temperatura ambiente, durante 15 dias.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — SALES GOMES, L. — 1939 — *Brasil Médico*, 33:49, 1079.
- 2 — PESSOA, S. B. & PESTANA, B. R. — 1940 — *Rev. de Biol. e Higiene*, 10 (2), 112-118, Junho.
- 3 — PESSOA, S. B. — 1941 — *A Folha Médica*, 25 de Julho.
- 4 — CORRÊA, Clovis — 19 — *Acta Médica*, vol. 6, n.º 2, pag. 91.
- 5 — PESSOA, S. B. & PESTANA, B. R. — 1940 — *São Paulo Médico*, Ano XII, vol. II ns. 5 e 6, Nov.-Dez.
- 6 — RUGAI, E. — 1941 — *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, Vol. I, n.º 1, Julho, pgs. 153-159.
- 7 — SALLE — 1931 — *J. Inf. Diseases*, 49, pg. 473.

ORIENTAÇÃO PRÁTICA PARA A IDENTIFICAÇÃO DAS LEVEDURAS *

FLORIANO DE ALMEIDA

1.º Assistente e docente livre de Microbiologia
da Faculdade de Medicina

CARLOS DA S. LACAZ

2.º Assistente substituto de Microbiologia da
Faculdade de Medicina

OLGA DE BARROS

Química do Instituto Adolfo Lutz

INTRODUÇÃO

São enormes as dificuldades que se encontram na identificação genérica e específica das leveduras. Numerosos trabalhos referentes à sistemática desses cogumelos têm sido publicados, mas até o presente momento nada de definitivo se estabeleceu. A orientação dada pelos micologistas é, como veremos, muitas vezes a mais diversa possível e, daí, as dificuldades.

As leveduras apresentam enorme importância não só médica como também industrial. Pesquisas bem conduzidas deveriam ser levadas a efeito em nosso meio a fim de se determinar com precisão a frequência das leveduras humanas nas suas diferentes modalidades clínicas. Há alguns anos, na Seção de Micologia do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Medicina, vimos chamando a atenção dos clínicos em geral para a importância que essas leveduras apresentam em medicina. Está hoje em dia perfeitamente demonstrado que certas leveduras exercem uma ação patogênica nítida e apreciável sobre territórios diferentes do nosso organismo. Resulta que um estudo cuidadoso desses cogumelos deve ser feito e, neste sentido, dedicamos vários dos nossos trabalhos ao estudo clínico e particularmente micológico de numerosas leveduras humanas.

(*) Usamos a denominação *levedura* em lugar de levedo ou lêvedo por ser a mais correta.

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia da Faculdade de Medicina e no Instituto Adolfo Lutz.

O estudo das leveduras é também de grande importância na indústria, razão pela qual, reconhecendo este fato, o Instituto Adolfo Lutz muito razoavelmente acaba de criar na Seção de Controles Biológicos, uma Sub-seção que se especializará no estudo micológico das leveduras prensadas e outras consideradas no ponto de vista industrial. De uma colaboração franca e decidida entre os dois departamentos, numerosos trabalhos poderão ser levados a efeito e conhecimentos novos serão adquiridos à medida que aprofundarmos as nossas pesquisas neste interessante ramo da micologia médica e industrial. Este nosso trabalho representa modesta contribuição para o estudo das leveduras, encarando a necessidade de sua identificação prática, deixando para novas notas o estudo cuidadoso das numerosas amostras de leveduras por nós isoladas.

Logo de início verificamos a diversidade de opiniões no que diz respeito à sistemática das leveduras, diversidade essa que poderá ser apreciada pelos resumos das principais classificações expostas no decorrer deste trabalho. A classificação por nós proposta é de ordem prática e visa o diagnóstico genérico rápido de uma levedura, qualquer que seja a sua fonte de origem. O presente trabalho está dividido em duas partes: Na primeira teceremos considerações sobre as principais classificações das leveduras, adotando um critério cronológico e, na segunda parte, estudaremos os caracteres de 100 amostras de leveduras dentre as inúmeras existentes na Micoteca do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo.

PRIMEIRA PARTE

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AS PRINCIPAIS CLASSIFICAÇÕES DAS LEVEDURAS

Até 1923 a sistemática das leveduras obedeceu ao critério de Vuillemin que criou o grupo dos "cogumelos talosporados", dividindo-o em 2 sub-grupos:

- a) astroporados e
- b) blastosporados.

Em 1924, Vuillemin separou as leveduras blastosporadas das *Monilias* com as quais se confundiam.

Até 1924, de acordo com as idéias de Vuillemin, os cogumelos leveduriformes anascosporados tomavam lugar em um dos 2 gêneros — *Monilia* ou *Cryptococcus*, segundo se conhecia ou não um aparelho filamentosos.

Em 1923, Berkhout mostrou que as *verdadeiras Monilias* (grupo Gmelin) nada têm que ver com as *Monilias* do grupo Bonorden, razão pela qual resolveu enquadrar as *Monilias* deste último grupo em um gênero à parte — *Candida*.

Ficavam, portanto, todas as chamadas *Monilias* de interesse médico enquadradas no gênero *Candida*.

Em 1926, Ota, não conhecendo o trabalho de Berkhout, conservou o gênero *Cryptococcus* para as leveduras anascosporadas não filamentosas e, para as que produziam filamentos, criou o gênero *Myceloblastanon* subdividindo-o em 3 sub-gêneros: *Blastodendrion*, *Mycelorrhizodes* e *Monilia*.

Em 1928, Ota publicou novo trabalho, conservando os gêneros *Cryptococcus* e *Myceloblastanon*, não dividindo porém este último em sub-gêneros. Adicionou, no entanto, os gêneros *Enantiothamnus* Pinoy 1911, *Cladosporium* Link 1909 e *Phialophora* Taxter 1915.

CLASSIFICAÇÃO DE CIFERRI E REDAELLI

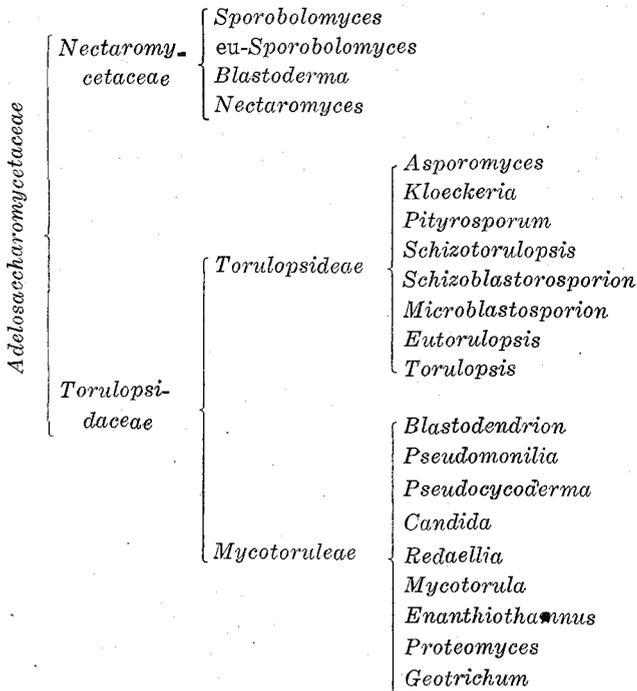
De 1925 a 1928 esses dois pesquisadores italianos publicaram numerosos trabalhos sobre a classificação dos blastosporados. Verifica-se que tais autores se preocuparam em classificar as *leveduras filamentosas* ou *não*, mas desprovidas de *ascos*. Esses dois pesquisadores italianos adotaram o gênero *Candida* Berkhout 1923, separando-o definitivamente das *Monilias verdadeiras* (Gmelin, 1791). Os cogumelos blastosporados foram divididos então em 2 famílias:

I. *Nectaromycetaceae*, incluindo as leveduras que apresentam uma forma conidiana verdadeira;

II. *Torulopsidaceae*, criada por Ciferri em 1925 para as leveduras que não apresentavam aparelho conidiano propriamente dito.

A família *Torulopsidaceae* foi dividida em 2 sub-famílias: *Torulopsidae*, desprovida de filamentos micelianos e *Mycotoruleae* com filamentos micelianos mais ou menos desenvolvidos.

Em 1930 Ciferri estudou novamente o assunto, criou novos gêneros e forneceu uma classificação da super família *Adelosaccharomycetaceae* que pode ser esquematizada de acordo com o quadro seguinte:



Em 1935 Ciferri e Redaelli consideraram a família *Torulopsidaceae* com 3 sub-famílias:

A) *Sub-família Mycotoruleae*, encerrando leveduras filamentosas anascógenas sem formas artrospóricas de reprodução. Esta sub-família encerrava, de acordo com esses autores 4 gêneros:

1º — *Blastodendrion* Ota 1924 emend. Cif. & Red., 1925

2º — *Mycotorula* Will 1916 emend. Cif. & Red. 1925 (incluindo *Mycotoruloides* Langeron & Talice 1932 e *Enanthiothamnus* Pinoy 1911)

3º — *Candida* Berkhout 1923 emend. Cif. & Red. 1929 e Langeron & Talice 1932

4º — *Mycocandida* Langeron & Talice 1932.

- B) *Sub-família Torulopsidae* — leveduras sem filamento, anascógenas e sem formas artrospóricas de reprodução. Nesta sub-família se enquadra um certo número de gêneros cujos caracteres são difíceis de precisar.
- C) *Sub-família Trichosporeae*, constituída por cogumelos com micélio muito desenvolvido em que os elementos de reprodução são formados particularmente por células alongadas, de paredes espessas ou então mais raramente por elementos blastosporados. Esta sub-família, segundo Ciferri & Redaelli compreende 3 gêneros: *Trichosporon* von Behrend 1890 emend. Vuillemin 1902, com os sub-gêneros *Proteomyces* e *Geotrichoides*, *Pseudomycoderma* Will 1916 emend. Ciferri 1930 e *Redaellia*-Ciferri 1930.

CLASSIFICAÇÃO DE GUILLIERMOND (1928)

Guilliermond, que já em 1912 havia publicado um estudo das leveduras, estabeleceu em 1928 uma chave para a sua classificação incluindo formas verdadeiras ou falsas, ascógenas ou anascógenas. Em resumo, a sua classificação pode ser assim esquematizada:

A

1. Células redondas ou cilíndricas, multiplicando-se por divisão transversa. Ascos geralmente derivados de uma copulação isogâmica, encerrando 4 a 8 ascosporos.

Schizosacharomyces (Lindner)

2. Cogumelos parasitos dos vegetais, apresentando-se sob a forma de um micélio típico e de leveduras, estas podendo ser reduzidas ou então predominantes. Ascos originando-se das leveduras ou de artículos do micélio, encerrando geralmente 8 a 16 ascosporos em forma de "fusos" com uma espécie de flagelo numa das extremidades e dispostos em 2 grupos.

Nematospora (Peglion)

3. Cogumelos constituídos por um micélio típico dando origem a leveduras e formando sobre o mosto de cerveja um veu com aspéctos variáveis B

4. Cogumelos constituídos por um micélio típico cujos artículos formam artrosporos, mas nunca leveduras C
5. Células de leveduras de formas variáveis, multiplicando-se por brotamento, vegetando sobre o mosto de cerveja desde o início sob a forma de um depósito ou sob a forma de um veu micodérmico E

B

6. Cogumelos formando ascos

Endomyces (Reess)

7. Cogumelos que não formam ascos D

C

8. Cogumelos dando ascos algumas vezes derivados de uma copulação heterogâmica

Endomyces (Reess)

9. Cogumelos não dando ascos

Geotrichum (Link)

D

10. Cogumelos vegetando sobre o mosto de cerveja sob a forma de um veu, a princípio constituído por leveduras e em seguida por um micélio típico, não produzindo ascos

Monilia (Gmelin)

11. Cogumelos dando sobre o mosto de cerveja um veu espesso, frequentemente escuro, formado por um micélio que dá origem a leveduras

Cogumelos muito afastados das leveduras.

E

12. Leveduras que não produzem ascos F
 13. Leveduras produzindo ascos K

F

14. Leveduras sem pigmento G
 15. Leveduras de pigmento róseo ou vermelho M
 16. Leveduras de pigmento preto I

G

17. Leveduras de forma apiculada
Pseudosaccharomyces (Kloe-
 ker)
 18. Leveduras não apresentando esta característica J

H

19. Leveduras róseas ou vermelhas, vegetando sobre o mosto de
 cerveja sob a forma de um veu micodérmico, produzindo após
 um brotamento normal, conídios dispostos na extremidade de
 longos pediculos e que são projetados sobre a tampa das pla-
 cas de Petri, viradas
Sporobolomyces (Kluyner e van
 Niel)
 20. Leveduras que não apresentam conídios, vegetando sobre o
 mosto de cerveja sob a forma de depósito e não produzindo,
 a não ser tardiamente, um veu mucoso ou um anel, ou, então,
 não o produzindo
Torula (Hansen)
 21. Leveduras que não apresentam conídios e vegetam sobre o
 mosto de cerveja sob a forma de um veu micodérmico
Mycoderma (Persoon)

I

22. Leveduras de pigmento preto

Torula (Hansen)

J

23. Leveduras vegetando sobre o mosto de cerveja sob a forma de um depósito, não formando, a não ser tardiamente, um veu mucoso ou um anel ou não o formando, capazes de produzir fermentação

Torula (Hansen)

24. Leveduras vegetando sobre o mosto de cerveja sob a forma de um veu micodérmico, não produzindo geralmente fermentação

Mycoderma (Persoon)

K

25. Leveduras multiplicando-se por um processo intermediário entre o brotamento e a divisão transversa L
26. Leveduras multiplicando-se por brotamento típico M

L

27. Ascospores com 1 ascospore, com parede áspera, formados em uma célula proveniente do brotamento de um ovo derivado de copulação heterogâmica

Nadsonia (Sydow)

28. Ascospores com 4 ascospores, de paredes lisas, não derivados de copulação; ascospores conjugando-se antes de germinar

Saccharomyces (Hansen)

M

29. Ascosporos muito alongados, em forma de agulhas ou de fusos. Leveduras parasitas de animais ou de vegetais N
30. Ascosporos de dupla parede, cuja externa se rompe no início da germinação

Saccharomyopsis (Schionning)

31. Ascos derivados de uma copulação iso ou heterogâmica O
32. Ascos não derivados de copulação, mas formando-se à custa de células que tentam se unir por meio de longos tubos P
33. Ascos não derivados de copulação e não se formando nas células anteriormente descritas. Ascosporos germinando algumas vezes antes de serem conjugados Q

N

34. Ascos com 1 só ascosporo em forma de agulha

Monospora (Metchnikoff)

35. Ascos com 4 ascosporos em forma de fusos, derivados de uma cópula isogâmica

Coccidiascus (Chatton)

36. Ascos com 8 a 16 ascosporos, em forma de fusos prolongados numa das extremidades por uma espécie de flagelo e dispostos em 2 grupos

Nematospora (Peglion)

O

37. Ascos derivados de cópula iso ou mais frequentemente heterogâmica, com 1 ascosporo (raramente mais) com parede áspera

Debaryomyces (Klöcker)

38. Ascos derivados de cópula iso ou heterogâmica com um número variável de ascosporos com parede lisa

Zygosaccharomyces (Barker)

P

39. Ascosporos, 1 para cada asco, com a parede áspera, encerrando uma gotícula de gordura no centro e cercadas por um anel saliente no meio

Schwanniomyces (Klöcker)

40. Asco com número variável de ascosporos redondos e de paredes lisas. Células assemelhando-se à *Torula*

Torulaspota (Lindner)

Q

41. Células apiculadas

Hansenia (Lindner)

42. Células sob formas características R

R

43. Leveduras vegetando sobre o mosto de cerveja sob a forma de um veu micodérmico, não produzindo geralmente fermentação. Ascosporos de formas características (chapeu, anel do planeta Saturno) S

44. Leveduras vegetando sobre o mosto de cerveja, a princípio sob a forma de um depósito e às vezes só tardiamente formando um veu mucoso ou um anel

Saccharomyces (Meyer)

S

45. Ascosporos em forma de chapeu ou de planeta Saturno

Willia (Hansen)

T

46. Ascosporos em forma de chapéu

Willia (Hansen)

47. Ascosporos em forma do planeta Saturno

Willia Saturnus (Klöcker)

48. Ascosporos hemisféricos, reniformes ou sob formas características

Picchia (Hansen)

CLASSIFICAÇÃO DE STELLING-DEKKER

Em 1931 S. Dekker reuniu em uma só família — *Endomycetaceae* — todas as leveduras ascógenas, filamentosas ou não. Esta família, segundo aquela pesquisadora, compreende 4 sub-famílias:

I. *Sub-família Eresmascoideae.*

Talo formado por micélio sem nenhum traço de multiplicação assexuada. Ascos formados por processo de conjugação isogâmica, contendo 4 a 8 ascosporos, em forma de coifa. Esta sub-família compreende um só gênero — *Eremascus* Eidam, cuja diagnose é idêntica à da sub-família.

II. *Sub-família Endomycoideae.*

Talo formado por micélio típico, multiplicando-se por meio de oídios, ou talo reduzido a estado de oídios. Esta sub-família compreende 2 gêneros:

Endomyces Reess — O micélio se multiplica por meio de oídios; os ascos são formados por conjugação heterogâmica ou por partenogênese; 4 ascosporos redondos ou em forma de chapéu.

Schizosaccharomyces Lindner — Talo reduzido a estado de oídios; ascos formados por conjugação isogâmica contendo 4 a 8 ascosporos redondos.

III. *Sub-família Saccharomycoideae.*

Talo formado por um micélio típico multiplicando-se por meio de conídios, algumas vezes oídios, ou talo reduzido a forma de leveduras. Esta sub-família compreende três tribus:

A) *Tribu Endomycopseae.*

Talo formado por um micélio típico multiplicando-se por meio de conídios-leveduras e algumas vezes por conídios. Ascospores formados por conjugação heterogâmica ou partenogênese. Ascospores em forma de chapéu, foice, lisos ou rugosos. Esta tribo compreende um só gênero — *Endomycopsis* Dekker.

B) *Tribu Saccharomyceteeae.*

Talo reduzido a forma de leveduras podendo algumas vezes dar rudimentos micelianos. Esta tribo compreende 6 gêneros:

I. Gênero *Saccharomyces* Meyer.

Células redondas-ovais ou alongadas, algumas vezes, com rudimentos micelianos. Ascospores formados sem conjugação, contendo 1 a 4 ascospores redondos e lisos. Este gênero compreende 2 sub-gêneros:

- a) *Saccharomyces* — Os ascospores se formam partenogeneticamente.
- b) *Zygosaccharomyces* — Os ascospores se formam partenogeneticamente, havendo também cópula isogâmica ou heterogâmica.

II. Gênero *Torulaspora* Lindner.

Células redondas, ascospores formados por partenogênese após tentativas de cópula; ascospores em número de 1 a 2, redondos e lisos.

III. Gênero *Pichia* Hansen.

Células ovais ou alongadas; ascospores formados por conjugação iso ou heterogâmica ou por partenogênese; 1 a 4 ascospores hemisféricos, reniformes, triangulares e lisos. Este gênero compreende 2 sub-gêneros:

- a) *Zygopichia* Klöcker — Ascospores derivados de conjugação iso ou heterogâmica.
- b) *Pichia* Hansen — Ascospores derivados por partenogênese.

IV. Gênero *Hansenula* Sydow.

Células ovais, ou alongadas, raramente redondas, algumas vezes com rudimentos de micélios. Ascospores formados sem conjugação. 1 a 4 ascospores em forma de chapéu ou em anel de Saturno.

V. Gênero *Debaryomyces* Klöcker.

Células redondas ou ovais, algumas vezes com rudimentos micelianos; ascospores formados por conjugação iso ou heterogâmica; ascospores redondos e globulosos.

VI. Gênero *Schwanniomyces* Klöcker.

Células redondas ou ovais, algumas vezes com rudimentos micelianos. Ascospores derivados por partenogênese; 1 a 2 ascospores de paredes rugosas.

C) Tribu *Nadsoniae*.

Células alongadas, geralmente apiculadas, os ascospores derivam por partenogênese ou cópula heterogâmica. Esta tribu compreende 3 gêneros:

I. Gênero *Saccharomycodes* Hansen.

Ascospores com 4 ascospores redondos e lisos, conjugação regular entre os ascospores, células em forma de limão.

II. Gênero *Hanseniaspora* Zikers.

Células nitidamente apiculadas; ascospores formados sem conjugação contendo 1 a 4 ascospores hemisféricos ou redondos.

III. Gênero *Nadsonia* Sydow.

Ascospores formados em 1 broto derivado de um zigoto resultante de conjugação heterogâmica. Ascospores redondos e rugosos.

IV. Sub-família *Nematosporoideae*.

Leveduras de formas variadas, frequentemente produzindo micélio. Ascospores com 1 a 8 ascospores em forma de longas agulhas. Compreende 3 gêneros:

I. Gênero *Monosporella* Keilin.

Leveduras ovais, ascospores com ascospore em forma de agulha.

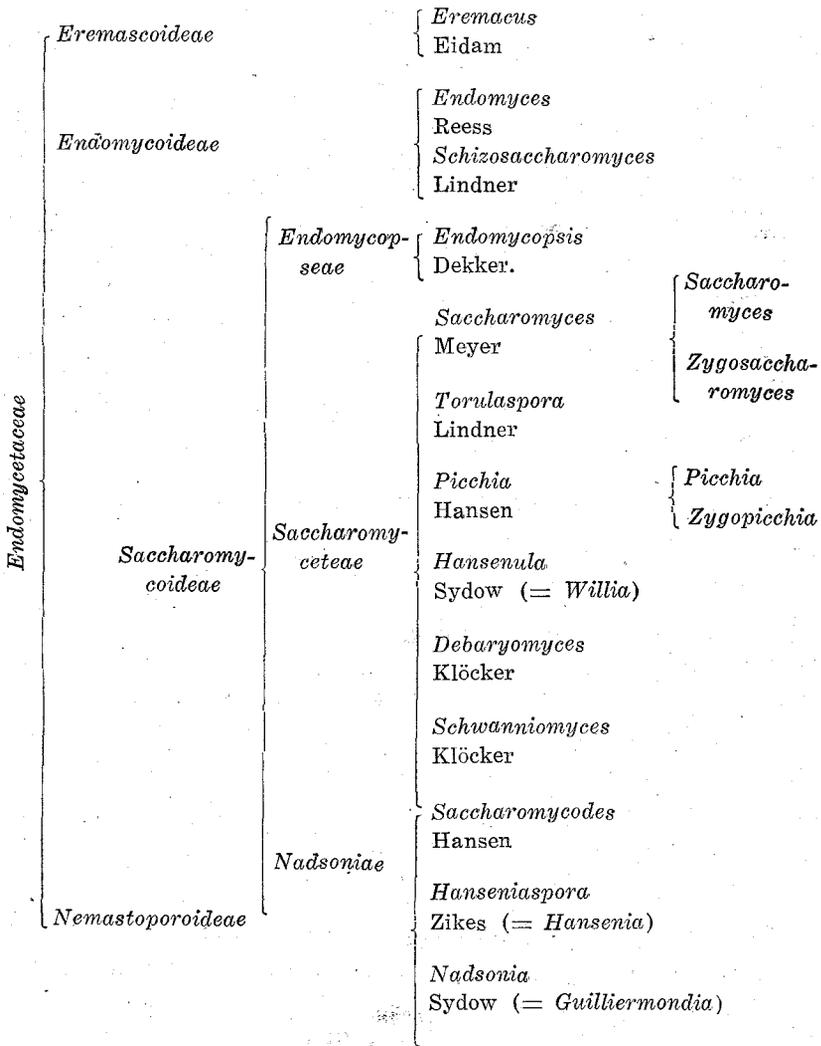
II. Gênero *Nematospora* Peglion.

Leveduras de formas variáveis com micélio; 1 a 8 ascoporos em forma de agulha, providos em 1 de seus polos por uma espécie de flagelo.

III. Gênero *Coccidiascus* Chatton.

Leveduras ovais, ascos derivados de cópula isogâmica contendo 8 ascoporos em forma de longos fusos.

Em resumo, a classificação de Dekker pode ser esquematizada segundo o quadro seguinte:



CLASSIFICAÇÃO DE LANGERON E TALICE

Em 1932, Langeron e Talice fizeram um estudo sobre as leveduras filamentosas anascógenas, isto é, sobre os micotorulados e baseando suas observações particularmente no exame micromorfológico daqueles cogumelos em água de batata e em gelose glicosada a 2 %, criaram um certo número de gêneros, ficando a sub-família *Mycotoruleae* assim classificada:

I — *Culturas cremosas*

Mycotorula: blastosporos em verticílios simples e regulares terminando por “bouquets”.

Mycotoruloides: blastosporos em verticílios regulares, compostos e ramificados, terminando em “bouquets”.

Candida: blastosporos em cadêias terminais e em verticílios mais ou menos regulares.

Mycocandida: aparelho filamentoso muito ramificado, cadêias terminais muito curtas, verticílios rudimentares.

Blastodendrion: arbúsculos em pincel formado de blastosporos estalagmóides.

II — *Culturas membranosas.*

Geotrichoides: intermediário entre blastosporados propriamente ditos e os astrosporados, com blastosporos verticiliados e com blastosporos-artrosporos.

A chave seguinte poderá facilitar as determinações:

- | | |
|----------------------------|---|
| 1. Colônias cremosas | 2 |
| Colônias membranosas | 6 |
| 2. Com cadêias terminais | |

Candida.

- | | |
|--|---|
| Sem cadêias terminais ou somente mais curtas | 3 |
| 3. Verticílios simples, regulares, terminando por “bouquets” | |

Mycotorula.

- Verticílios simples ou compostos, mais ou menos regulares, não terminando por "bouquets" 4
4. Blastosporos estalagmóides derivados de arbúsculos

Blastodendrion.

- Blastosporos arredondados ou ovais dominando 5
5. Verticílios compostos

Mycotoruloides.

Verticílios rudimentares reduzidos a dois blastosporos, pseudo-micélio muito ramificado, blastosporos alongados dominantes

Mycocandida.

6. Pseudo-micélio fragil com blastosporos verticiliados, com blastosporos e artroporos e com conídios, sem veu sobre água de batata

Geotrichoides.

Micélio verdadeiro, não sendo fragil antes da desarticulação; com artrosporos, sem blastosporos, veu sobre todos os meios líquidos

Geotrichum.

CLASSIFICAÇÃO DE LODDER

Em 1934 J. Lodder, em complemento à classificação de Stelling Dekker, escreveu uma 1.^a monografia sobre as leveduras anascosporadas. Estas leveduras foram divididas em 3 famílias:

I. *Nectaromycetaceae* — cujas leveduras produzem conídios. Gênero *Nectaromyces*.

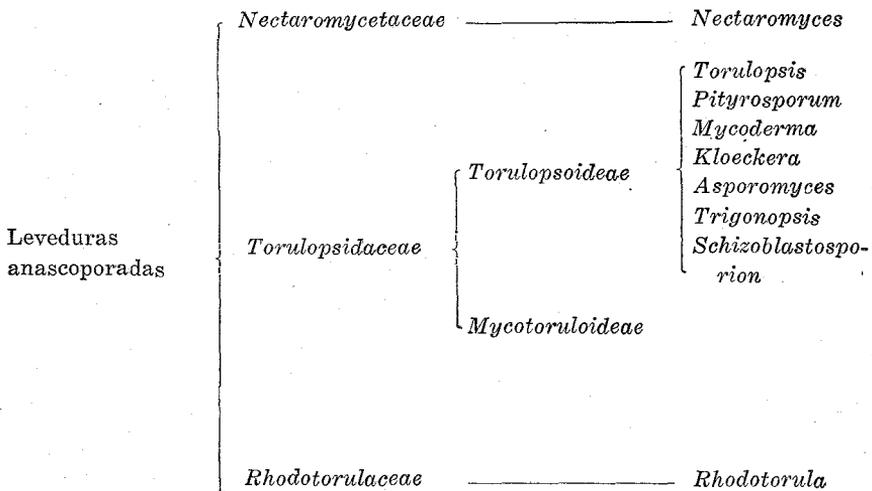
II. *Torulopsidaceae* — Leveduras que não formam conídios e cujas células não produzem pigmento carotenóide. Esta família compreende duas sub-famílias:

A) *Torulopsoideae* — Leveduras que não filamentam e nem possuem aparelho esporífero. Nesta sub-família se incluem os seguintes gêneros: — *Torulopsis*, *Pityrosporium*, *Mycoderma*, *Kloeckera*, *Asporomyces*, *Trigonopsis* e *Schizoblastosporion*.

B) *Mycotoruloideae* — Leveduras com pseudo micélio e com aparelho esporífero. No seu trabalho Lodder não se dedica ao estudo desta sub-família prometendo publicar uma segunda monografia encarando as leveduras que aí se enquadram.

III. *Rhodotorulaceae* — Leveduras sem conídios, sem pseudo micélio; as células produzem pigmento carotenóide. Nesta família se enquadra um único gênero — *Rhodotorula*.

Em esquema a classificação de Lodder fica assim representada:



CLASSIFICAÇÃO DE DODGE

Em 1935 Dodge estabeleceu uma classificação geral dos cogumelos. As leveduras foram de um modo geral enquadradas na ordem *Endomycetales*. De acordo com este autor 11 famílias estão enquadradas nessa ordem e em algumas delas se colocam as leveduras falsas ou verdadeiras.

Ordem *Endomycetales*.

<i>Spermophthoraceae</i>	}	Gametos fusiformes, livres de gametângios, copulando aos pares e produzindo hifas ascógenas; ascosporos fusiformes.
--------------------------	---	---

- Ashbyaceae* { Gametos não livres, a fusão gametangial é regra, ou os ascosporos se desenvolvem partenogeneticamente; ascosporos em forma de fuso ou agulha.
- Ascoideaceae* { Ascosporos em forma de chapéu (coifa) ou em anel de saturno. Micélio multinucleado, produzindo conídios; ascos com muitos esporos, proliferantes.
- Endomycetaceae* { Micélio uninucleado, degenerado para micélio gemulante; conídios não diferenciados; ascosporos geralmente em número de 4 ou menos; não proliferantes.
- Pichiaceae* { Ascosporos hemisféricos ou angulares, micélio gemulante uninucleado; 4 ascosporos ou menos.
- Dipodascaceae* { Ascosporos elipsóides ou esféricos. Micélio multinucleado, ascos resultantes de cópula de duas extremidades de hifas; ascos multi-esporulados.
- Eremascaceae* { Ascos com 4 ou 8 esporos.
- Saccharomycetaceae* { Micélio uninucleado, geralmente gemulante; ascos formados pela cópula de 2 células, por partenogênese, ou por apogamia.
- Coccidioideaceae* { Sem traços de cópula; ascos multi-esporulados, raramente reduzidos a 8; micélio frequentemente escasso nos tecidos porém desenvolvendo-se bem nas culturas; ascos frequentemente com paredes espessas, muitas vezes diferenciados como esporos residuais abundantes nos tecidos e raros nas culturas; ascosporos desenvolvendo-se diretamente e enchendo o asco.
- Protomycetaceae* { Ascosporos desenvolvendo-se em tetradas junto da membrana do asco.

Taphrinaceae { Ascosporos desenvolvendo-se diretamente, porém reduzidos em número, não enchendo o asco; micélio se desenvolvendo no tecido hospedeiro.

Na família *Endomycetaceae* estão incluídos os gêneros *Endomyces*, *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Hanseniaspora*, *Williopsis* e *Schwanniomyces*. Na família *Eremascaceae* devemos considerar a presença ou ausência de ascos. Assim teremos de acordo com Dodge a família *Eremascaceae perfectae* com os seguintes gêneros: *Eremascus*, *Zymonema*, *Oleina*, *Octomyces*, *Bargellinia* e *Hemispora*.

Na família *Eremascaceae imperfetae* Dodge colocou os seguintes gêneros: *Proteomyces*, *Geotrichum*, *Mycoderma*, *Candida* (*Geotrichoides*), *Schizoblastosporion*, *Pseudomycoderma*, *Parendomyces*, *Castellania*, *Parasaccharomyces*, *Mycotorula*, *Redaellia*, *Monilia*, *Syringospora*, *Blastodendrion*, *Mycotoruloides*, *Mycocandida*, *Pseudomonilia*.

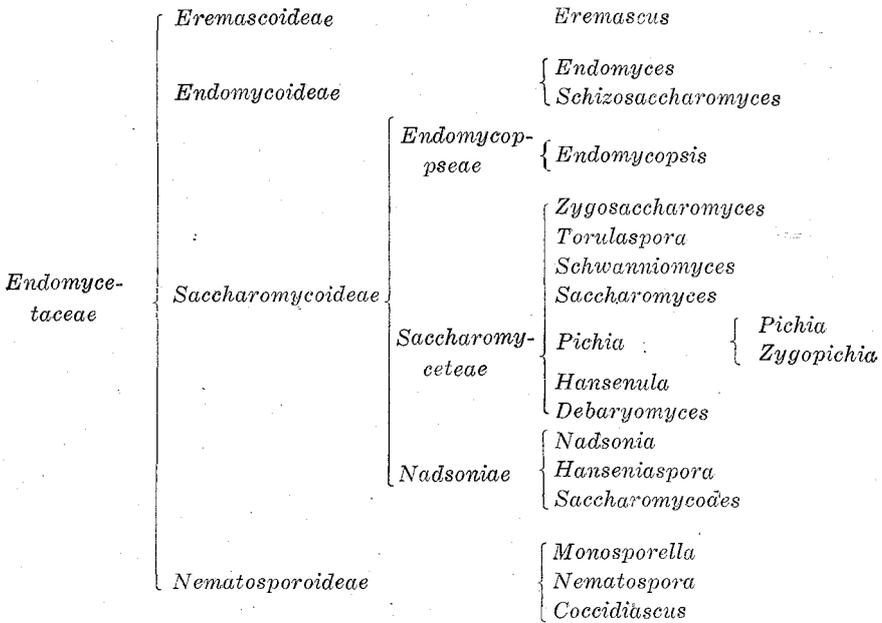
A família *Saccharomycetaceae* está também dividida em *perfectae* e *imperfectae*, conforme existam ou não ascosporos.

Na família *Saccharomycetaceae imperfetae* Dodge colocou os seguintes gêneros: *Asporomyces*, *Malassezia*, *Pseudosaccharomyces*, *Microblastosporin*, *Cryptococcus*, *Atelosaccharomyces*, *Eutorula*, *Torulopsis* e *Trigonopsis*.

Na família *Saccharomycetaceae perfectae* ficam incluídos os seguintes gêneros: *Schizosaccharomyces*, *Nadsonia*, *Saccharomycopsis*, *Debaryomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Torulasporea*, *Saccharomyces* e *Saccharomycodes*.

CLASSIFICAÇÃO DE GUILLIERMOND

Guilliermond, novamente, em 1937, resumindo a classificação de Dekker modificou-a ligeiramente. Em esquema, a classificação ficou assim estabelecida:



CLASSIFICAÇÃO DE MAURICE LANGERON E PAUL GUERRA

Em 1938 Maurice Langeron e Paul Guerra realizaram um estudo sobre a sistemática das leveduras filamentosas anascógenas, enquadradas na sub-família *Mycotoruloideae*. Os autores criticaram o trabalho anterior de Langeron e Talice, achando que um só gênero deveria ser mantido para este grupo de cogumelos — gênero *Candida*. A morfologia deste gênero é extremamente variável, razão pela qual o estudo exclusivo dos caracteres morfológicos de uma levedura não apresenta isoladamente grande valor.

Na diagnose do gênero *Candida* Berkhout 1923, Langeron e Guerra emend. 1938 os autores colocaram todas as leveduras anascógenas (*Torulopsidaceae* — *Mycotoruloideae* sensu Lodder 1934) capazes de desenvolver nos meios favoráveis um aparelho filamentoso. Grande número de gêneros criados anteriormente foram colocados na sinonímia de *Candida* e os autores repartiram este gênero em 7 grupos baseando-se no estudo dos elementos morfológicos e biológicos. Estes 7 grupos podem ser assim resumidos: *albicans*, *tropicalis*, *pseudotropicalis*, *Guilliermond*, *Krusei*, *Brumpti*, *azimatico*.

- I. *Grupo albicans* — Elementos morfológicos: filamentação do tipo *Mycotorula* ou *Mycotoruloides*; elementos característicos são os clamidosporos. Zimograma positivo para glicose e maltose. Auxanograma dos açúcares negativo para a maltose e rafinose. Auxanograma do azoto positivo para a uréia.
- Elementos sistemáticos: duas espécies devem ser consideradas:
- C. albicans* — colônias brancas. Não dá veu, muito raramente um veu membranoso.
- C. triadis* — Colônias amarelas. Veu mucoso no 5º dia.
- II. *Grupo tropicalis* — Este grupo difere do *albicans* porque faz fermentar a sacarose, além da glicose e da maltose.
- Elementos morfológicos: filamentação muito variável: aspecto *Mycotoruloides*, aspecto *Candida*, aspecto *Mycocandida*. Ausência de clamidosporos. Pseudoconídios são típicos deste grupo, aparecendo em cadêias simples ou mais ou menos ramificadas. Veu mucoso. Zimograma positivo para glicose, maltose e sacarose. Auxanograma dos açúcares negativo para a lactose e rafinose. Auxanograma do azoto negativo para a uréia não assimilada.
- III. *Grupo pseudotropicalis* — Este grupo encerra apenas uma única espécie; é o único *Cândida* que fermenta a lactose, logo não faz fermentar a maltose de acordo com as leis da fermentação.
- Elementos morfológicos: filamentação difícil de se obter podendo tomar os aspectos *Mycocandida* e *Mycotoruloides*; blastosporos alongados e enormes. Clamidosporos ausentes. Pseudo-conídios raros. Zimograma muito característico: positivo para a glicose, sacarose, lactose, rafinose; negativo para a maltose. Auxanograma dos açúcares negativo para a maltose. Auxanograma do azoto não é característico.
- IV. *Grupo Guilliermond* — Elementos morfológicos: filamentação fácil de se obter; verticílios regulares e arredondados, com aspecto de *Mycotorula* ou *Mycocandida*, mais raramente blastosporos de formas variadas. Clamidosporos ausentes. Pseudo-conídios mais ou menos abundantes. Zimograma ca-

racterístico: positivo para a glicose e sacarose; negativo para a maltose e lactose. Auxanograma dos açúcares mais ou menos superponível ao zimograma. Auxanograma do azoto negativo para a uréia.

- V. Grupo *Krusei* — Os 4 grupos anteriores são formados por leveduras zimato-oxidásicas, isto é, possuindo além do complexo zimase as hidrolases oxidásicas, permitindo desdobrar e fazer fermentar as diholosides e as triholosides.

Neste 5º e no 6º grupo estão as “leveduras” zimáticas simples, possuindo apenas o complexo zimase, com incapacidade de desdobrar as holosides (di ou tri). Estas leveduras formam então 2 grupos: um, fazendo fermentar nitidamente a glicose e a levulose (grupo *Krusei*); o outro, de poder fermentativo muito fraco, fazendo apenas fermentar a glicose e muito pouco a levulose (grupo *brumpti*).

Elementos morfológicos: filamentação em geral muito facil sobre todos os meios, salvo para o *C. aldoi*. Blastosporos mais ou menos numerosos de formas variáveis. Clamidosporos ausentes. Pseudoconínios raros. Zimograma: positivo para a glicose e levulose; negativo para todos os outros açúcares. Auxanograma dos açucares: negativo. Zimograma, salvo para *C. Krusei*. Auxanograma do azoto é muito característico para a uréia; nitidamente positivo para a uréia para *C. Krusei*; negativo para uréia para as outras 2 espécies.

- VI. Grupo *brumpti* — Este grupo de poder fermentativo muito fraco, limitado à glicose, e ainda mais fracamente à levulose, constitue a transição entre leveduras zimáticas e azimáticas. Elementos morfológicos: filamentação muito difficil de se obter, não característica. Blastosporos mais ou menos numerosos, algumas vezes dimorfos. Clamidosporos ausentes. Pseudoconídios raros. Zimograma — fermentação muito fraca da glicose e da levulose; negativo para todos os outros açúcares. Auxanograma dos açúcares: negativo. Auxanograma do azoto: negativo para a-uréia.
- VII. Grupo *azimático* — Poder fermentativo nulo para todos os açúcares, pelo menos em água peptonada. Ele é muito artificial, porque é formado por leveduras heterogêneas, tendo

carater comum apenas o seu zimograma negativo. Os outros caracteres são muito discordantes para que se possa estabelecer um quadro como para os seis grupos precedentes.

Esta classificação veio simplificar de muito a sistemática das leveduras anascosporadas filamentosas.

Após os trabalhos fundamentais de todos esses pesquisadores, pequenas notas foram publicadas abordando questões de denominações genéricas. Assim Diddens e Lodder aceitam o gênero *Candida* para nele enquadrar todos os micotorulados, mas crítica a orientação de Langeron e Guerra, dividindo tal gênero em grupos.

Ciferri e Redaelli acham porém que se devem unificar todos os micotorulados não no gênero *Candida* e sim *Mycotorula*.

Verona diz que devem ser mantidos para os micotorulados os gêneros *Mycotorula* e *Candida*. Para o grupo dos cogumelos artrosporados aceita-se hoje em dia o gênero *Geotrichum*. Ciferri, Verona e Saggese dividem porém este gênero em 3 sub-gêneros: *Berkhoutia*, *Eugeotrichum* e *Pseudomycoderma*.

Estabelecendo um limite de transição entre os cogumelos blastosporados e os artrosporados aceita-se hoje em dia o gênero *Trichosporon*, nele devendo ser enquadrados como sinônimos os gêneros *Neogeotrichum*, *Proteomyces* e *Geotrichoides*.

Estamos vivendo, portanto, na sistemática das leveduras uma era de unificação da taxonomia genérica. Para as leveduras filamentosas anascógenas ficam, portanto, estabelecidos 3 gêneros:

- 1 — *Candida* (blastosporados).
- 2 — *Trichosporon* (blastó-artrosporados).
- 3 — *Geotrichum* (artrosporados).

Quanto às leveduras sem filamentos, anascógenas, uma dúvida surgiu quanto à prioridade dos gêneros *Torulopsis* ou *Cryptococcus*.

Lodder propõe a denominação genérica *Torulopsis* em vez de *Cryptococcus*. Dodge, no entanto, aceita os 2 gêneros, sendo esta também a nossa orientação, reservando o gênero *Cryptococcus* somente para a espécie *neoformans*, produtora da blastomicose de Busse-Busschke.

Vemos, portanto, que quasi todas as classificações trataram apenas de uma face do problema, ora estudando a sistemática das leve-

duras filamentosas anascoporadas, ora das leveduras sem filamentos anascógenos.

BASES DA CLASSIFICAÇÃO PRÁTICA POR NÓS PROPOSTA

O critério por nós adotado foi inicialmente o da presença ou não de filamentos, assim como a presença ou não de ascósporos.

Numa lâmina corada pelo Lugol duplo, estando a levedura semeada em água de fécula de batata, o micologista rapidamente separa aquelas que filamentam das que produzem exclusivamente células redondas, esféricas ou ovais. Daí a razão pela qual separamos 2 grandes grupos de leveduras:

- 1) as que não filamentam;
- 2) as que filamentam.

Catalogada a levedura em um desses 2 grandes grupos procuramos evidenciar a presença ou ausência de ascósporos que poderão ser observados já em 24 horas na água de fécula de batata, mas cuja comprovação deverá ser feita em meio de Gorodkova. Deste exame separamos as leveduras em outros 4 grupos:

- 1) Leveduras que não filamentam, ascógenas;
- 2) Leveduras que não filamentam, anascógenas;
- 3) Leveduras que filamentam, ascógenas;
- 4) Leveduras que filamentam, anascógenas.

Não nos preocupamos inicialmente em classificar esta ou aquela levedura nesta ou naquela família, porque nada de positivo existe a respeito da sistemática desses cogumelos. O critério adotado pelos diversos pesquisadores é o mais variado possível, de tal modo que a única solução para o problema seria dada quando os micologistas se reunissem em um Congresso estabelecendo definitivamente as bases gerais para a classificação das leveduras. O critério por nós adotado foi o seguinte:

- 1.º — Isolamento da levedura em gelose glicosada e acidificada pelo ácido tartárico a 2%, disposto em placa de Petri.
- 2.º — Semeadura da levedura em meio de Sabouraud glicosado (Temp. ambiente) e em água de fécula de batata (estufa

37°C. durante 24 hs.), meio este que se nos apresentou com vantagens sobre a água de batata.

- 3.º — Estudo micromorfológico da levedura em água de fécula de batata, corando a lâmina pelo Lugol duplo.
- 4.º — Verificação dos ascósporos por dois processos:
 - a) Corando-se a lâmina pela hematoxilina férrica;
 - b) Verificação dos ascósporos pelo Lugol duplo e corante Guéguen, estando a levedura em água de fécula de batata.
- 5.º — Estudo macroscópico da colônia da levedura em Sabouraud glicose.
- 6.º — Estudo bioquímico da levedura.

Com os elementos fornecidos por estas pesquisas realizadas em série, conseguimos a identificação genérica das leveduras sem a preocupação de estudos mais especializados que demandam necessariamente maior tempo.

A classificação por nós proposta fica assim estabelecida:

1.º — LEVEDURAS VERDADEIRAS ASCÓGENAS

LEVEDURAS NO MEIO DE SABOURAUD

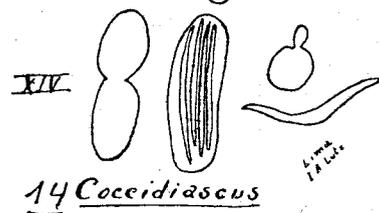
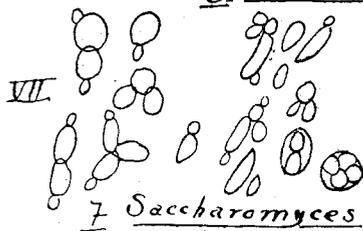
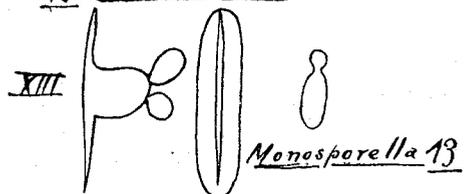
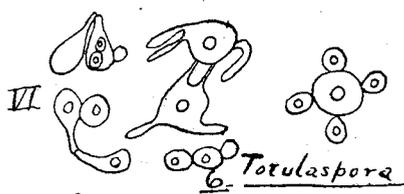
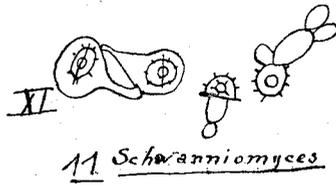
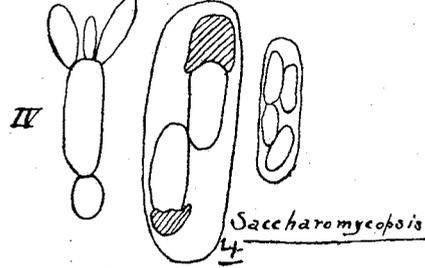
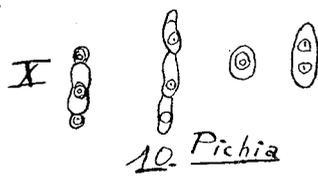
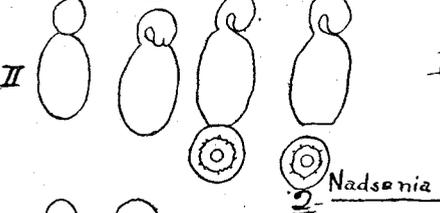
Colônias Cremosas

Leveduras que não filamentam em água de batata (Leveduras verdadeiras)

Produzem
Ascósporos
Leveduras
Ascógenas
ou
Ascosporadas

<i>Schizosaccharomyces</i> Fig. 1	{ Células redondas ou cilíndricas, reproduzindo-se por divisão transversal, brotamento raro ou ausente. Ascósporos derivados de uma copulação isogâmica. Ascósporos em número de 4 a 8.
<i>Nadsonia</i> Fig. 2	{ Células dividindo-se por brotos, septos ausentes. Ascósporos com 1 a 2 ascósporos de paredes rugosas, encerrando no centro 1 gotícula oleaginosa. Copulação heterogâmica.
<i>Debaryomyces</i> Fig. 3	{ Células redondas ou raramente ovóides. Ascósporos derivados de copulação iso ou heterogâmica com 1 ascósporo (raramente mais de um) de paredes ásperas. Brotamento presente.
<i>Saccharomycesopsis</i> Fig. 4	{ Ascósporos de dupla parede lisa, cuja externa se rompe no início da germinação. Ascósporos alongados. Copulação geralmente isogâmica.
<i>Zygosaccharomyces</i> Fig. 5	{ Copulação isogâmica heterogâmica ou intermediária. Ascósporos com 1 a 4 ascósporos de parede lisa, algumas vezes hemisféricos, outras vezes com rebordos salientes sobre a face plana (formato de chapéu) ou simplesmente hemisférico.
<i>Torulaspóra</i> Fig. 6	{ Células assemelhando-se às torulas. Ascósporos com número variável de ascósporos redondos, de paredes lisas, com 1 gotícula de gordura no centro. Copulação produzida não funcional. Os ascósporos resultando comumente de partenogênese.
<i>Saccharomyces</i> Fig. 7	{ Copulação ausente. Ascósporos em número variável para cada ascósporo. A forma das células é variável podendo ser ovóides ou redondas (tipo <i>cerevisiae</i>), células elipsoides (tipo <i>elipsoides</i>) ou células alongadas (tipo <i>Pastorianus</i>).
<i>Saccharomyces</i> Fig. 8	{ Cópula entre ascósporos ainda no interior dos ascósporos. Ascósporos não derivando de copulação, encerrando constantemente 4 ascósporos redondos, de parede lisa, que conjugam ordinariamente de dois a dois antes de germinar.
<i>Hansenula</i> (=Willia) Fig. 9	{ Ascósporos hemisféricos, em forma de chapéu, com rebordo saliente ou em forma de limão com um glóbulo oleaginoso no centro. Os ascósporos conjugam antes de germinar. Este gênero apresenta 2 tipos: a) <i>anomalous</i> , cujos ascósporos apresentam a forma de chapéu, o ascósporo se rompe dando saída aos ascósporos; b) <i>Saturnus</i> , com ascósporos em forma de limão, com rebordo (anel) assemelhando-se ao planeta Saturno.
<i>Pichia</i> Fig. 10	{ Ascósporos hemisféricos, reniforme ou angulosos. Células frequentemente cilíndricas, vacuolisadas, apresentando-se em cadeias formando rudimentos micelianos.
<i>Schwanniomyces</i> (End) Fig. 11	{ Ascósporos formando-se em células que depois se fundem 2 a 2 por meio de pequenos tubos. Ascósporos com pequenas rugosidades, com anel central e glóbulo oleaginoso.
<i>Hanseniaspora</i> (=Hansenia) Fig. 12	{ Células de formas características, apiculadas. Ascósporos sem forma especial ou em forma de chapéu, em número de 1 a 2.
<i>Monosporrella</i> (=Monospora) Fig. 13	{ Ascósporo com 1 só ascósporo, em forma de agulha, germinando por um brotamento lateral.
<i>Coccidiascus</i> Fig. 14	{ Ascósporos originados por um processo de copulação isogâmica contendo 4 ascósporos em forma de fuso.

Leveduras verdadeiras ascógenas (não filamentam)



2.º LEVEDURAS VERDADEIRAS ANASCÓGENAS

LEVEDURAS NO MEIO DE SABOURAUD

Colônias Cremosas

Leveduras que não filamentam em água de batata (Leveduras verdadeiras)

Não produzem ascas. Leveduras Anascógenas ou Anascosporadas

Torulopsis

Fig. 15

Células redondas, esféricas ou elipsóides, nunca citriformes, com brotamento, sem formação de micélio ou pseudo micélio, não produz pigmento carotenóide.

Rhodotorula

Fig. 16

Células redondas, esféricas ou elipsóides, com brotamento, sem micélio, formando pigmento de natureza carotenóide (vermelho).

Cryptococcus

Fig. 17

Células redondas ou esféricas, produzindo nos tecidos uma espessa cápsula gelatinosa. Poder patogênico acentuado. Capacidade fermentativa reduzida.

Kloeckera

Fig. 18

Células em sua maioria em forma de limão. Brotos bipolares.

Trigonopsis

Fig. 19

Células geralmente triangulares apresentando brotos nos três cantos.

Pityrosporum

Fig. 20

Células especialmente em forma de garrafa, com brotamento.

Asporomyces

Fig. 21

Em meio de Gorodkova verifica-se a formação de tubos característicos, muito semelhante aos prolongamentos de copulação existente no gênero *Schwanniomyces*.

Mycoderma

Fig. 22

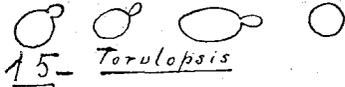
Células frequentemente cilíndricas, multiplicação por meio de brotos. O broto não se separa pelo desdobramento da célula mater.

Schizoblastosporion

Fig. 23

Células polimorfas, multiplicação por meio de brotos; estes se desligam pela desintegração da célula mater.

Leveduras verdadeiras anascógenas
(não filamentam)



15- Torulopsis



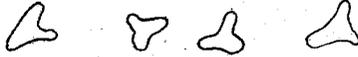
16- Rhodotorula



17- Cryptococcus



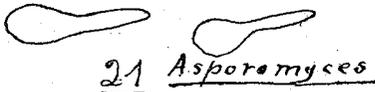
18- Klöckeria



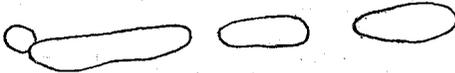
19- Trigonopsis



20- Pityrosporum



21- Asporomyces



22- Mycoderma



23- Schizoblastosporium

3.º FALSAS LEVEDURAS ASCÓGENAS

LEVEDURAS NO MEIO DE SABOURAUD

Colônias Cremosas

Leveduras que filantam em água de fécula de batata (Falsas leveduras)

Leveduras que produzem ascos.
Falsas leveduras ascógenas*Endomyces*

Fig. 24

Formação de micélios com oídios. Os ascosporos resultam de copulação isogâmica ou partenogenética. Esporos redondos, ovais ou em forma de coifa. O micélio em certas partes se desarticula em artrosporos.

Nematospora

Fig. 25

Ascospores com 8 a 16 ascosporos em forma de fuso com fagelo, parasitas de vegetais.

Endomycopsis

Fig. 26

Micélio com conídios, células em brotamento. A formação de esporos realiza-se por copulação isogâmica ou partenogenética. Esporos redondos, esféricos ou ovais, ou em forma de foice, lisos, verrucosos, eventualmente envolvidos por uma bainha.

Eremascus

Fig. 27

Cresce sob a forma de micélio. Os ascosporos em forma de coifa, em número de 4 a 8 por asco, resultam de copulação isogâmica. Os ascos são formados por cópula na extremidade de 2 ramos copuladores enrolados.

Oleina

Fig. 28

Ascospores desenvolvidos sem traço de copulação, esporos geralmente de 4 a 8 por asco. O micélio se dispõe em forma de raquete. Presença de clamidosporos.

Octomyces

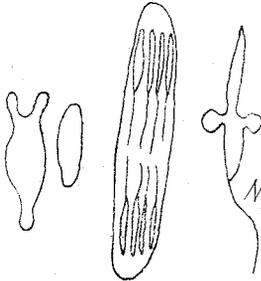
Fig. 29

Micélio septado, geralmente ausência de micélio em raquete. Clamidosporos terminais. Este gênero é considerado sinônimo de *Oleina*, diferindo apenas pelos clamidosporos terminais e ausência de micélio em raquete.

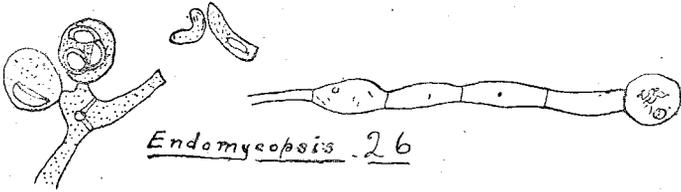


Falsas leveduras ascógenas
(*Filamentosas*)

Endomyces 24



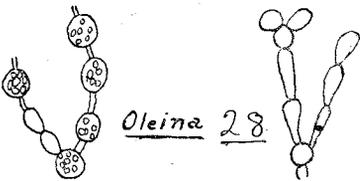
Nematospora 25



Endomycopsis 26



Eremascus 27



Oleina 28



Otomyces 29

Lima Lutz

4.º — FALSAS LEVEDURAS ANASCÓGENAS

LEVEDURAS NO MEIO DE SABOURAUD
Leveduras que filamentam e que não produzem ascos (Falsas leveduras anascógenas)

Colônias
Cremosas

Candida (Fig. 30)
leveduras blastosporadas, filamentosas, anascopuradas.

Colônias pseudo-membranosas e membranosas.

1.º Grupo *albicans*

Filamentação do tipo *Mycotorula* ou *Mycotorulbides*; elementos característicos são clamidosporos, zimograma positivo para glicose e maltose. Auxanograma dos açúcares negativo para a maltose e rafinose. Auxanograma do azoto positivo para uréia.

2.º Grupo *tropicalis*

Este grupo difere do *albicans* porque faz fermentar a sacarose, além da glicose e da maltose. Filamentação muito variável, ausência de clamidosporos. Zimograma positivo para glicose, maltose e sacarose. Auxanograma dos açúcares, negativo para a lactose e rafinose. Auxanograma do azoto negativo para a uréia; não é assimilada.

3.º Grupo *pseudotropicalis*

Este grupo encerra apenas uma única espécie. É a única *Candida* que fermenta a lactose, não faz fermentar a maltose, de acordo com as leis de fermentação. Filamentação difícil de se obter podendo filamentar tomando os aspectos *Mycocandida* e *Mycotoruloides*; blastosporos alongados e enormes. Clamidosporos ausentes. Pseudo-conídios raros. Zimograma muito característico — positivo para a glicose, sacarose, lactose e rafinose. Negativo para maltose. Auxanograma dos açúcares negativo para maltose. Auxanograma do azoto não é característico.

4.º Grupo *Guilhermond*

Filamentação fácil de se obter. Verticílios regulares e arredondados, com aspecto de *Mycotorula* ou *Mycocandida*, mais raramente. Blastosporos de formas variadas. Clamidosporos ausentes. Pseudo-conídios mais ou menos abundantes. Zimograma característico: positivo para a glicose e sacarose; negativo para a maltose e lactose. Auxanograma dos açúcares mais ou menos superponível ao zimograma. Auxanograma do azoto: negativo para a uréia.

5.º Grupo *Krusei*

Nesta estão as "leveduras zimáticas simples", possuindo apenas complexo zimase, com incapacidade de desdobrar as halósides (di ou tri). Estas leveduras formam então 2 grupos. Filamentação em geral muito fácil sobre todos os meios. Blastosporos mais ou menos numerosos de forma variável. Clamidosporos ausentes. Pseudo-conídios raros. Zimograma positivo para a glicose e levulose, negativo para todos os outros açúcares. Auxanograma dos açúcares, negativo. Auxanograma do azoto é muito característico.

6.º Grupo *brumpti*

Poder fermentativo muito fraco, limitado à glicose, constitui a transição entre leveduras zimáticas. Filamentação muito difícil de se obter. Blastosporos mais ou menos numerosos, algumas vezes dimórfos. Clamidosporos ausentes. Pseudo-conídios raros. Auxanograma do azoto negativo, para a uréia.

7.º Grupo *asimático*

Poder fermentativo nulo para todos os açúcares. Tomadas por leveduras heteorgêneas, zimograma negativo. Auxanograma dos açúcares positivo para glicose, maltose, sacarose, lactose. Ureia assimilada.

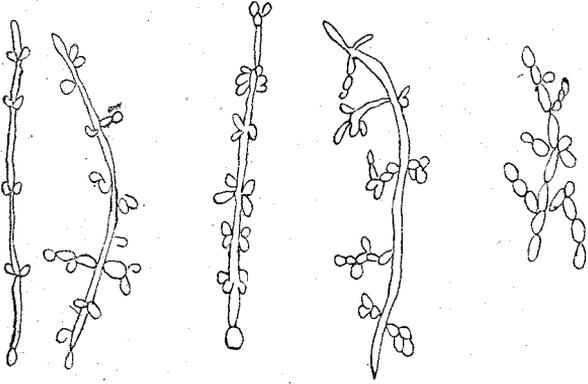
Trichosporon
Fig. 31

Leveduras blasto-artrosporadas, constituídas de filamentos micelianos septados, bifurcados, que dão origem a blastosporos e artrosporos, e microfilamentos que terminam em arborizações especiais semelhantes a couve flor — os *apressorium*. Estes órgãos aparecem geralmente nos pontos de contacto do meio com as paredes do tubo.

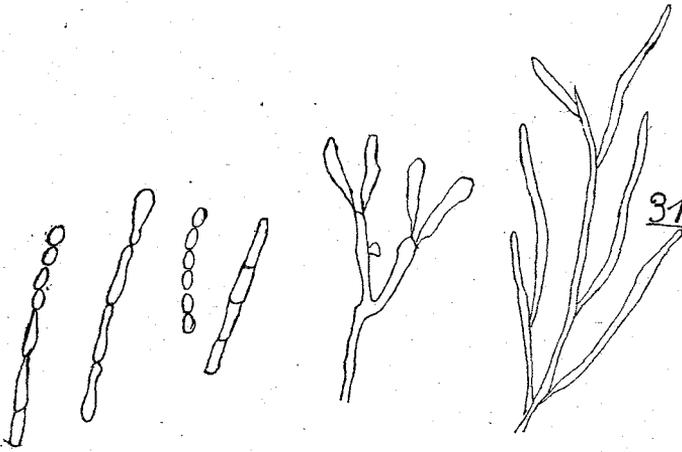
Geotrichum
Fig. 32

Micélio que se desarticula em artrosporos, não havendo brotamento. Forma película nos meios líquidos.

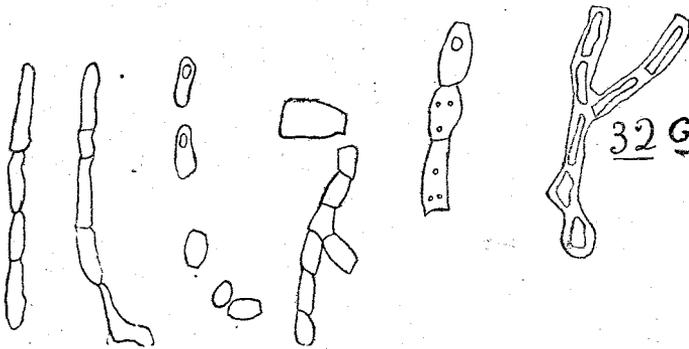
Falsas leveduras anascógenas
(Filamentosas)



1
Candida 30



2
31 Trichosporon



3
32 Geotrichom

Lima
FALCZ

Para o estudo das leveduras pretas, filamentosas ou não, adotamos o critério estabelecido por Dodge quando estuda a tribo *Toruleae*. Devemos dizer que cogumelos outros, sem se comportarem como leveduras, estão também aí enquadrados, razão pela qual apenas alguns fungos nos interessam. Não colocamos em nossa classificação as leveduras pretas, porque estudos e pesquisas mais cuidadosas devem ser feitas antes de qualquer tentativa de classificação.

Temos isolado frequentemente de lesões cutâneas e do escarro amostras de cogumelos que se enquadram na tribo *Toruleae* Saccardo 1886. Tais cogumelos têm sido pouco estudados e a sua sistemática é a mais incompleta possível. O que os caracteriza, fundamentalmente, é a produção de um pigmento pardo ou mesmo preto, que confere às culturas um aspecto fuliginoso típico. Hoje em dia, no estudo das leveduras e falsas leveduras, apresenta grande importância para a sistemática, a produção ou não de pigmento por parte dos elementos celulares, pigmento este que pode ser de coloração diferente.

Harrison, em 1928, numa classificação muito simplista referente às leveduras, adota o seguinte critério:

Produzindo pigmento vermelho	<i>Rhodotorula</i> , com 13 espécies.
Produzindo outros pigmentos que não o vermelho	<i>Chromotorula</i> , com 4 espécies.
Não produzindo pigmento. Forman- do hifas	<i>Mycotorula</i> , com 10 espécies.
Não formando hifas	<i>Torula</i> , com 16 espécies.

Lodder, em 1934, não aceitou o gênero *Chromotorula* de Harrison, dizendo ser ele insustentável, porque não se pode enquadrar em um único gênero cogumelos que produzem pigmentos tão diferentes (amarelo, pardo e preto). Esta pesquisadora, em seu livro, trata apenas do gênero *Rhodotorula*, cujas espécies produzem um pigmento carotenóide. Este gênero está colocado na família *Rhodotorulaceae* (fungos anascosporados).

Procurando uma chave para a classificação desses cogumelos que produzem pigmento de coloração preta, achamos que a proposta por Dodge é a que melhor se nos apresenta.

Os *Toruleae* de Saccardo incluem todos os cogumelos corados em escuro, com blastosporos ou artosporos, algumas vezes dispos-

tos em cadêias. A este grupo Dodge juntou o gênero *Madurella*, cuja morfologia não está ainda bem conhecida, assim como o gênero *Cladosporium*.

O gênero tipo desta tribu é *Torula* Persoon, 1796, não Turpin, Pasteur, Hansen, etc..

São os seguintes os gêneros incluídos na tribu *Toruleae*, segundo Dodge:

- Micélios que desaparecem prontamente, dando origem a esporos simples e pretos, variando de elíticos a elipsóides ou lenticulares, nunca fusiformes *Coniosporium*.
- Micélio persistente, frequentemente corado em escuro (branco no gênero *Indiella*)
- Micélio totalmente desmembrado em artrosporos. Artrosporos cilíndricos, curtos, cadêias não facilmente desmembradas *Hormiscium*.
- Artrosporos elipsóides, cadêias facilmente desmembrados *Torula*.
- Artrosporos esféricos e elipsóides, curtos, germinando *Pullularia*.
- Micélio não totalmente desmembrado em artrosporos; cadêias de artrosporos nascendo em curtos ramos laterais. Artrosporos elipsóides e esféricos.
- Esporos rugosos *Hemispora*.
- Esporos lisos *Dematium*.
- Artrosporos com duas células *Cladosporium*.
- Artrosporos não são produzidos, micélio tendendo a formar esclerotos, clamidosporos abundantes, estritamente patogênicos, produzindo micetomas.
- Micélio de cinzento escuro a preto *Madurella*.
- Micélio permanecendo branco *Indiella*.

A prioridade do gênero *Torula* pertence incontestavelmente a Persoon que, desde 1796, descrevia com este nome uma *Torula monilis*, isolada de um vegetal. Alguns anos mais tarde, em 1801, Per-

soon fez de *Torula* um sub-gênero de *Monilia*, e em 1822, na sua "Micológia européia", o gênero *Torula* foi novamente separado e considerado distinto do gênero *Monilia*.

Em 1880, Saccardo, no seu "Conspectus" consagra o valor sistemático do gênero *Torula* Persoon, fixando os seus limites e a sua diagnose.

O gênero *Torula* Persoon 1796 emend. Saccardo 1880, segundo Langeron, vem se enquadrar entre os hifomicetos, na secção dos *Dematiae* (hifomicetos de talo fuliginoso). Estava, pois, este gênero perfeitamente identificado, quando mais de 30 anos após a publicação do "Synopsis" de Persoon, Turpin aplicou o mesmo nome *Torula* para designar leveduras observadas no decorrer de fermentações alcoólicas e acéticas. Pasteur, por sua vez, empregou o nome *Torula* para designar cogumelos leveduriformes, desprovidos de poder fermentativo. Em 1888, Hansen modificou ainda o sentido de *Torula* e o designou para representar leveduras asporógenas. Will, mais tarde, conservou o gênero *Torula* no sentido Turpin-Pasteur-Hansen, precisando, porém, sua diagnose, de tal modo, que ficou — *Torula* Turpin, 1838, sensu Pasteur-Hansen, emend. Will, 1917.

Neste sentido, os *Torula* não representam cogumelos de talo fuliginoso, mas sim, mucedíneas, isto é, hifomicetos incolores, ou pelo menos, sem pigmento fuliginoso.

Vemos, pois, que em nomenclatura micológica existiam 2 gêneros de cogumelos, muito afastados um do outro, com o mesmo nome de *Torula*. Um compreende formas filamentosas, pretas, produzindo blastosporos ou se dissociando mais ou menos facilmente em cadêias de formações artrosporadas. O outro, reunindo todas as formas de leveduras incolores, multiplicando-se por brotamento, e podendo, em certas condições, dar origem a um esboço de micélio, mas nunca formando ascosporos. Em virtude da lei de prioridade, só o 1.º grupo deve levar o nome de *Torula* Persoon, 1796, emend. Saccardo, 1880, e *Torula* Turpin, 1838, sensu Pasteur-Hansen emend. Will 1917, cai forçosamente em sinonímia.

A diagnose do gênero *Torula* Persoon 1796 emend. Saccardo, 1880, pode, portanto, ser estabelecida da seguinte maneira:—

Hifas estéreis, raríssimas, ou quando desenvolvidas, são ramificadas, septadas, hialinas ou fuliginosas. Conidióforos ausentes ou simplesmente representados por curtos ramos laterais. Os elementos

reprodutores podem ser formados simplesmente à custa da desarticulação total dos filamentos (artrosporos). Eles podem nascer também diretamente dos filamentos, sob a forma de blastosporos ou de conídios, que se dissociam mais ou menos facilmente. Todos estes esporos são de coloração escura: pretos, cinzentos ou cinzento-oliváceos. Sua forma é variável: redondos, elíticos, ovóides ou fusiformes; lisos (sub-gênero *Eutorula* para Langeron) ou rugosos, e algumas vezes verrucosos.

Redaelli e Lodder incluem o gênero *Torula* no sentido de Turpin, no gênero *Torulopsis*, Berlese.

Segundo Lindau, citado por Langeron, o gênero *Torula* seria constituído por elementos heterogêneos, sendo possível grupá-los em 4 tipos morfológicos:

1 — Micélio formado unicamente por artículos nodulosos que acabam por se dissociar (tipo de *T. rhododendri* Kunze 1829); este tipo segundo Langeron passa para o gênero *Hormiscium* Kunze 1817.

2 — Micélio a princípio filamentoso, transformando-se pouco a pouco por septação centrípeta em uma cadêia de conídios (tipo *T. attenuata*, *T. monilioides*, *T. jaapii*).

3 — Micélio filamentoso cujas extremidades se desarticulam ou brotam para formar conídios (tipo do *T. granulosa* Lindau 1907).

4 — Micélio bem desenvolvido, frequentemente hialino, ramificado, com verdadeiras cadêias de conídios nas extremidades dos ramos (tipo *T. convoluta* Harz 1871).

Si se quizesse, nos diz Langeron, aplicar a estes tipos a classificação de Vuillemin para os hifomicetos, o 1.º e o 2.º grupos seriam talosporados artrosporados, o 3.º grupo talosporados blastosporados e o 4.º grupo conídiosporados.

SEGUNDA PARTE

De acordo com a técnica por nós proposta anteriormente estudamos 100 amostras de leveduras, que foram identificadas nos seguintes gêneros:

41 amostras	—	<i>Candida</i>
20	”	— <i>Saccharomyces</i>
15	”	— <i>Geotrichum</i>

N.º de amostras	Aspécto colônia. Sab. glicose	Aspécto micr. água batata. Ascos	Malt.	Lev.	Dex.	Sac.	Xil.	Lact.	Raf.	Gelat.	Sub-grupo
11 amostras	Colônia húmida, brilhante, branco-amarelada.	Asc. Ausência de filamentos. Células ovóides, esféricas e elipsóides. Brotamento presente	a	A	A	a	—	—	—	—	1.º Sub-grupo da classificação de Guilliermord
3 amostras	Idem	Idem	—	—	a	a	—	—	—	—	2.º Sub-grupo
3 amostras	Idem	Asc. Ausência de filamentos. Células esféricas alongadas. Brotamento presente	a	—	A	—	—	—	—	—	3.º Sub-grupo
1 amostra	Idem	Asc. Ausência de filamentos. Células ovóides, alongadas. Brotamento presente	—	—	A	—	—	—	—	—	
1 amostra	Idem	Idem	—	—	—	—	—	+	—	—	5.º Sub-grupo
1 amostra	Idem	Idem	a	—	a	—	—	—	—	—	

15 — CEOTRICHUM — procedentes de: pele 3, cabelo 2, unha 1, Kefir 4, sapinho 1, escarro 2, Berlim 1, Montevideu 1.

1 amostra	Colônia raza, centro saliente, aderente ao meio.	Ausência de ascos. Presença de astros-poros.	A	A	A	A	A	A	A		
2 amostras	Colônia pseudo-membranosa, aderente ao meio, esbranquiçada.	Idem	a	—	a	—	a	—	—		
3 amostras	Colônia branca, crescimento regular, pseudo-membranosa, aderente ao meio.	Idem	A	Ag	A	a	—	—	—		
2 amostras	Colônia raza, esbranquiçada, pseudo-membranosa, aderente ao meio	Idem	—	—	—	—	—	—	—		
5 amostras	Colônia cremosa, pouco brilhante, esbranquiçada	Idem	—	a	a	—	a	—	—		
1 amostra	Colônia branca, húmida, aderente pseudo-membranosa	Idem	—	—	a	—	—	—	—		
1 amostra	Idem	Idem	—	a	a	—	a	—	—		

4 — HANSENULA — Procedentes de I. O. C. 1, D. I. A. 3.

4	”	— <i>Hansenula</i>
10	”	— <i>Rhodotorula</i>
1 amostra	—	<i>Torulopsis</i>
2 amostras	—	<i>Hormiscium</i>
3	”	— <i>Torula</i>
1 amostra	—	<i>Coniosporium</i>
1	”	— <i>Debaryomyces</i>
2 amostras	—	<i>Trichosporon</i>

O estudo das propriedades fermentativas desses diferentes gêneros mostrou-nos que leveduras pertencentes ao gênero *Saccharomyces* são as que apresentam maior poder de fermentação, em oposição às amostras do gênero *Rhodotorula* como se depreende do quadro que se segue.

A leitura nos diferentes açúcares foi realizada no prazo de 1 semana, afim de se evitarem possíveis causas de erro.

O quadro seguinte nos mostra os principais caracteres das 100 amostras estudadas:

N.º de amostras	Aspécto colônia. Sab. glicose	Aspécto micr. água batata. Ascosporos	Malt.	Lev.	Dex.	Sac.	Xil.	Lact.	Raf.	Gelat.	Sub-grupo
-----------------	-------------------------------	---------------------------------------	-------	------	------	------	------	-------	------	--------	-----------

41 — CANDIDA — procedentes de: escarro 6, sapinho 19, Col. Langeron de Paris 5, Col. Pablo Negroni, 5, Montevideu 1, Chicago 1, leite 2, soro vacínico 1, abacaxi 1.

22 amostras	Colônia raza, cremosa, brilhante, branco-amarelada	Filamentos e blastosporos. Ausência de ascosporos	A	Ag	A	—	—	—	—	—	
8 amostras	Colônia cerebriforme, lobulada, branco-amarelada	Filamentos e blastosporos. Ausência de ascosporos	—	—	a	—	—	—	—	—	
2 amostras	Colônia branco mate, brilhante e cremosa	Filamentos e blastosporos. Ausência de ascosporos	—	—	—	—	—	—	—	—	
8 amostras	Colônia raza, cremosa, brilhante, branco-amarelada	Filamentos e blastosporos. Ausência de ascosporos	a	—	a	—	—	—	—	—	
1 amostra	Colônia raza, cremosa, brilhante, branco-amarelada	Filamentos e blastosporos. Ausência de ascosporos	a	a	—	—	—	—	—	—	

20 — SACCHAROMYCES — procedente de: vinho 2, Lab. Ficker 4, escarro 3. — I. O. C. 6, cerveja 1, coalhada 1, fermento 3.

N.º de amostras	Aspécto colônia. Sab. glicose	Aspécto micr. água batata. Ascospores	Malt.	Lev.	Dex.	Sac.	Xil.	Lact.	Raf.	Gelat.	Sub-grupo
2 amostras	Colônia abundante, esbranquiçada, cremosa, húmida, pouco brilhante. Superfície enrugada	Ascospores em forma de chapéu. Ausência de filamentos. Células variadas	a	—	A	A	—	—	—		
1 amostra	Colônia esbranquiçada, brilhante, cremosa e lisa	Ascospores em forma de chapéu alto Vide foto.	—	a	a	a	—	—	—		
1 amostra	Idem	Idem	a	a	A	A	—	—	a		

10 — RHODOTORULA — Procedentes de: terra 1, pele 7, escarro 2.

4 amostras	Colônia lisa, cremosa; centro vermelho vivo, ligeiramente saliente	Ausência de filamentos. Células alongadas. Ausência de ascospores. Brotamento	—	—	—	—	—	—	—		
6 amostras	Colônia com centro elevado, ligeiramente cerebriforme	Idem	—	—	a	—	—	—	—		

1 — TORULOPSIS — Procedentes de: escarro 1.

1 amostra	Colônia húmida, cremosa, lisa, esbranquiçada	Ausência de ascospores e filamentos. Células pequenas, arredondas, algumas apiculadas. Brotamento.	a	a	a	—	—	—	—		
-----------	--	--	---	---	---	---	---	---	---	--	--

2 — HORMISCIMUM — Procedentes de: pele 1, ar atmosférico 1.

2 amostras	Colônia preta, centro liso, ligeiramente filamentosa e penugenta na periferia	Artrospores em cadeias não facilmente desmembráveis. Ausência de ascospores	a	—	a	—	—	—	—		
------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--	--

3 — TORULA — Procedentes de: pele 3.

2 amostras	Colônia preta, ligeiramente filamentosa na periferia. No inflexão branco, depois preto. Centro liso.	Artrospores em cadeias desmembráveis. Micélio desmembrado em artrospores	a	—	a	—	—	—	—		
------------	--	--	---	---	---	---	---	---	---	--	--

N.º de amostras	Aspécto colônia. Sab. glicose	Aspécto micr. água batata. Ascosp. batata. Ascosp.	Malt.	Lev.	Dex.	Sac.	Xil.	Lact.	Raf.	Gelat.	Sub-grupo
1 amostra	Colônia fuliginosa cerebriiforme no centro, aderente	Idem	—	—	a	—	—	—	—	—	

1 — CONIOSPORIUM — Procedente de: escarro 1.

1 amostra	Colônia preta, filamentosa, bordas radiadas e penugentas na periférica. Superf. irregular	Esporos simples. Ausência de micélio	a	—	a	—	—	—	—	—	
-----------	---	--------------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	--

1 — DEBARYOMYCES — Procedente de: abacaxi 1.

1 amostra	Colônia cremosa, úmida, branco-amarelada, pouco brilhante	Ascosp. rugosos. Células alongadas, com gotículas de gordura	—	a	a	—	—	—	—	—	
-----------	---	--	---	---	---	---	---	---	---	---	--

2 — TRICHOSPORON — Procedentes de: I. O. C. 1, R. G. do Sul 1.

1 amostra	Colônia acinzentada, brilhante com raios que partem do centro	Ausência de ascosp. Presença de filamentos em candlelabro. Blastosporos e artrosp. e artrosp. e artrosp.	—	—	—	—	—	—	—	—	
1 amostra	Colônia branca, bordas salientes, lobuladas, brilhantes	Ausência de ascosp. Artrosp. e blastosporos	—	a	—	a	—	—	—	—	

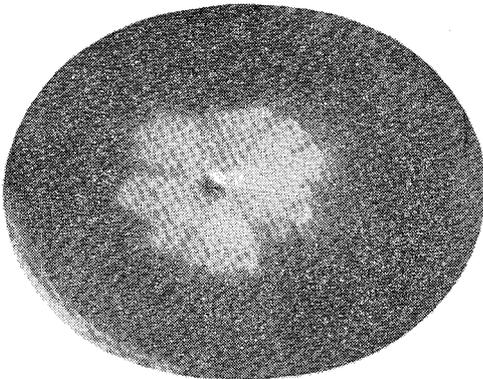


FIG. N.º 33

Candida Krusei. Aspécto macroscópico da colônia gigante em Sabouraud-glicose.

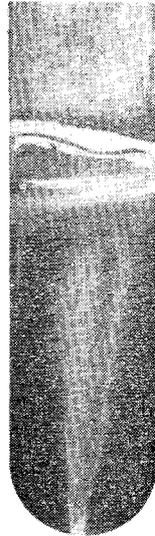


FIG. N.º 34

Candida krusei. Crescimento da levedura em mosto gelatinado.

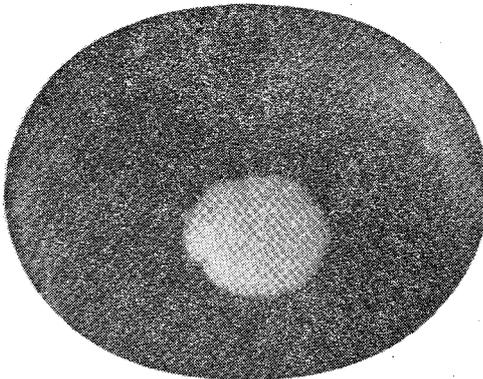


FIG. N.º 35

Candida parakrusei. Aspécto da colônia gigante em Sabouraud-glicose.

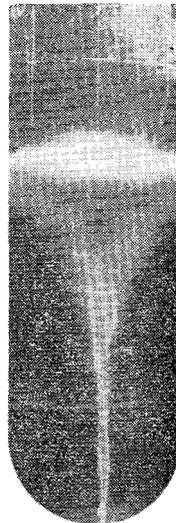


FIG. 36

Candida parakrusei. Crescimento da levedura em mosto gelatinado.

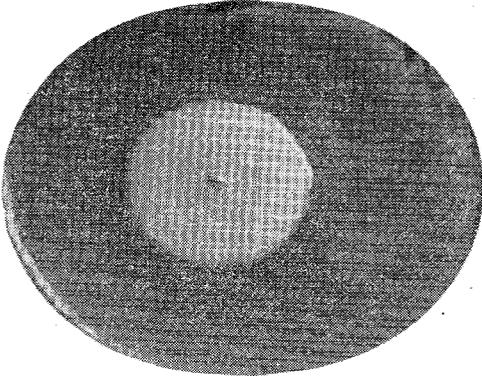


FIG. N.º 37

Candida Guilliermondii. Colônia gigante em Sabouraud-glicose.

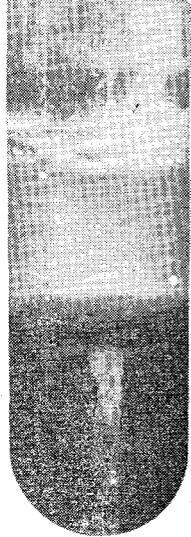


FIG. N.º 38

Candida Guilliermondii. Fusão de mosto gelatinado.

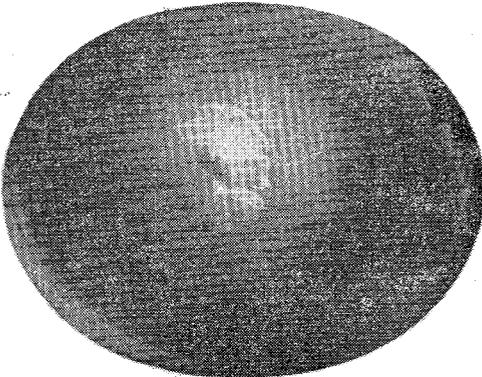


FIG. N.º 39

Candida tropicalis. Colônia gigante em Sabouraud-glicose.

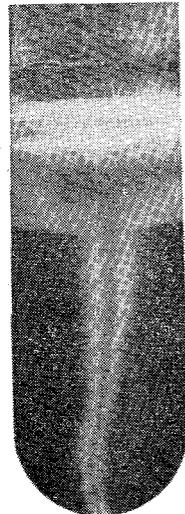


FIG N.º 40

Candida tropicalis. Aspecto da levedura em mosto gelatinado.

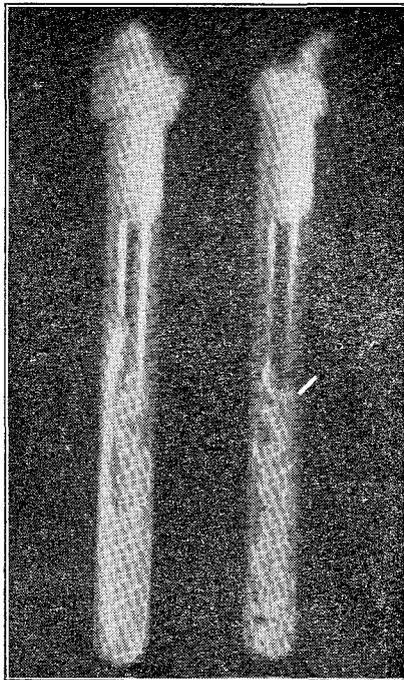


FIG. N.º 41

Colônias de *Saccharomyces* isoladas de fermento Fleischmann (à esquerda) e de vinho de laranja (à direita).

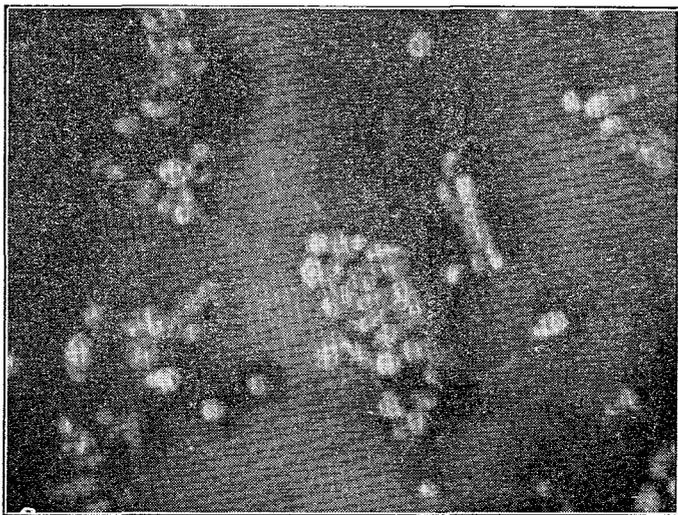


FIG. N.º 42

Ascosporos de Saccharomyces isolado do escarro. Aspecto microscópico em água de fécula de batata.

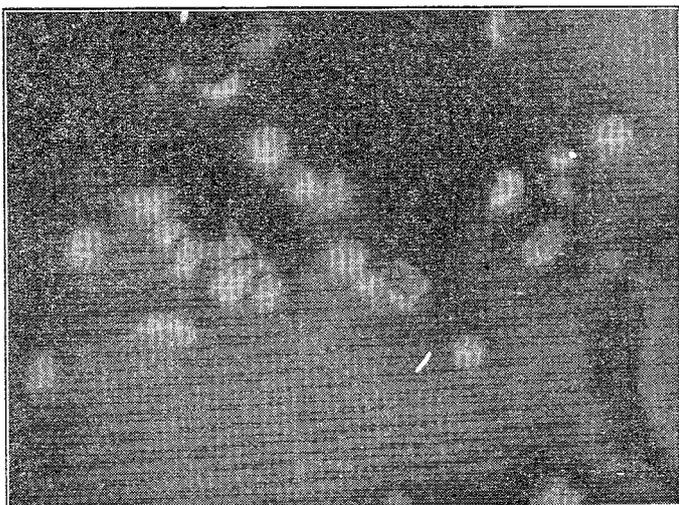


FIG. N.º 43

Ascosporos de *Hansenula* em água de fécula de batata.

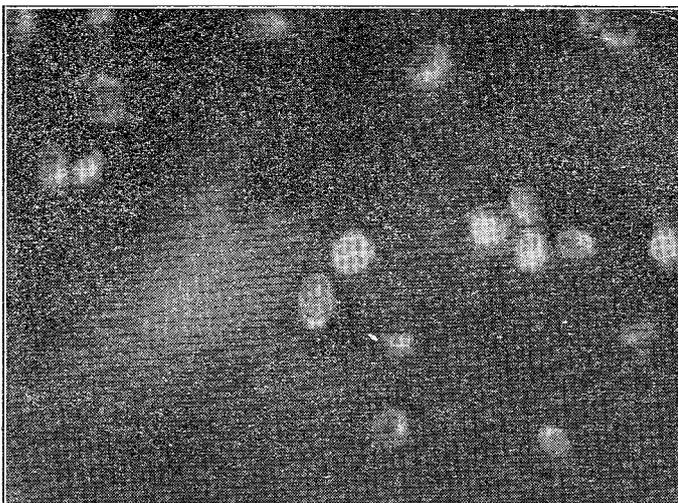


FIG. N.º 44

Típicos ascosporos de *Hansenula* em água de fécula de batata.

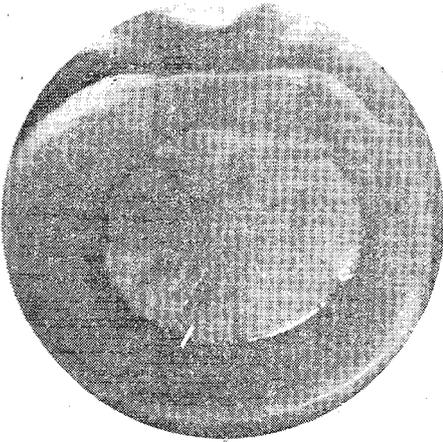


FIG. N.º 45

Rhodotorula. Aspecto da colônia gigante em Sabouraud-glicose.

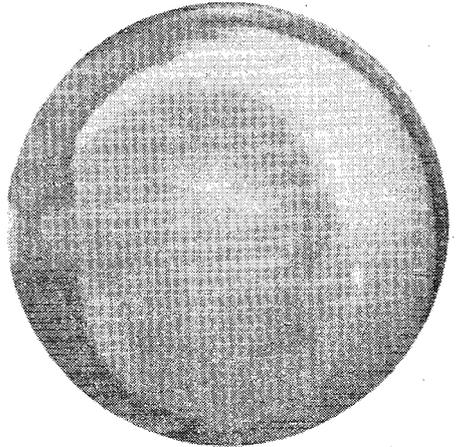


FIG. N.º 46

Rhodotorula. Aspecto macroscópico colônia gigante.

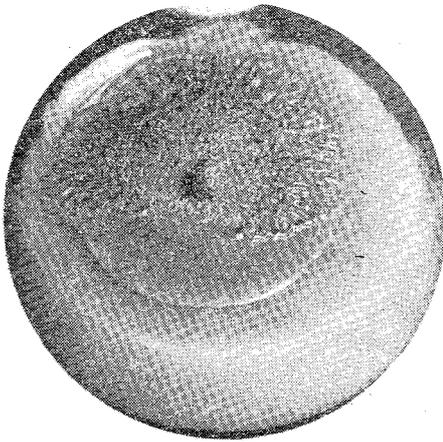


FIG. N.º 47

Rhodotorula. Colônia gigante em Sabouraud-glicose.

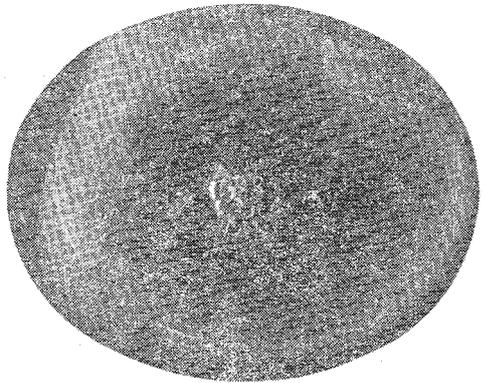


FIG N.º 48

Amostra F. O. *Coniosporium*. Aspecto da colônia gigante em Sabouraud-glicose.



FIG. N.º 49
Hormiscium. Crescimento em Sabouraud-gliose.

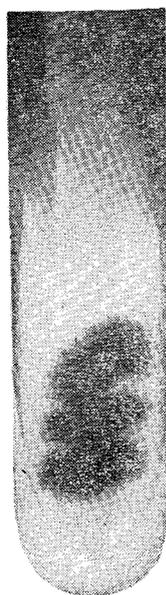


FIG. N.º 50
Torula. Aspécto em Sabouraud-gliose.

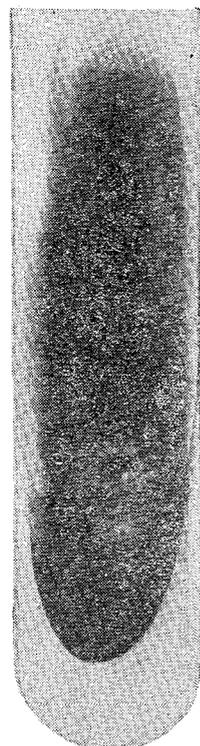


FIG. N.º 51
Hormiscium. Crescimento em Sabouraud-gliose.

SUMÁRIO

Os A. A. apresentam neste trabalho uma orientação prática para a identificação rápida das leveduras. Dedicam a 1.^a parte ao estudo das principais classificações desse interessante grupo de cogumelos. Analisam as classificações de Vuillemin, Ota, Ciferri e Raedelli, Guilliermond, Stelling-Dekker, Langeron e Talice, Lodder, Dodge, Langeron e Guerra, apresentando também alguns outros dados referentes à nomenclatura das leveduras filamentosas anacógenas.

A seguir mostram as bases da classificação que propõem para a identificação genérica rápida das leveduras, dividindo-as em 4 grandes grupos:

In each one of these groups, the authors place numerous genus with their principal characters. To make the generical identification easy, they present schematic drawing.

The second part of the work is dedicated to the study of 100 samples of yeasts, all identified by the proposed method, getting the following results:

<i>Candida</i>	— 41 samples
<i>Saccharomyces</i>	— 15 "
<i>Geotrichum</i>	— 4 "
<i>Hansenula</i>	— 10 "
<i>Rhodotorula</i>	— 1 sample
<i>Torulopsis</i>	— 2 "
<i>Hormiscium</i>	— 3 "
<i>Torula</i>	— 1 "
<i>Coniosporium</i>	— 1 sample
<i>Debaryomyces</i>	— 2 "
<i>Trichosporon</i>	— 20 "

BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA, Floriano Paulo de — 1939 — *Micologia Médica. Estudo das micoses humanas e de seus cogumelos.* Cia. Melhoramentos S. Paulo.
- ALMEIDA, Floriano de & LACAZ, Carlos da Silva — 1940 — *An. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, XVI, Tomo I, pg. 247.
- ALMEIDA, Floriano de & LACAZ, Carlos da Silva — 1938 — *Rev. de Med. do CAOC*, vol. 23, Junho, n.º 66.
- ALMEIDA, Floriano de & LACAZ, Carlos da Silva — 1940 — *An. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, XVI, Tomo I, pag. 257.
- ALMEIDA, Floriano de & LACAZ, Carlos da Silva — 1940 — *Folia Clinica et Biologica*, vol. XIII, n.º 2.
- ALMEIDA, Floriano de & LAGAZ, Carlos da Silva — 1940 — *Folia Clinica et Biologica*, vol. 12, n.º 4.
- ALMEIDA, Floriano de & LACAZ, Carlos da Silva — 1938 — *Folia Clinica et Biologica*, vol. n.º 1.
- ARÊA LEÃO, A. S. — 1940 — *Memórias do Inst. Oswaldo Cruz*, tomo 35, fasc. 4.
- ASHPORD, Baylei K. — 1932 — *The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, vol. VIII, September, n.º 1.
- ASHPORD, Baylei K. — 1932 — *The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, vol. VIII, September, n.º 1.
- ASHPORD, Bailey K. and CIFERRI, Raffaele — 1930 — *Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, II, Abterlung, Bd. 81.
- BESTA, Bruno — 1933 — *Bollettino Dell Istituto Sieroterapico Milanese*, vol. XII, Settembre, Anno XI, Fasc. IX, Pg. 718.

- BRUNETTO, Stefania, CIFERRI, R. & REDAELLI, P. — 1934 — *Atti dell'Istituto Botanico dell'Università di Pavia*, Serie IV, vol. V, Anno XII.
- CAMARGO, Inah Moraes de — 1934 — Agentes etiológicos do "Sapinho", Estomatite cremosa em S. Paulo. Tese de doutoramento.
- CAVALLERO, C. — 1939 — *Mycopathologia*, vol. I, Fasc. 4.
- CIFERRI, R. et REDAELLI, P. — 1935 — *Archiv für Mikrobiologie*, XV, Berlim.
- CIFERRI, R. — 1930 — *Archiv für Protistenkunde*, II, XIV, Jena.
- CIFERRI, R. — 1931 — *Mycologia*, vol. XXIII, n.º 2, March-April.
- CIFERRI, R. e REDAELLI, P. — 1925 — Estratto dagli *Atti del R. Istituto Botanico dell'Università di Pavia*, Anno II, pg. 147.
- CIFERRI, R. e REDAELLI, P. — 1929 — *Annales Mycologici*, vol. XXVII, ns. 3-4.
- CIFERRI, R. and VERONA, O. — 1938 — *Mycopathologia*, Vol. I, Fasc. 2.
- CIFERRI, R. — 1931 — *Mycologia*, Vol. XXIII, n.º 2, March-April.
- CIFERRI, R., REDAELLI, P. e CAVALLERO, C. — 1938 — *Mycopathologia*, Vol. I, Fasc. 2.
- CIFERRI, R. and REDAELLI, P. — 1939 — *Mycopathologia*, Vol. II, Fasc. 2.
- CIFERRI, R. — 1930 — *Annales Mycologici*, vol. XXVIII, n.º 5/6.
- CORANT, N. — 1940 — *Mycopathologia*, vol. II, Fasc. 4.
- DEKKER, Nellie Margaretha Stelling — 1931 — Die Sporogenen Hefen, I, Feil, Amsterdam.
- DIDDENS, H. A. and LODDER, J. — 1939 — *Mycopathologia*, Vol. II, Fasc. I.
- DODGE, Carrol William — 1935 — Medical Mycology. Fungous diseases of Men and other mammals. St. Louis. The C. V. Mosby Co.
- FISHER, C. Virginia and LLOYD, Arnold — 1936 — *University of Illinois Bulletin*, Vol. XXXIII, N.º 51.
- FUHRMANN, F. — 1926 — Einführung in Die Grundlagen Der Technischen Mykologie. Zweite Auflage. Jena.
- GIORDANO, Alfonso — 1939 — *Mycopathologia*, vol. I, Fasc. 4.
- GUILLIERMOND, A. — 1912 — Les Levures. O. Doin et Fils Editeurs, Paris.
- GUILLIERMOND, A. — 1920 — The Yeasts. Translated and thoroughly revised in collaboration with the original Author by Fred Wilbur Tanner. New York.
- GUILLIERMOND, A. — 1937 — La sexualité. Le cycle de développement. La phytogénie et la classification des Levures d'après les travaux récents. Masson et Cie.
- GUILLIERMOND, A. — 1928 — Clef dichotomique pour la détermination des levures Paris.
- HENRICI, Arthur T. — 1930 — Molds, Yeasts, and Actinomycetes. New York.
- HENRICI, ARTHUR T. — 1941 — Bacteriological Reviews, vol. 5, number 2, June.
- KAISER, S. — 19 — Les Levures, Paris.
- LANGERON, Maurice — 1928 — *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, Tome VI, n.º 4, Octobre.
- LANGERON, Maurice et TALICE, R. V. — 1932 — *Annales de Parasitologia humaine et comparée*, Tome I, n.º 1, Janvier.
- LANGERON, Maurice et GUERRA, Paul — 1938 — *Annales de Parasitologia humaine et comparée*, Tome XVI, ns. 1, 2, 5 e 6.
- LODDER, J. — 1934 — Die Anaskosporogenen Hefen. Amsterdam.

- LODDER, J. — 1938 — *Mycopathologia*, Vol. I, Fasc. 1.
- MACKINNON, Juan E. — 1933 — *Octava reunion de la Soc. Arg. de Pat. Reg. del Norte*, 2 y 3 Octubre.
- MACKINNON, Juan E. — 1940 — *The Jour. of Infections Diseases*, Jan.-Febr., vol. 66, pp. 59-77.
- MESQUITA, Manoel Z. — 19 — *Rev. do Dep. Nacional da Produção Animal*, Ano II, ns. 1, 2 e 3, Rio de Janeiro.
- NANNIZI, Arturo — 1939 — *Ripertório Sistemático dei miceti dell'Uomo e degli animali*.
- NEGRONI, Pablo y LASTRA, T. de Villafañe — 1939 — *Mycopathologia*, Vol. II, Fasc. 1.
- PUNKARI, Laila and HENRICI, Arthur T. — 1935 — *Journ. of Bacteriology*, Vol. 29, n.º 3, March.
- PUNTONI, V. — 1938 — *Mycopathologia*, Vol. I, Fasc. 2.
- REDAELLI, Piero — 1930 — *Estratto dalla Rivista di Biologia*, Vol. XII, Facs. III VI.
- REDAELLI, Piero e CIFERRI, Raffaele — 1929 — *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektion Krankheiten*, II, Ahterlung, Bd. 78.
- REISS, F. — 1929 — *Annales de Parasitologie*, T. VII, n.º 6, 1er Novembre, Pg. 506-510.
- SMITH, George and RAISTRICK, Harold. — 1938 — *An Introduction to Industrial Mycology*. Londres.
- TALICE, R. V. y MACKINNON, J. E. — 1933 — *Archivos Uruguayos de Medicina, Cirurgia y Especialidades*, Tomo II, n.c 4 — Pgs. 537-574, Abril.
- TALICE, R. V. y MACKINNON, J. E. — 1932 — *Extrait des Comptes rendus des Séances de la Société de Biologie* — Société de biologie de Montevideo — Séances des 2 et 16 juin, 7 juillet e 4 août, 1932.
- TALICE, R. V. y MACKINNON, J. E. — 1933 — *Octava Reunión de la Sociedad Arg. de Pat. Reg. dell Norte* — 2 y 3 de Oct.
- VERONA, O. — 1939 — *Mycopathologia*, Vol. II, Fasc. 2.
- VERONA, O. — and CIFERRI, R. — 1939 — *Mycopathologia*, Vol. I, Fasc. 4.
- VUILLEMIN, Paul. — 1931 — *Les champignons parasites et les mycoses de l'homme*. Paris.

NODOSIDADES JUXTA-ARTICULARES DE LUTZ-JEANSELME

JOÃO MONTENEGRO

Biologista chefe do Instituto Adolfo Lutz

As informações precisas, mais remotas, que conhecemos acerca dessa moléstia são as de Adolfo Lutz que, em carta de Honolulu, publicada no Monatsheft für Praktische Dermatologie Vol. 14, pg. 34, de 1892, assim se expressa: "Falando em lepra e sífilis desejo ainda mencionar uma afecção que observei aqui por diversas vezes, tanto nos nativos como entre os estrangeiros; a fotografia anexa (pg. 33) apresenta um caso bem adeantado. Os portadores eram em parte leprosos, outros não atacados de lepra, mas todos eles eram mais ou menos suspeitos de sífilis. Trata-se de tumores localizados sempre nas proximidades de um osso e quasi sempre na região de uma articulação. Sua consistência é tal que faz pensar em "condromas" que se diferenciam das exostoses pelo fato de não se ligarem ao osso por continuidade".

"Esses tumores desaparecem com o tratamento de iodeto de potássio, às vezes completamente, porem, mais frequentemente só retrocedem em grande parte mas não com a rapidez de uma goma comum."

"No caso apresentado na fotografia retirei, depois que cessou o efeito do iodeto de potássio, os restos dos tumores localizados no cotovelo, tendo encontrado tumores de tecido conjuntivo branco, tendinoso, bem ligado ao tecido circumvizinho. O mesmo encontrei no filho do paciente no qual um tumor semelhante se destacou de uma costela após ulceração das partes moles que o recobriam; existia, ao lado disso, um estado caquético com sintomas de sífilis congênita. O pai apresentava um eritema leproso evidente."

"Outros casos nos quais sem dúvida se tratava da mesma afecção apresentavam os tumores nos quadris, na palma da mão, no antebraço e nos dedos; eram geralmente menores e mais recentes." (Tradução de Olinda English Hempel)."

Mais tarde Jeanselme ampliou os estudos sobre esse assunto e divulgou-o, daí a ligação com seu nome.

R. Burnier diz ter sido Bertin, médico francês, que em 1778 e 1786, em São Domingos, notou as relações dessas nodosidades com a sífilis e frambroesia (bouba) e assinalou sua presença na Europa. Todavia não indica onde colheu essas informações e, por isso, delas não podemos fazer juízo.

Para Alfredo da Mota foi Eduardo Rabelo quem publicou o primeiro caso no Brasil, em 1916, e, quasi simultaneamente, A. Borja lançou o segundo. Fernando Terra contribuiu com o 3º em 1919, 4º e 5º em 1920 e, desde então, os casos e autores se multiplicaram.

Em Abril de 1923 nós publicamos, no Brasil Médico, um desses casos de nodosidades juxta-articulares e glosamos a divergência de opiniões acerca de sua etiologia. Naquela paciente, todas as probabilidades falavam em favor da sífilis.

Agora, 18 anos mais tarde, duas novas enfermas nos apareceram no Cons. Cir. Mulheres da Santa Casa, mas em cada uma delas a moléstia apresentava feição um pouco diferente.

Se considerarmos o caso já publicado como o 1º de nossa série seguem-no o 2º e 3º.

CASO II

I. A., mulher preta, robusta, fleugmática, de certo trato, com 53 anos de idade, viuva há onze anos, de hábitos sóbrios e honestos, informa que, há ano e meio notou, acidentalmente, uns nódulos do tamanho de avelãs junto dos cotovelos. Esses nódulos vêm crescendo com certa rapidez e os maiores atingiram as dimensões de nozes.

Teve 3 filhos fortes e um aborto intercalado. Nunca teve moléstia venérea alguma, nem frambroesia (bouba). Leucorréia moderada em tempos idos, ultimamente muito menos. A única moléstia incômoda que tem é um reumatismo que a persegue por 12 anos; ora ataca um membro, ora outro, produzindo dôr e, às vezes, entumecimento nas articulações ou junto delas, mas sem febre e durando menos tempo quando a enferma se abstém de molhar as mãos em água quente ou muito fria. Não tem dores de garganta e há anos que mandou arrancar todos os dentes por estarem cariados. Reação de Wassermann, dez anos atrás, negativa; repetida, antes da extirpação dos nódulos, foi igualmente negativa. Há alguns anos fizeram-lhe uma raqui-anestesia e ela atribue a isso suas dores reumáticas.

Exame da enferma — No antebraço esquerdo há 2 nódulos, cada um do tamanho de uma noz, ao longo da região cubital. Um dos nódulos dista 4 cms. da extremidade do olécrano e o outro está cerca de 2 cms. à jusante do primeiro. São duros, bosselados, não aderem à pele mas sim aos tecidos pro-

fundos. Ao extirpá-los, sob a ação da anestesia local, verificamos que não eram encapsulados e aderiam às aponeuroses musculares no ponto em que elas se fundem com o periósteo.

No lado direito eram quatro os nódulos. Um do tamanho de uma noz, cerca de 3 cms. à montante da extremidade do olécrano, na parte interna da extremidade do braço propriamente dito. Outro do mesmo tamanho ao longo da região cubital, 3 cms. para baixo da extremidade do olécrano. O terceiro, pequenino como uma ervilha, duro, piramidal, cerca de 1,5 cms. além do da região cubital. Finalmente o 4.º, também piramidal, do tamanho de uma ervilha, assestado sobre o dorso do dedo mínimo em cima da 1.ª articulação interfalangeana.

Todos os nódulos de ambos os braços foram extirpados porque a enferma se recusou a submeter-se a um tratamento anti-luético enérgico. Ela disse-nos que já havia tomado depurativos como salsaparrilha, etc. e mostrou-se muito desgostosa à nossa sugestão. Para não perdê-la, atendemo-la.

Exame anátomo-patológico — Instituto Adolfo Lutz C. 1259. Os nódulos têm, todos, o aspecto fibroso: são firmes, acinzentados, de superfícies irregulares e despídos de cápsula. Os maiores são ligeiramente bosselados; cortando-os encontramos lojas quísticas grandes, encerrando líquido seroso, levemente leitoso.

Exame histo-patológico — Nos cortes dos tumores maiores vê-se que eles são formados por um agregado de nódulos mais ou menos bem fundidos e constituídos por tecido fibroso rico em feixes grossos mas pobre em núcleos. Na parte central dos nódulos o tecido fibroso é denso e os núcleos muito escassos; mais para a periferia os feixes vão se adelgaçando, vão se tornando mais fibrilares e o número de núcleos aumenta. Como não há cápsula o agregado de nódulos não é bem delimitado e a fibrose vai se atenuando em direção aos tecidos circunvizinhos até não ser mais perceptível.

Há, geralmente, nos nódulos, focos necróticos. Quando isso se dá na parte central dos tecidos muito densos dos nódulos grandes, formam-se lojas quísticas que encerram material albumino-granuloso e detritos celulares ou de feixes conjuntivos necróticos. O revestimento interno dessas lojas é formado por tecido fibroso mais ou menos alterado, geralmente entumecido e mais claro, com maior ou menor quantidade de células tendendo à regressão para a fase fibroblástica sem, entretanto, conseguirem formar tecido de granulação. A necrose se processa em focos ou faixas e progride por extensão ou pela coalescência dos focos. Ocasionalmente pode-se demonstrar um vaso muito alterado e obliterado no centro dessas áreas.

Quando a necrose se dá em tecido mais frouxo há maior tendência proliferativa, aparecem histiócitos e se esboçam folículos.

A infiltração é, como regra, discreta. Nos tecidos mais frouxos há infiltração linfocitária perivascular, ligeira e, em torno ou nas vizinhanças dos focos necróticos, aparecem linfócitos e raramente alguns polilobados.

Há poucos vasos nas zonas fibrosas mais densas; eles são mais conspícuos na periferia onde a esclerose está se processando; suas paredes são, em geral, espessas mas não há, como regra, endarterite.

Os revestimentos dos nervos que se achavam no território alcançado pela fibrose estavam espessados.

Essa era a estrutura dos nódulos maiores de ambos os lados; o pequeno situado sobre a articulação interfalangeana do dedo mínimo tinha também essa constituição, inclusive várias áreas de necrose.

Mas o nódulo pequeno alojado logo adiante do nódulo grande da região cubital direita embora macroscopicamente idêntico ao do dedo mínimo era de natureza diversa. Em sua periferia havia uma condensação de tecido fibroso à guiza de cápsula que o delimitava com certa precisão. O interior era formado de tecido conjuntivo de pouca densidade, pouco diferenciado, desordenado e muito entremeiado de pequenas áreas alongadas, geralmente vasias ou, às vezes, contendo pigmento granuloso castanho e raramente encerrando um corpo cilíndrico castanho com algumas granulações. Essas áreas alongadas tinham, como revestimento, umas células muito alteradas e irregularmente dispostas, que dificilmente reconhecemos serem células epiteliais; umas formavam fileiras, outras reproduziam sincitio ou davam a impressão de gigantócitos. Duas ou três das áreas maiores encerravam massa amorfa e alguns corpos cilíndricos. Finalmente encontramos um folículo piloso bem constituído que nos assegurou o diagnóstico de quisto dermóide. Como os primeiros cortes que examinamos só tinha um desses corpos cilíndricos (cabelo), lembramos a possibilidade de se tratar de algum parasita, microfilaria por exemplo e agora pensamos se não foi tal achado que já conduziu alguém à hipótese de serem esses tumores produzidos por microfíliarias ou outros parasitas.

CASO III

D. P., mulher branca, solteira, de 18 anos de idade, robusta, bem nutrida, residente em bairro de reputação suspeita, conta que há ano e meio apareceram-lhe dois pequenos nódulos no joelho direito, sendo um sobre a rótula e outro sobre o tubérculo da tíbia. Esses nódulos têm crescido lentamente e atingem o tamanho de ervilhas grandes. Ambos estão cobertos por papula achatada e levemente escamosa. O da rótula é contínuo com a papula mas o da tubérculo da tíbia só adere aos tecidos profundos e não à pele.

A enferma diz ter tido framboesia (boubá) mas aparentemente ela a confunde com sífilis, pois não teve as lesões peri-orais e nasais. Reação de Wassermann positiva (++) .

Ambos os nódulos foram extirpados.

Exame anátomo-patológico — Instituto Adolfo Lutz, C. 1315. O nódulo que jazia fundo sobre a espinha da tíbia, histomorfologicamente, em nada diferia dos grandes da observação precedente. No da rótula só faltavam as áreas de necrose.

A pesquisa de espiroquetas nos cortes corados pelo Levaditi-Jahnel foi negativa nos dois casos pesquisados II e III.

Nestes dois últimos casos o aspecto histomorfológico das lesões se enquadrava, de um modo geral, na síntese de Jeanselme: uma área necrótica mais ou menos bem circundada por uma zona de tecido fibroso denso e, em continuação com estas, outra zona de tecido

fibroso menos denso, ligeiramente infiltrado por linfócitos. A infiltração linfocitária era um pouco mais acentuada em torno dos vasos. No primeiro, entretanto, não encontramos área necrótica alguma, menos ainda formações quísticas. Quanto à ausência de necrose, é possível que nossos cortes não as atingissem, mas estranhamos que, em tumores relativamente grandes como eram, não as tivéssemos surpreendido, porque, eles têm, em geral muitos focos necróticos; e até os pequenos tumores os ostentam.

Lutz já havia assinalado que essas lesões, embora cedessem ao tratamento pelo iodeto de sódio não o faziam com a mesma rapidez da goma comum e que muitas delas regrediam só até certo ponto. Póvoa acentua que se a lesão é de origem sífilítica não é a lesão terciária típica.

A designação de Nodosidades Juxta-articulares é eminentemente clínica e tem por protótipo os casos com lesões bi-laterais bem desenvolvidas nas vizinhanças dos cotovelos. Não exclue todavia as lesões assimétricas e as das vizinhanças das outras articulações. Mas, devemos jungi-las ao quadro histo-patológico assinalado por Lutz e precisado por Jeanselme. Naturalmente, qualquer blastoma ou outra moléstia inflamatória crônica pode se assestar nas mesmas regiões pelas quais a moléstia de Lutz-Jeanselme tem predileção, podem mesmo coexistir, como no nosso segundo caso, mas devem ser consideradas entidades diferentes e à parte. O diagnóstico exato repousa, portanto, no conjunto clínico e anátomo-patológico.

Estabelecido esse critério podemos afirmar que as Nodosidades Juxta-articulares de Lutz-Jeanselme são produzidas por uma espiroquetose e, muito provavelmente, pelo treponema pálido. Falam em favor dessa hipótese a alta frequência de estígmata luéticos dos enfermos, a ocorrência de infecções venéreas, a alta porcentagem de reações de Wassermann positivas e o ótimo resultado obtido pelo tratamento contra a sífilis. Acresce que espiroquetas de impossível identidade têm sido encontradas nos tecidos corados pelo método de Levaditi, por Van Dyke e Oudendal, Van Loon (citados por Burnier), Takasaki e Ikegami, Araniski e Bulvachter. Clapier e Van Hoof (citados por Burnier) encontraram espiroquetas nas partes liquefeitas dessas lesões. Além disso Jessner (citado por Burnier) diz ter reproduzido, na segunda passagem em coelho, um cancro luético, enquanto Chuan-Kuei-Hu e Frazier obtiveram-no na primeira passagem.

Os nódulos não são gomas típicas mas podem ser o modo de se manifestar de uma lesão luética mais tórpida e por isso menos

exsudativa e mais hiperplástica. Em alguns enfermos a reação de Wassermann é negativa, fato concebível, porque, se nada é absoluto, esse deve ser o tipo de caso de sífilis em que essa reação poderia falhar justamente por ser uma manifestação tórpida da moléstia. Todavia esses dois fatos nos põem de sobreaviso e deixam o campo aberto para se prosseguir nas pesquisas.

RESUMO E CONCLUSÕES

Ao caso de Nodosidades Juxta-articulares que publicamos em 1923 juntamos mais dois.

No primeiro a reação de Wassermann era positiva, a fibrose nodular, mas sem necrose e as lesões desapareceram com o tratamento anti-luético (Bismuto). No segundo a R. W. foi negativa, duas vezes, havia fibrose nodular com necrose e formações quísticas, sem revestimento epitelial ou endotelial, e um pequeno tumor dermóide concomitante. O terceiro teve R. W. positiva, fibrose nodular e necrose idêntica à do segundo.

Acentuamos a necessidade de se adotar o conceito anátomo-patológico de Lutz-Jeanselme para excluir outras entidades que igualmente possam se localizar nas proximidades das articulações, quer só ou concomitantemente, como sucedeu em nosso segundo caso. Com esse critério podemos afirmar que as Nodosidades de Lutz-Jeanselme são de origem infecciosa e muito provavelmente luética.

RESUME AND CONCLUSIONS

Two new cases of the Juxta-articular Nodosities of Lutz-Jeanselme are presented.

In the first case, published in 1923 the Wassermann reaction was positive, there was nodular fibrosis but no necrosis was seen and the lesions disappeared under the antisymphilitic treatment (Bismuth). In the second case the Wassermann reaction was twice negative, there was nodular fibrosis with necrosis and cystic formation but without epithelial lining; there was also a small, concomitant, dermoid tumor. In the third case the Wassermann reaction was positive, the fibrosis was nodular with necrosis identical to that of the second case, but without cystic formation.

We layed stress on the necessity to adopt the Lutz-Jeanselme anatomo-pathological conception of the disease in order to exclude

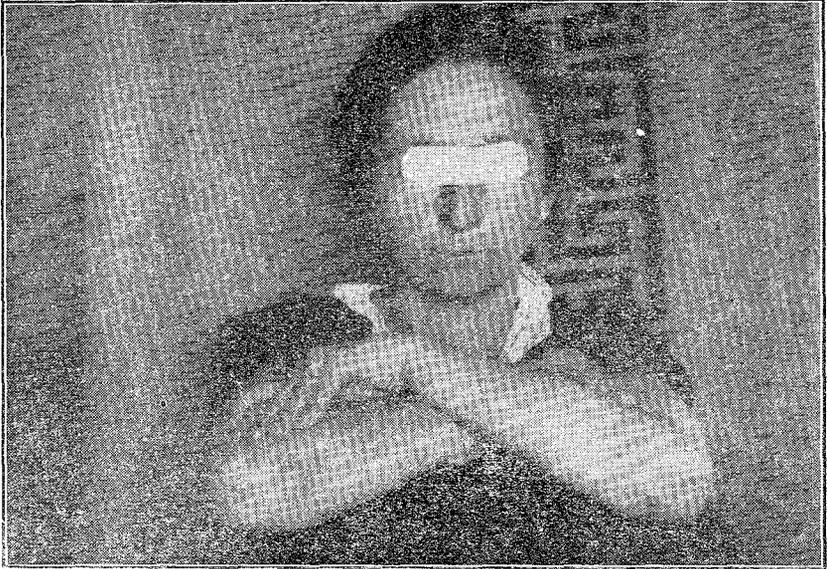
other morbid conditions which might occur in the neighbourhood of the joints, either alone or concomittantly as happened in our second case. Based on such criteria we can say that the Juxta-articular Nodosities of Lutz-Jeansselme type are of infectious origin and very likely of luetic nature.

BIBLIOGRAFIA

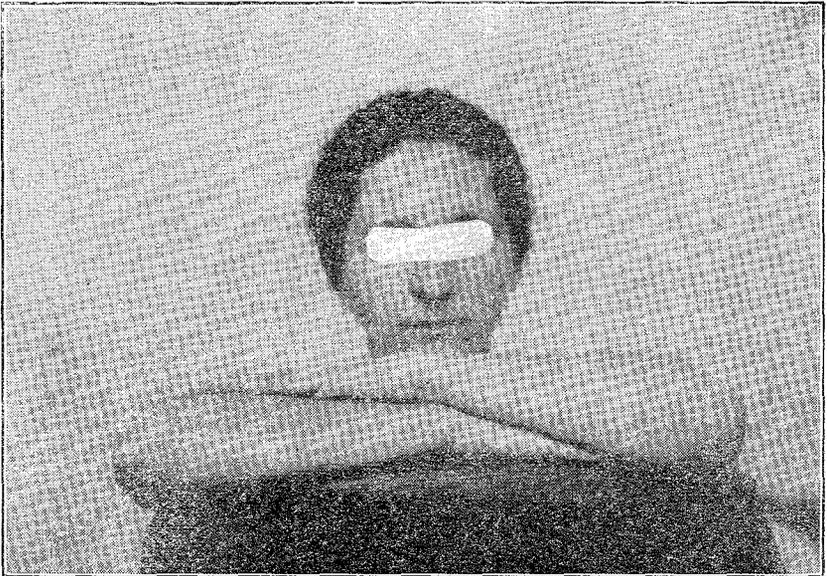
- AGUIAR, V. — 1920 — *Gazeta Clínica de S. Paulo*, Ano 18, p. 106.
- ARAÚJO, O. S. — 1929 — *Semana Dermatológica de S. Paulo*.
- ARAWISKI N BULVACHTER — 1931 — *Soviet viestnik dermat.*, Vol. 9, Março, p. 241, citado por Burnier.
- BENCHINOL, B. — 1938 — *Rev. Med. Cîr. Bras. Nov.*, p. 1106.
- BRUMPT, E. — *Précis de Parasitologie*.
- BURNIER, R. — 1933 — *Presse Med.*, N.º 49, 22 Junho, p. 995.
- CAVALCANTI, A. — 1925 — *Arch. do Hosp. Marinha*, Julho.
- CHUAN-KUEI-HU & FRAZIER — 1933 — *Res em Ann. Dermt. Syphil.*, p. 979, citado por P. Oliveira.
- GOUGEROT, BURNIER & ELIASCHEFF — 1930 — *Arch. Dermat. et Syphil.*, p. 691.
- JEANSELME & RIST — 1909 — *Précis de Pathol. Exotique*.
- LATERZA, C. N. — 1930 — *Gazeta Clínica de S. Paulo*, Fev.
- LUTZ, Adolfo — 1892 — *Monatsheft für Praktische Dermatologie*, vol. 14, p. 34.
- MATA, A. — 1921 — *Brasil Med.*, Ano 35, Vol. 2, p. 26.
- MOTA, J. — 1929 — *Semana Dermatológica de S. Paulo*.
- MONTENEGRO, João — 1923 — *Brasil Méd.*, 28 Abril, p. 233.
- OLIVEIRA, P. — 1938 — *Brasil Méd.*, Out., p. 943.
- OLIVEIRA, J. E. — 1923 — *Tése, Baía*.
- PEYROT, J. & DE BOISSEZON — 1933 — *Ann. Dermat. et Syphil.*, p. 538.
- PISACANE — 1937 — *Arch. Zital. Dermat. Syphil. e Venereologia*, Vol. 13, Abril, p. 308.
- PÓVOA H. — 1930 — *São Paulo Médico*, Out.-Nov., p. 297.
- PINTO, Cezar — 1924 — *Ciência Médica de S. Paulo*, N.º 12.
- SILVA, Floriano — 1922 — *Tése, Baía*.
- TAKAZAKI & IKEGAMI — Citado por P. Oliveira.
- TERRA, Fernando — 1920 — *Arch. Mineiros de Dermat. e Syphil.*, Ano II, N.º 4, Junho.
- ZILHERGER, B. — 1938 — *Anais Bras. Dermat. Sifilografia*, Set., p. 29.

Caso I

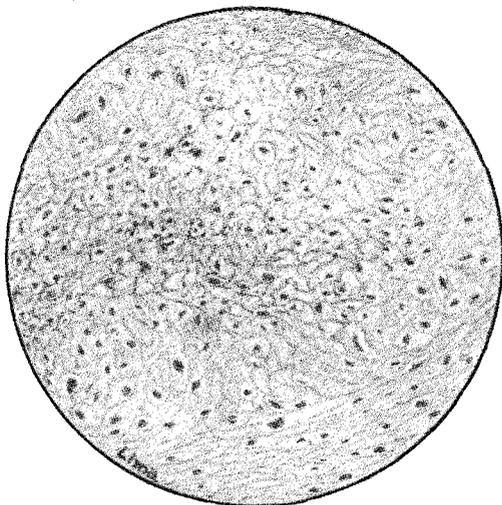
Publicado em 28 de Abril de 1923



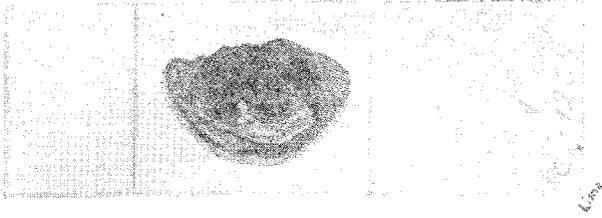
A — Antes do tratamento



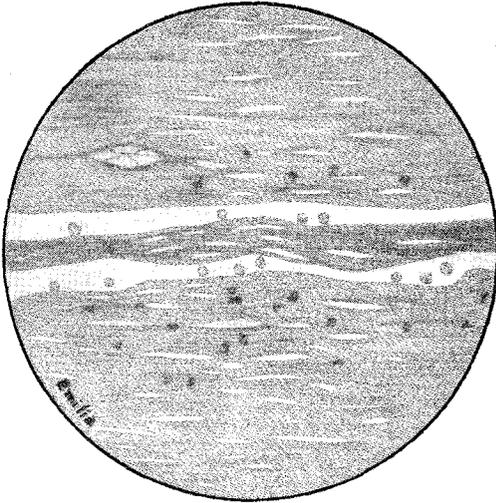
B -- Depois da biópsia e tratamento pelo bismuto



Esboço de folículo do nódulo do antebraço de I. A.



Um dos nódulos do antebraço de I. A. Corte histo-patológico sem ampliação. Note-se a loja quística grande.



Corte histo-patológico do nódulo do joelho de D. P. Note-se necrose linear sem reação flogística das paredes fibrosas.

TEORES DE ACIDEZ EM FARINHAS

MÁRIO SAMPAIO MELO

Químico do Instituto Adolfo Lutz

Constituindo a determinação dos teores de acidez em farinhas um fator preponderante e quasi decisivo para sua rápida e sumária classificação e surgindo ultimamente dúvidas quanto ao melhor modo de representar ditas determinações, resolvemos em sucinta e modesta explanação dizer alguma cousa sobre tão simples quão delicado problema.

Estabelecendo a atual Legislação Estadual sobre gêneros alimentícios no seu capítulo sobre farinhas, teores máximos e eliminatórios de acidez total para ditos produtos, limites esses sempre expressos em cm^3 de soluto alcalino normal por 100 grs., de farinha, aliás como fazem quasi todas as legislações do mundo, e como recomendam e preceituam todos os autores que tratam do assunto e estabelecendo ainda o Serviço Federal de Fiscalização do Comércio de Farinhas, limites para ditos produtos, também expressos do modo acima citado, pretendem agora interessados no assunto conseguir uma inovação incabível e errada, como seja a substituição total e completa das determinações de acidez total nas farinhas por uma outra representação, a da acidez potencial, representação mais moderna, mais bonita e aparatosa, mas pouco expressiva, pouco significativa e de nenhum valor para o caso em apreço.

Vamos, pois, como é hábito dizer-se, procurar por as cousas nos seus devidos e acertados lugares, colocando na sua real significação as determinações de acidez total nas farinhas como dados insubstituíveis e convencionais e nos seus devidos limites as determinações dos teores em acidez iônica, sem nenhuma representação clara, sem nenhum valor prático e lógico para o caso que estamos tratando.

A dosagem de acidez total nas farinhas, apesar de constituir uma simples operação titrimétrica, deve antes de tudo ter sua técnica unificada, definida e adotada por todos os analistas de farinhas, afim de serem desse modo obtidas possibilidades de se

compararem os resultados encontrados, tirando-se então dos mesmos conclusões mais concretas e mais acertadas.

Atualmente são vários os métodos adotados pelos diversos analistas que se dedicam a esse mister. Cada laboratório, cada legislação, cada autor, cada analista, adota e segue um determinado método, sempre diverso, sempre diferente, sempre divergindo em pormenores e causando com esta variedade de detalhes técnicos, um sem número de resultados divergentes e, às vezes, disparatados.

Vejam os primeiramente o que dizem os tratadistas especializados no assunto: Issoglic, na sua obra "La Chimica degli Alimenti" diz textualmente — "Tendo em vista serem seguidos diversos métodos para o ensaio quantitativo da acidez nas farinhas, é necessário, ao se darem os resultados analíticos de ditas determinações, fazer-se menção do método seguido e adotado". Esse autor, como técnica analítica dessa determinação, manda introduzir 4 grs. de farinha num cilindro de vidro com tampa esmerilhada, com 100 cms³ de álcool a 50% (volumes iguais de álcool a 96° e água destilada), notando que esse álcool usado deve ser previamente neutralizado. Agitar bem o conteúdo colocando o cilindro inclinado de modo a pôr o álcool em contacto com a maior superfície possível da farinha. Depois de 6 horas, filtrar em filtro seco e, sobre 50 cms³ de filtrado, determinar a acidez com solução alcalina decinormal, empregando como indicador solução alcoólica de fenolftaleína. O número de cms³ de solução alcalina correspondente para neutralização de 100 grs. de farinha no estado seco exprimirão o grau de acidez da farinha. Outro grande tratadista especializado, Vitorio Villavecchia, no capítulo sobre farinhas de seu "Tratado de Chimica Analitica Applicata", diz o seguinte: — "A percentagem de acidez constitue um índice de envelhecimento de uma farinha, fornecendo juntamente com os teores de cinza, caracteres organoléticos externos e gluten (no caso dos trigos), o melhor meio para um juízo perfeito sobre o produto. Frisa, ainda, que a acidez das farinhas é determinada por diversos e variados métodos, usando-se como solvente, tanto o álcool como a água destilada. O álcool é no entretanto preferível, diz textualmente o autor, e, acrescenta: "os resultados, no entretanto, dessa determinação, só poderão ser confrontados quando obtidos pelo mesmo processo". Neste caso, ao se expressarem os dados relativos à acidez, é necessário indicar sempre o método seguido e como essa acidez é expressa, se em soluto normal, se em ácido sulfúrico, se em ácido láctico, etc.. A técnica indicada por dito autor resume-se em introduzir 5 grs.

de farinha num cilindro de vidro com tampa esmerilhada, juntamente com 25 cms³ de álcool a 90° neutralizado exatamente com soda N/20; fechar o cilindro, agitar o conteúdo algumas vezes durante o dia, deixando-se em repouso durante a noite. Na manhã seguinte, pipetar 10 cms³ do líquido límpido sobrenadante e, sobre essa tomada de ensaio, proceder a titulação com soda N/20, usando como indicador a fenolftaleína ou a tintura de cúrcuma. A acidez é expressa em ácido sulfúrico, em ácido láctico ou ainda em cms³ de soda gasta na titulação de 100 grs. de farinha. Tal número chamar-se-á grau de acidez.

Dada a opinião desses dois abalisados mestres, vamos passar de relance sobre dois métodos adotados por Laboratórios estrangeiros, escolhidos a esmo dentre o grande número dos então existentes. O antigo Laboratório de Paris sempre adotou o método preconizado por M. Balland, que consistia em introduzir 5 grs. de farinha num frasco de boca larga, com tampa esmerilhada, juntar 25 cms³ de álcool a 85°; agitar algumas vezes deixando em repouso durante uma noite, até o dia seguinte. Extrair com o auxílio de uma pipeta 10cc. do líquido sobrenadante, tendo-se o cuidado de não o misturar, porque a introdução de matéria em suspensão iria prejudicar a exatidão dos resultados, e titular com uma solução de soda normal diluída a 1/20, até a persistência da coloração vermelha pardacenta da tintura de cúrcuma, usada como indicador. Este método foi depois modificado por A. Villiers, Eug. Collin e M. Fayolle que mandavam seguir a mesma técnica usando álcool a 95° e procedendo a titulação da acidez numa determinada porção do álcool previamente filtrado e usando-se como indicador a fenolftaleína.

O Regulamento de Higiene da cidade de Turim preceitua a seguinte técnica: 20 grs. de farinha são banhadas num erlenmeyer de 300 cms³, com 200 cms³ de álcool absoluto. Depois juntam-se 183 cms³ de água e agita-se repetidamente. Depois de 12 horas, filtra-se tomando-se 100 cms³ do filtrado que, adicionados de fenolftaleína, são titulados com soda decinormal.

Dados em resumo esses exemplos de técnicas adotadas por laboratórios estrangeiros e cuja finalidade foi apenas mostrar a sua diversidade, vamos agora apurar alguns métodos oficiais adotados por alguns dos nossos laboratórios.

O método estipulado e adotado oficialmente pelo Serviço Federal de Fiscalização do Comércio de Farinhas é o seguinte: a

acidez é determinada em suspensão de farinha a 10% (o método não especifica se em álcool ou em água). O conteúdo é agitado por duas horas, filtrado e titulado com soluto decinormal de soda ou potassa. O resultado é expresso em cms.³ de soluto N/1, por 100 grs. de farinha. Dito Serviço federal adota ainda tabelas especiais que classificam as farinhas por pontos, conforme seus teores de acidez, sendo os limites dessas tabelas variados conforme sejam os produtos examinados.

O método seguido pelo I. P. T. (Instituto de Pesquisas Tecnológicas) limita-se á tomar 10 grs. de farinha em vidro esmerilhado com 100 cms.³ de água destilada. Agitar durante duas horas, findas as quais centrifugar a suspensão de farinha; e, no líquido centrifugado, sem filtrar, determinar a acidez com solução alcalina N/10, empregando-se como indicador a fenolftaleína e expressando dita acidez em soluto N por cem grs. de farinha.

A marcha analítica por nós sempre adotada no decurso de múltiplos anos em que analisamos farinhas é a seguinte: Introduzir duas gramas de farinha num frasco de vidro nêtro esmerilhado juntamente com 100 cms.³ de álcool a 95°, puro e nêtro. Agitar o conteúdo do frasco algumas vezes, deixando por fim em repouso durante 24 horas, após as quais filtrar o conteúdo em filtro seco e tomar 50 cc. de líquido filtrado, correspondente a 1 gr. de farinha, e, neles, determinar a acidez titulando com solução alcalina N/100, usando como indicador solução alcoólica nêtra de fenolftaleína a 0,5%. A acidez é expressa em cms.³ de Soluto alcalino Normal por cem grs. de farinha e expressa também em grs. % de ácido sulfúrico monohidratado.

Com esta sucinta série de marchas técnicas diferentemente seguidas, podemos avaliar as dificuldades ou mesmo a impossibilidade de se compararem os teores de acidez com eles obtidos num mesmo produto. Como prova frisante de que para se dosar a acidez numa farinha não é indiferente empregar-se este ou aquele método, temos os estudos feitos por M. Marion e por nós amplamente observadas em inúmeras experimentações. Dosando-se a acidez total de uma farinha, empregando como líquido extrator o álcool absoluto, o álcool a 95° ou ainda a 70°, iremos obter três resultados diversos; usando água destilada em substituição ao álcool, obteremos para a mesma farinha outro resultado diverso dos 3 primeiros. Titulando-se a acidez dessa mesma farinha, sem previamente separá-la por filtração do líquido extrator, água o álcool, os resultados serão ainda mais diversos e disparatados. Os teores serão sensivelmente

mais elevados nas determinações procedidas sem a prévia filtração, ao passo que as determinações procedidas nos líquidos separados por filtração das substâncias sólidas, serão bem mais baixos e acertados.

Segue-se um quadro comparativo comprovante dessas asserções e no qual figuram teores de acidez obtidos num mesmo tipo de farinha diferentemente tratada durante 6 horas de contacto e calculadas em ácido sulfúrico monohidratado:

Amostra	c/ álcool absoluto		c' álcool a 95°		c/ álcool a 70°		c/ água destilada	
	filtr.	s/ filtr.	filtr.	s/ filtr.	filtr.	s/ filtr.	filtr.	s/ filtr.
1	0,093	0,451	0,093	0,430	0,137	0,367	0,181	0,455
2	0,073	0,352	0,078	0,367	0,088	0,338	0,098	0,392
3	0,098	0,396	0,098	0,431	0,107	0,401	0,181	0,455
4	0,088	0,320	0,090	0,333	0,098	0,367	0,161	0,392
5	0,023	0,355	0,028	0,431	0,070	0,402	0,066	0,173
6	0,088	0,327	0,088	0,328	0,098	0,372	0,166	0,421

Vemos desse modo ser indispensavel adotar-se um processo único e convencional que, uma vez aceito e adotado por todos os analistas, traga a possibilidade de se ajuizarem melhor os resultados obtidos. Nós devíamos dar um passo decisivo, já; que estamos unificando e padronizando nossos métodos de análise — adotarmos também métodos unificados e convencionais para todas as determinações referentes a gêneros alimentícios nos moldes do existente na França e posto em vigor pelo Decreto do Governo Francês, datado de 19 de Março de 1932, que promulgou a convenção internacional para unificação dos resultados analíticos das substâncias destinadas à alimentação do homem. Nesta convenção ficou estabelecido, para o caso da acidez, o seguinte: “Qualquer que seja a natureza dos ácidos (fixos ou voláteis, livres ou parcialmente combinados) a acidez deve ser expressa pelo n.º de cms³ de solução normal, décimo ou centésimo, correspondente a 100 grs. de substância ou a um litro de líquido, empregando a notação N/1, N/10, N/100. Simultaneamente, os resultados podem ser dados em gramas de ácido acético, ácido tartárico, ácido málico, etc., segundo a natureza do produto, ou, arbitrariamente, qualquer outra forma. Além disso o nome do método empregado, assim como o indicador devem ser mencionados. Será conveniente que a concentração em ions H (expressão da reação verdadeira do meio) seja igualmente expressa, *quando isso seja possível*”.

Termina desse modo a referência sobre acidez contida nesta convenção citada que, uma vez por nós conseguida, teríamos garantido uma grande conquista para a clareza de todas as determinações analíticas referentes a gêneros alimentícios.

As causas determinantes de acidez das farinhas são várias. As farinhas geralmente, já ao saírem dos cilindros moedores, se apresentam com a reação ácida. Essa acidez varia de acordo com a matéria prima, sementes, rizomas, tubérculos, caules, etc., donde provenham as farinhas, varia conforme sejam os tipos de farinha obtidos, conforme sejam seus métodos de extração e, principalmente, de conservação. Os teores de acidez das farinhas cresce gradativamente à medida que a mesma envelhece. A rapidez com que se processa esta alteração depende grandemente da consituição centesimal do produto, do seu grau de hidratação, de suas condições de acondicionamento, e, ainda mais, do grau higrométrico do meio onde forem conservadas. Concorrem grandemente com adjuvantes para o aceleramento dessa alteração, as moagens defeituosas e a utilização de sementes impróprias e avariadas por humidade, parasitas ou vegetações criptogâmicas.

A este conjunto de fatores importantíssimos se agrega mais um, primordial e intrínseco, o seu teor oleoso que, funcionando como que uma espécie de agente catalítico, age como principal iniciador da acidez nas farinhas. Quanto maior fôr este teor, maior será a vulnerabilidade do produto, maiores serão as possibilidades de aumento rápido de acidez e sua consequente depreciação.

Os grandes mestres no assunto como Fleurent, M. Wagner, Roeser, Balland e Manget, estudaram e estabeleceram que a acidez nas farinhas não é ocasionada inicialmente por transformações microbianas provocadas por alterações de teores protéicos contidos nas farinhas, e sim que essa acidez se inicia e provem diretamente dos teores oleosos contidos em sua composição. Desse modo, concluem ditos autores, quanto maiores forem os teores de lipídios numa farinha, maiores serão as possibilidades de sua rápida alteração.

Como prova insofismavel dessas afirmações podemos apresentar o exemplo típico da farinha de trigo que, como geralmente todas as outras farinhas, já ao saírem dos cilindros moedores se apresentam, como tivemos ocasião de dizer, reação ácida, variando esse teor em acidez conforme seja o tipo de farinha obtido, conforme seja seu método e sua taxa de extração. As farinhas de 1.^a são geralmente menos ácidas que as de 2.^a e estas, por sua vez, mais nêutras que as

de 3a.; em resumo, a acidez é mais branda nos produtos mais apurados, mais claros e mais finos, sendo mais acentuada nos produtos menos apurados, isto é, nas farinhas consideradas secundárias e contendo, em sua composição centesimal, partículas componentes dos envoltórios externos dos grãos donde provenham. Nas farinhas com taxas de extração maiores, como sejam as farinhas integrais, os teores de acidez se acentuam mais, sendo porem nas farinhas dos germes embrionários do trigo que vamos encontrar o maior teor inicial de acidez. Os experimentadores Hugo Kùhl e D. Klieforth fizeram recentemente uma série de observações, submetendo porções d'um mesmo tipo de farinha de trigo a um armazenamento durante 6 meses, em sacos perfeitamente fechados e em forma de cilindros comprimidos sob formidável pressão. Em algumas dessas porções, de farinhas eles juntaram cerca de 3% de germes de trigo tanto naturais como desengordurados. Como conclusão, observaram que as qualidades conservadoras das farinhas eram influenciadas pelos seus teores em gordura. Nas amostras onde foi feita a adição dos germes em natureza as farinhas tinham um deterioramento acelerado ao passo que nas amostras contendo teores de germes previamente desengordurados, nenhuma influência aceleradora de acidez foi observada. Os teores máximos de acidez em farinhas de trigo eram, até alguns anos atrás, limitados pela nossa lei, em 1 cc.³ de soluto Normal por cem grs. de farinha, mas, atendendo ao sistema de lavagem prévia dos grãos de trigo antes da moagem, o que constatamos pessalmente nos moinhos, e colhendo amostras do produto nas suas diversas fases, verificamos que este tratamento prévio de limpeza dos grãos de trigo melhorava sensivelmente o produto mas acarretava um aumento inevitável de acidez que iria se refletir nas farinhas produzidas. Resolvemos, então, depois de acurado estudo, elevar o teor de acidez nas farinhas de trigo para o máximo de 2cc.³ de soluto alcalino Normal por cem grs. de produto.

Segue-se um quadro comparativo de diversos tipos de farinhas de trigo com seus teores centesimais de acidez e óleo.

de 3a.; em resumo, a acidez é mais branda nos produtos mais apurados, mais claros e mais finos, sendo mais acentuada nos produtos menos apurados, isto é, nas farinhas consideradas secundárias e contendo, em sua composição centesimal, partículas componentes dos envoltórios externos dos grãos donde provenham. Nas farinhas com taxas de extração maiores, como sejam as farinhas integrais, os teores de acidez se acentuam mais, sendo porem nas farinhas dos germes embrionários do trigo que vamos encontrar o maior teor inicial de acidez. Os experimentadores Hugo Kuhl e D. Klieforth fizeram recentemente uma série de observações, submetendo porções d'um mesmo tipo de farinha de trigo a um armazenamento durante 6 meses, em sacos perfeitamente fechados e em forma de cilindros comprimidos sob formidável pressão. Em algumas dessas porções, de farinhas eles juntaram cerca de 3% de germes de trigo tanto naturais como desengordurados. Como conclusão, observaram que as qualidades conservadoras das farinhas eram influenciadas pelos seus teores em gordura. Nas amostras onde foi feita a adição dos germes em natureza as farinhas tinham um deterioramento acelerado ao passo que nas amostras contendo teores de germes previamente desengordurados, nenhuma influência aceleradora de acidez foi observada. Os teores máximos de acidez em farinhas de trigo eram, até alguns anos atrás, limitados pela nossa lei, em 1 cc.³ de soluto Normal por cem grs. de farinha, mas, atendendo ao sistema de lavagem prévia dos grãos de trigo antes da moagem, o que constatamos pessalmente nos moinhos, e colhendo amostras do produto nas suas diversas fases, verificamos que este tratamento prévio de limpeza dos grãos de trigo melhorava sensivelmente o produto mas acarretava um aumento inevitável de acidez que iria se refletir nas farinhas produzidas. Resolvemos, então, depois de acurado estudo, elevar o teor de acidez nas farinhas de trigo para o máximo de 2cc.³ de soluto alcalino Normal por cem grs. de produto.

Segue-se um quadro comparativo de diversos tipos de farinhas de trigo com seus teores centesimais de acidez e óleo.

1.a			2.ª			3.a			integral		
Acidez		Ólio %	Acidez		Ólio %	Acidez		Ólio %	Acidez		Ólio %
Sol. N.	H ² SO ⁴		Sol. N.	H ² SO ⁴		Sol. N.	H ² SO ⁴		Sol. N.	H ² SO ⁴	
1.4	0.0686	0.65	1.8	0.0882	2	2.6	0.1274	2.2	4.0	0.1960	5.2
1.3	0.0637	0.86	1.8	0.0882	1.5	2.6	0.1274	2.4	4.0	0.1960	3.4
2.0	0.0980	1.1	2.0	0.098	1.8	2.4	0.1176	1.8	3.8	0.1862	3.8
1.5	0.0735	0.91	1.9	0.0931	1.8	2.2	0.078	1.8	2.8	0.1372	2.6
1.4	0.0686	0.94	2.0	0.0980	2.0	2.5	0.1225	2.2	3.6	0.1764	3.1
1.9	0.0931	1.2	2.2	0.1078	2.0	2.4	0.1176	2.3	4.0	0.1960	4.0
1.6	0.0784	0.95	2.2	0.1078	2.8	2.4	0.1176	2.3	4.2	0.2058	5.1
1.5	0.0735	0.96	2.3	0.1127	1.9	2.8	0.1372	2.5	3.8	0.1862	3.9
1.6	0.0931	0.93	2.0	0.0980	2.4	2.1	0.1029	2.3	4.1	0.2009	3.8

Alem do trigo temos outros exemplos tipos para confirmar esta asserção: os âmidos e féculas que, sendo completamente desprovidos de matéria gordurosa, apresentam um teor mínimo de acidez e grandes possibilidades de conservação. Como complemento desses tipos de produtos e como reverso de medalha temos o exemplo dos produtos oriundos da moagem dos grãos de milho: os fubás integrais e os fubás desgerminados.

Na moagem dos grãos de milho há dois tipos principais, de produtos: — os obtidos pelo processo antigo, no qual as sementes são moidas integralmente a seco, e o mais moderno no qual os grãos de milho são submetidos a um prévio humedecimento para eliminação dos germes embrionários. No sistema de moagem primitivo os germes do milho ficam incluídos nos fubás então obtidos, tornando-os mais nutritivos, mas quer esses produtos se apresentem sob a forma de sêmolos quer sob a forma de fubás finos, têm sua conservação comprometida pelo seu elevado teor em óleo de muito facil alteração. O teor máximo de acidez tolerado para esses tipos de produtos, é de 5 cc.³ de Solutio normal para cada 100 grs. O mesmo produto provindo de grãos previamente desgerminados, já apresenta teores de acidez bem mais baixos, em vista de seu reduzido teor em óleo. Este tipo de produto até bem pouco tempo usado obrigatoriamente como componente das farinhas mixtas destinadas à panificação, tem como limites máximos, 1,8% de óleo e 2,5 cc.³ de solutio normal, para a acidez.

FUBÁS INTEGRAIS

Amostra n.	Caracteres organoléticos			Acidez			Olio grs. %
	aspécto	côr	cheiro	Sol. N. cc. %	pH	H ² SO ⁴ grs. %	
298	Pó grosso	amarela	próprio	4.3	6.2	0.2107	7.87
309	» »	»	»	4.8	6.0	0.2352	3.68
357	» »	»	»	7.0	6.2	0.3430	3.86
359	» »	»	»	3.3	6.6	0.1617	2.34
2109	» fino	»	»	3.0	6.0	0.1470	2.13
420	» grosso	creme	»	3.0	6.3	0.1470	7.87
2134	» »	»	»	4.5	6.0	0.2205	3.25
2135	» »	amarelo	»	8.1	6.2	0.3969	3.02
2171	» »	»	»	6.5	5.8	0.3185	2.54

FUBÁS DESGERMINADOS

Amostra n.	Caracteres organoléticos			Acidez			Olio grs. %
	aspécto	côr	cheiro	Sol. N. cc. %	pH	H ² SO ⁴ grs. %	
299	Pó grosso	amarela	próprio	2.6	6.0	0.1274	1.98
310	» »	»	»	2.7	6.0	0.1323	0.56
410	» fino	»	»	4.0	5.7	0.1960	1.99
411	» grosso	creme	»	2.5	5.8	0.1225	1.504
412	» »	amarela	»	2.9	6.3	0.1420	1.900
424	» fino	branca	»	2.7	6.0	0.1323	0.716
435	» »	creme	»	3.2	6.3	0.1560	0.924
436	» grosso	amarela	»	2.8	5.9	0.1372	0.940
437	» »	»	»	2.2	6.0	0.1078	1.032
442	» »	»	»	2.7	6.1	0.1323	1.360

Temos ainda os frisantes exemplos de mais algumas farinhas integrais, como as de arroz, centeio, aveia e soja. Todos esses tipos de farinhas, tendo teores mais elevados em óleo, têm acidez mais elevada e, por consequência, maiores dificuldades em conservação. No caso das nossas farinhas de centeio o aumento de acidez é provocado pelo teor oleoso e facilitado pelo seu grosseiro e antiquado sistema de confecção. Os estados sulinos de Paraná e Santa Catarina sempre foram os nossos principais fornecedores desse tipo de produto. No entretanto, quasi todas as partidas das quais obtinhamos amostras eram consideradas impróprias para o consumo em vista de sua acidez elevada, seu mau estado de conservação, geralmente

atacadas por parasitas e contendo sensíveis teores de matéria mineral. Essa série de imperfeições era quasi toda originada pelo mau sistema de obtenção do produto. A maioria dos moinhos então existentes eram ainda antiquados e rudimentares, providos com pedras mós já bem gastas e corroidas, instaladas em solos nús, onde eram grosseiramente produzidas e acondicionadas as farinhas. Hoje, porém, em vista da grande série de condenações havidas, ditos moinhos já se vão transformando, as pedras mós já foram em grande parte substituídas e as instalações modernizadas, trazendo como resultado um grande melhoramento no produto. As farinhas de centeio, muito empregadas em panificação têm limites máximos tolerados de humidade e resíduos minerais fixos e limites mínimos de substâncias amiláceas e protídios, afim de controlar e impedir que nos mandem e seja utilizado apenas o farelo de centeio, como era hábito. O teor de acidez de dito produto escapou de figurar na legislação vigente, no entretanto sempre foi adotado para tal farinha o mesmo critério aplicado para as farinhas integrais admitindo uma acidez máxima de 5 cc.³ de soluto normal para 100 grs. de produto.

As farinhas de aveia, já mais aperfeiçoadas no seu modo de confecção, têm, no entretanto, dificuldades de conservação devido seu elevado teor em lipídios, que lhes acarreta facilidades de alteração. As aveias, fazendo exceção a todas as outras sementes, têm suas reservas de óleo, não residindo apenas na parte germinativa das sementes, como acontece na grande maioria das outras sementes, mas sim tem esse óleo espalhado em toda a integridade do grão. Essas sementes ou farinhas, conforme sejam as condições de sua armazenagem ou acondicionamento, se transformam rapidamente, produzindo sensível elevação dos teores de acidez total. Fizemos há bem pouco tempo uma série de experiências com grãos de aveia, submetidos a diversos tratamentos e em diversas fases, até chegar aos variados tipos de farinhos e concluimos que esta vulnerabilidade do produto era quasi que exclusivamente devido à rancificação de seu óleo componente, rancificação essa prematuramente iniciada no armazenamento das sementes e aumentada quando transformadas ditas sementes em farinhas. Os teores máximos de acidez, para esse tipo de produto são fixados em 5cc.³ de soluto normal para 100 grs. de farinha.

Temos ainda, para finalizar, um exemplo frisante que nos é dado pela farinha de soja, produto valiosíssimo pela sua riqueza em princípios nutritivos, produto infelizmente menos difundido entre nós por apresentar ainda dificuldades de larga produção e armazena-

gem, devido ao seu elevadíssimo teor de óleo que vai de 20 a 30% e de proteínas que vai de 30 a 40%. Os teores de acidez neste tipo de farinha são bem elevados e aumentam gradativamente conforme os teores de matéria oleosa e idade do produto.

Segue-se um quadro com dados comparativos por nós obtidos em farinhas de arroz, centio, aveia e soja.

ARROZ			CENTEIO			AVEIA			SOJA		
Acidez %		Oleo									
Sol. N.	H ² SO ⁴	%	Sol. N.	H ² SO ⁴	%	Sol. N.	H ² SO ⁴	%	Sol. X.	H ² SO ⁴	%
3.6	0.1764	0.23	9.3	0.4410	2.18	3	0.1470	6	8.0	0.3920	23.0
3.6	0.1764	0.31	4.7	0.2303	1.65	3.6	0.1764	6.4	7.2	0.3528	20.0
5.0	0.2450	2.82	3.2	0.1568	1.60	3.8	0.1862	7.0	7.6	0.3724	21.0
2.5	0.1225	0.20	6.7	0.3283	1.84	7.0	0.3430	7.6	8.6	0.4214	23.5
4.5	0.2205	2.54	3.8	0.1882	1.80	6.9	0.3381	8.4	8.4	0.4116	23.2
3.2	0.1568	0.38	5.0	0.2450	1.95	8.4	0.4113	9.2	7.0	0.3430	21.8
2.2	0.1070	0.99	5.2	0.2548	2.00	5.6	0.2744	6.9	6.2	0.3038	19.3

Ao concluir essa série de exemplos que talvez se tenham alongado por demais e cuja finalidade principal era frisar que a acidez nestes produtos só poderia ser representada pela acidez total, como acertadamente tem sido feito até hoje, vamos passar agora para o capítulo das raspas de mandioca e suas farinhas, que foram justamente os produtos que originaram as dúvidas e divergências no início mencionadas e que deram motivo a este nosso esclarecimento. Vamos procurar elucidar o assunto e provar categoricamente que não procedem as pretensões de se abandonarem por completo as determinações de acidez total, substituindo-as pelos valores de acidez iônica.

Ao ser criado pelo Governo Federal o Serviço de Fiscalização do Comércio de Farinhas, foi por dito Serviço estabelecida uma série de tabelas de classificação por pontos para as diversas determinações analíticas referentes aos ditos produtos. Dentre essas tabelas vamos destacar a que diz respeito à acidez e que é a seguinte:

ACIDEZ:

Índice pH 6,0	25 pontos
" pH 5,5	20 pontos
" pH 5,0	15 pontos
" pH 4,5	10 pontos
" pH 4,0	5 pontos

Desde que nos foi apresentada dita tabela, julgamo-la, um tanto extravagante e absurda, não só pela sua classificação como pela sua finalidade, mas como se tratasse de uma determinação nova e ainda não determinada obrigatoriamente em farinhas, procedemos algumas centenas dessas determinações, mais para atender às solicitações de dito Serviço Federal e também para constituir uma prova de convicção da nossa opinião do limitadíssimo valor representativo de dita determinação em análises de farinhas.

Essas determinações conseguidas com o concurso inestimável e brilhante dos meus presados companheiros de secção, só concorreram para reforçar a nossa impressão, que a única representação certa, lógica e verdadeira é a determinação de acidez total expressa em cms.³ de soluto alcalino N/1 por 100 grs. de produto. Em cerca de mais de 450 amostras foram procedidas não só as determinações de acidez, mas uma análise mais ou menos completa e com detalhes mais ou menos minuciosos. Neste número vultoso de amostras foram também procedidas as determinações dos valores de pH e verificamos que esta representação obtida com a rigorosa técnica exigida para o caso, não correspondia em absoluto ao desenvolvimento evolutivo das alterações nos produtos então examinados. Raspas de mandioca e farinhas com aspécto, cheiro, cor e mesmo gosto denunciadamente alterados davam sempre valores de pH bons para não dizer ótimos, por se acharem nas proximidades dos teores da neutralidade. Do mesmo modo a acidez total ao ser medida denunciou em toda sua plenitude a alteração do produto. Darei apenas alguns exemplos destes absurdos contrastes. Produtos com um índice de acidez total elevadíssimo — 11,9 — ao ter sua acidez potencial medida e verificada deu como resultado um $\text{pH} = 6,0$, que era justamente o índice ótimo constante da referida tabela do Serviço de Fiscalização do Comércio de Farinhas. Outras amostras com acidez total de 10,8, de 9,0, de 8,0, de 7,6, etc., tiveram como pH correspondente aos índices de 5,6, de 5,8, de 5,4, de 6,3, também dentro dos limites máximos da mesma tabela de acidez.

Concluimos então que as raspas e farinhas de raspas quando sob a forma de extrato aquoso, constituíam meios muito complexos que quando postos em contacto com os sensibilíssimos reativos utilizados como indicadores na determinação do pH, nem sempre davam dados compensadores e exatos que comprovassem seu estado real de conservação. As raspas, farinhas de raspas e semelhantes devem conter em sua composição centesimal elementos tais que concorrem

e impedem com seus mananciais para perturbar e tornar inexpressíveis as determinações de acidez iônica, dando em conclusão as divergências e falta de concordância então observadas.

Damos a seguir tabelas onde com mais clareza podem ser observadas as disparidades de resultados entre os teores de acidez total e acidez potencial determinados em raspas de mandioca e farinhas de raspas de mandioca:

RASPAS DE MANDIOCA

N.º da Amostra	Caracteres Organoléticos	ACIDEZ		
		Sol. N.	pH	H ² SO ⁴
92	Bons	1.3	6.3	0.0637
119	"	2.3	5.6	0.1127
121	"	3.8	6.6	0.1862
127	"	1.5	4.0	0.0735
129	"	2.0	5.0	0.0980
132	"	1.9	6.8	0.0931
135	"	1.8	6.5	0.0882
137	"	1.6	6.6	0.0784
138	"	2.0	6.1	0.0980
140	"	1.8	6.6	0.0882
143	"	2.0	5.8	0.0980
144	"	1.6	6.5	0.0784
148	"	3.3	6.1	0.1617
149	Maus	6.1	4.7	0.2989
154	Bons	2.2	6.3	0.1078
158	"	1.1	6.0	0.0539
161	"	1.4	6.6	0.0686
166	Regulares	5.5	5.5	0.2695
172	"	4.3	6.3	0.2107
174	"	3.9	6.6	0.1911
175	Bons	2.6	6.6	0.1274
178	Péssimos	11.9	6.0	0.5831
180	Bons	2.5	5.4	0.1225
182	"	2.7	5.5	0.1323
188	"	4.0	6.3	0.1960
232	"	3.1	5.4	0.1519
233	Maus	7.4	5.0	0.3626
235	"	5.5	5.4	0.2695
244	Bons	2.2	5.6	0.1078
245	Maus	4.7	5.4	0.2303
250	Regulares	4.5	5.8	0.2205
251	Bons	1.8	5.4	0.0922
258	Regulares	5.4	6.3	0.2646
260	Maus	6.6	5.3	0.3234
261	"	7.8	5.4	0.3822
262	"	8.6	5.4	0.4214

RASPAS DE MANDIOCA

N.º da amostra	Caracteres organoléticos	ACIDEZ		
		Sol. N.	pH	H ^º SO ⁴
264	Maus	8.1	5.4	0.3969
265	"	7.3	5.6	0.3577
266	"	1.4	6.6	0.0686
267	Bons	2.5	6.6	0.1225
268	"	2.3	6.4	0.1127
269	"	2.0	6.5	0.0980
277	"	3.8	6.4	0.1862
280	Regulares	7.2	5.7	0.3528
283	Maus	5.2	6.2	6.2548
290	"	4.5	5.3	0.2205
292	Maus	2.0	6.6	0.0980
295	Bons	1.2	6.3	0.0588
301	"	2.2	6.2	0.1678
304	"	3.5	5.9	1.1715
306	"	4.0	6.0	0.1960
307	Regulares	4.5	6.4	0.2205
319	Bons	3.5	6.5	0.1715
439	"	2.3	5.6	0.1127
440	"	4.0	5.9	0.1960
441	"	1.7	6.4	0.0833
478	"	2.5	5.5	0.1225
494	"	2.1	5.6	0.1029
503	"	3.0	6.0	0.1470
881	"	2.5	5.8	0.1225
882	"	2.1	5.6	0.1029
883	"	2.2	6.0	0.1078
884	"	2.5	6.2	0.1225
885	"	2.5	5.4	0.1225
886	"	1.3	5.8	0.0637

FARINHAS DE RASPAS DE MANDIOCA

N.º da amostra	Caracteres organoléticos			ACIDEZ		
	Aspecto	Cor	Cheiro	Sol. N.	pH	H ⁺ SO ⁴
30	pó fino	creme	próprio	<u>6.1</u>	<u>5.4</u>	0.2989
31	pó fino	creme	próprio	<u>4.3</u>	<u>5.5</u>	0.2107
33	pó grosso	amarela	próprio	<u>2.1</u>	<u>5.6</u>	0.1029
34	pó grosso	creme	próprio	<u>3.1</u>	<u>5.4</u>	0.1519
43	pó fino	creme	próprio	<u>3.8</u>	<u>5.9</u>	0.1862
44	pó grosso	creme	próprio	<u>4.0</u>	<u>5.7</u>	0.1960
45	pó fino	creme	próprio	<u>4.2</u>	<u>5.7</u>	0.2058
61	pó fino	branca	próprio	<u>3.8</u>	<u>5.8</u>	0.1862
67	pó fino	branca	próprio	<u>4.8</u>	<u>5.4</u>	0.2352
84	pó fino	creme	próprio	<u>4.3</u>	<u>5.8</u>	0.2107
89	pó fino	creme	próprio	<u>2.2</u>	<u>6.0</u>	0.1078
90	pó fino	creme	próprio	<u>2.4</u>	<u>5.9</u>	0.1176
93	pó fino	creme	próprio	<u>4.0</u>	<u>6.0</u>	0.1960
94	pó fino	creme	próprio	<u>4.0</u>	<u>6.2</u>	0.1960
95	pó fino	creme	próprio	<u>2.7</u>	<u>6.3</u>	0.1323
96	pó fino	branca	próprio	<u>2.7</u>	<u>6.4</u>	0.1323
99	pó fino	creme	próprio	<u>2.0</u>	<u>6.0</u>	0.0980
100	pó fino	creme	próprio	<u>1.2</u>	<u>5.8</u>	0.0588
102	pó fino	creme	próprio	<u>2.7</u>	<u>5.9</u>	0.1323
103	pó fino	creme	próprio	<u>2.5</u>	<u>5.5</u>	0.1225
104	pó fino	creme	próprio	<u>2.1</u>	<u>6.1</u>	0.1029
105	pó fino	creme	próprio	<u>1.9</u>	<u>6.2</u>	0.0931
106	pó fino	creme	próprio	<u>3.0</u>	<u>5.7</u>	0.1470
107	pó fino	creme	próprio	<u>1.0</u>	<u>5.8</u>	0.0490
108	pó grosso	amarela	próprio	<u>1.0</u>	<u>5.8</u>	0.0490
111	pó fino	creme	próprio	<u>3.5</u>	<u>6.4</u>	0.1715
116	pó fino	creme	próprio	<u>2.1</u>	<u>5.6</u>	0.1929
120	pó fino	creme	próprio	<u>3.6</u>	<u>6.3</u>	0.1764
122	pó fino	creme	próprio	<u>3.4</u>	<u>6.1</u>	0.1660
123	pó fino	creme	próprio	<u>3.3</u>	<u>6.0</u>	0.1617
124	pó fino	amarela	próprio	<u>2.1</u>	<u>5.8</u>	0.1029
125	pó grosso	creme	próprio	<u>1.4</u>	<u>6.4</u>	0.0686
136	pó fino	creme	próprio	<u>4.2</u>	<u>5.7</u>	0.2058
147	pó grosso	creme	próprio	<u>2.6</u>	<u>6.3</u>	0.1274
167	pó fino	creme	próprio	<u>4.9</u>	<u>5.7</u>	0.2401
171	pó fino	creme	próprio	<u>6.0</u>	<u>5.3</u>	0.2940
179	pó fino	branca	próprio	<u>9.0</u>	<u>5.8</u>	0.4410
181	pó fino	amarela	próprio	<u>2.2</u>	<u>5.5</u>	0.1078
183	pó fino	amarela	próprio	<u>5.0</u>	<u>6.2</u>	0.2450
184	pó fino	amarela	próprio	<u>4.1</u>	<u>5.1</u>	0.2009
185	pó fino	amarela	próprio	<u>4.2</u>	<u>5.6</u>	0.2058
186	pó grosso	creme	próprio	<u>4.0</u>	<u>5.8</u>	0.1960
187	pó fino	creme	próprio	<u>4.0</u>	<u>5.6</u>	0.1960
189	pó grosso	creme	próprio	<u>4.0</u>	<u>6.3</u>	0.1960

FARINHAS DE RASPAS DE MANDIOCA

N.º da amostra	Caracteres organoléticos			ACIDEZ		
	Aspecto	Cor	Cheiro	Sol. N.	pH	H ² SO ⁴
190	pó grosso	creme	próprio	5.0	6.3	0.2450
191	pó fino	creme	próprio	4.0	6.0	0.1960
231	pó fino	amarela	próprio	1.4	6.6	0.0686
234	pó grosso	amarela	próprio	4.5	5.6	0.2205
236	pó grosso	amarela	próprio	1.8	6.3	0.0882
237	pó fino	branca	próprio	1.8	5.8	0.0882
241	pó fino	branca	próprio	5.8	5.5	0.2842
242	pó fino	branca	próprio	2.6	6.0	0.1274
243	pó fino	creme	próprio	1.6	6.2	0.0784
246	pó fino	amarela	próprio	6.3	5.4	0.3087
247	pó fino	creme	próprio	1.5	6.4	0.0735
248	pó fino	creme	próprio	3.0	6.3	0.1470
249	pó fino	creme	próprio	3.3	5.8	0.1617
255	pó fino	amarela	próprio	3.8	5.9	0.1862
256	pó grosso	amarela	próprio	1.8	5.9	0.0882
257	pó fino	amarela	próprio	3.4	6.1	0.1666
258	pó fino	amarela	próprio	5.4	6.3	0.2640
259	pó fino	branca	próprio	7.6	6.3	0.3724
263	pó fino	creme	próprio	4.3	6.4	0.2107
270	pó fino	creme	próprio	2.2	6.6	0.1078
271	pó fino	creme	próprio	2.5	6.3	0.1225
279	pó fino	creme	próprio	9.3	5.3	0.4557
282	pó fino	creme	próprio	10.8	5.6	0.5292
284	pó fino	creme	próprio	3.2	6.2	0.1563
285	pó fino	creme	próprio	3.0	6.3	0.1470
289	pó fino	creme	próprio	4.0	6.4	0.1960
291	pó fino	creme	próprio	4.2	5.2	0.2058
303	pó fino	creme	próprio	3.5	5.6	0.1715
380	pó fino	creme	próprio	8.0	5.7	0.3920
381	pó fino	creme	próprio	4.8	5.9	0.2350
382	pó fino	cinza	próprio	3.8	6.3	0.1860
383	pó fino	cinza	próprio	7.0	5.3	0.3430
384	pó fino	creme	próprio	3.6	6.3	0.1764
438	pó fino	creme	próprio	2.8	5.8	0.1372
443	pó fino	creme	próprio	1.4	5.4	0.0686
473	pó fino	amarela	próprio	5.0	5.8	0.2450
479	pó fino	creme	próprio	2.5	5.5	0.1225
480	pó fino	creme	próprio	2.0	5.5	0.0980

Deante desses resultados e verificando a inutilidade e nenhuma expressão das determinações de acidez iônica nesses produtos, resolveu em boa hora, o Serviço de Fiscalização do Comércio de Farinhas, revogar a tabela que havia anteriormente estabelecido, adotando então uma nova e única tabela de acidez total, que se acha abaixo, na qual figura como teor máximo para 100 grs. de produto 2,5, cc. de soluto alcalino normal.

ESCALA DE PONTOS PARA ACIDEZ

de 0,5 cc. para menos por 100 grs. de farinha	25 pontos
de 0,6 cc. a 1 cc. por 100 grs. de farinha	20 "
de 1,1 cc. a 1,5 cc. por 100 grs. de farinha	15 "
de 1.6 cc. a 2,0 cc. por 100 grs. de farinha	10 "
de 2,1 cc. a 2,5 cc. por 100 grs. de farinha	5 "

Dados esses elementos como provas reais, indiscutíveis e comprobatórias de nossa opinião, não queremos terminar sem dizer que a questão dos teores de acidez iônica em farinha terá seu relativo valor em casos excepcionais e para certos e determinados tipos de farinhas. Pode ser necessária para uma elucidação qualquer, como no caso de um embranquecimento ou envelhecimento artificial, depois de medir-se a intensidade de acidez da farinha conhecer-se também a atividade dessa acidez, sem contudo pretender que esta determinação substitua por completo a primeira que constitui o único índice de acidez proporcional à qualidade e ao estado de conservação do produto. O acréscimo de acidez em farinhas, como já dissemos, é maior ou menor conforme sejam seus tipos, seus sistemas de acondicionamento e armazenagem. Há casos porem em que esse acréscimo se dá até um limite máximo variavel, quando a acidez entra em declínio, devido às modificações intensas dos seus teores azotados, que vão sendo transformados numa série de corpos solúveis, primeiramente, em ácidos aminados, em amoníaco e depois em sais amoniacaís. Nestes casos nem a acidez total servirá para uma avaliação segura do produto sendo necessário lançar-se mão de outros recursos que facilitem a classificação do produto.

Exposta dessa forma, em linhas gerais a questão dos teores de acidez em farinhas, só podemos agora aconselhar aos interessados que, como disseram, "se viram à mercê de uma especificação que nada significa" e que sem motivo justo se rebelaram contra as acertadas especificações oficiais de acidez, que procurem melhorar seus produtos, pois com um pouco mais de cuidado na sua manufatura

terão garantido a sua inclusão dentro dos limites estipulados legalmente. No caso das raspas de mandioca, com mais perfeita seleção de rizomas, com seu melhor fraccionamento e acima de tudo com uma secagem perfeita e completa, serão obtidos produtos apropriados e perfeitos para produção de farinhas panificáveis. Sem estes requisitos básicos e indispensáveis os produtos sairão com fálhas em tão grandes proporções que na determinação de seus característicos organoléticos e suas especificações de acidez, terão de ser rejeitados como impróprios para o fim colimado. Removendo os interessados essas falhas técnicas, garantirão aos seus produtos um maior rendimento, uma conservação melhor e mais perfeita, que redundará num índice de acidez total baixo e dentro dos limites máximos estabelecidos pela lei.

Enquanto isso nós iremos com toda boa vontade e isenção prosseguir em nossa série de observações, procurando elucidar e resolver na altura de suas possibilidades as dúvidas e dificuldades então surgidas, afim de que num breve lapso de tempo possamos obter e relatar conclusões mais convincentes e categóricas sobre tão simples e tão significativa determinação.

RESUMO

O autor, analisando a multiplicidade de métodos para a determinação dos teores de acidez em farinhas e suas conseqüentes diversidades nos resultados obtidos, prevê a necessidade de ser mais bem estudada, definida e unificada tal técnica, afim de que seja adotado um método único e convencional que traga as possibilidades de melhor comparação e juízo sobre os resultados obtidos.

O autor, tratando das causas principais determinantes da acidez nas farinhas, indica como grande responsável dessa alteração seus teores oleosos. Desse modo, dita acidez só pode ser verdadeiramente representada pelos teores de acidez total obtidos titrimetricamente, desfazendo desse modo as pretensões de se substituir totalmente essa representação pela da acidez iônica, como foi pleiteada e defendida por interessados em raspas e farinhas de raspas de mandioca. Em algumas centenas de determinações comparativas foi notada grande disparidade entre os resultados, o que provou em conclusão o limitadíssimo e inexpressivo valor da acidez potencial nesses produtos.

Conclue, finalmente, deante de grande documentação analítica, que só os teores de acidez total podem ser os representativos da idade e do estado de conservação de ditos produtos por serem os únicos

que sistematicamente acompanham o desenvolvimento evolutivo de suas alterações.

SUMMARY

The author, analysing the multiplicity of methods for the determination of the content of acidity in meals and their consequent difference in the obtained results, foresees the necessity to study more entirely, definitely and united such tecnic, to use only one and convincing method, which brings possibilities of better comparation and judgement over the obtained results.

The author, speaking of the principal causes of the acidity in the meals, indicates that the reason of this alteration is their oily content. Such acidity can only be truly represented by the total content of acidity obtained by titrimetry, destroying the pretension of total substitution of this representation by the ionic acidity as it was disputed and defendend by persons interested in this question, in scrapes o meals and flour of mandioca. In some hundreds of comparative determinations, they noted great difference between the results, proving the limited and inexpressive value of the potencial acidity in this products.

Concludes, finally, in front of great analitic documentation, that only the contents of the total acidity can be the representatives of theage and condition of conservation of those products. because they are the only one who follow sistematically the evolutiv development of their alterations.

BIBLIOGRAFIA

- BALLAND, A. — 1907 — Les Aliments, vols. I e II.
BRAVO, Dott. Giuseppe Antonio — 1929 — La concentrazioni degli Ioni idrogeno
BRETEAU, Pierre — 1907 Falsifications et Alterations des Substances Alimentaires.
CLARK, W. Mansfield — 1920 — The determination of Hydrogen Ions.
FLAIMAND, Jules et KETELBANT, Eugène — 1938 — Chimie Analytique Appliquée.
GRANT, Julius — 1930 — The measure of Hydrogen Ion concentration.
ISSOGLIO, *Giovanni* — 1927 — La Chimica degli Alimenti — II vol.
KOLTHOFF, J. N. — 1931 — The colorimetric and Potentiometric Determination of pH.
KÜHL, Hugo e KLIEFORTH, D. — 1934 — *Chem. Abstracts* — pg. 6207.
ULMANN, Fritz — 1931 — Enciclopedia de Quimica Industrial, Trad. Dr. José Estalella, Seccion III, Tomos, I, VI e V.
VILLAVECCHIA, Vittorio — 1937 — Trattato di Chimica Analitica Applicata, Vol. II, XIV.
VILLIERS, COLLINS & FAYOLLE — 1924 — Aliments feculents

TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM TOMATES FRESCOS (*LICOPERSICUM ESCULENTUM*) E MASSAS DE TOMATES.

RENATO FONSECA RIBEIRO

Químico chefe do Instituto Adolfo Lutz.

ANA GOMES

Auxiliar química do Departamento de Saúde,
com exercício no Instituto Adolfo Lutz.

Embora se encontre na literatura estrangeira resultados sobre o teor em ácido ascórbico da maior parte dos alimentos de consumo em nosso meio, é justificável que procuremos proceder o doseamento nos vegetais nacionais, visto que não raro as diferenças são muito grandes quando se considera a procedência do substrato.

Também com respeito aos produtos conservados, as diferenças podem atingir cifras bastante elevadas, sendo que aqui se somam outros fatores como, por exemplo; a técnica da manipulação.

Sabe-se que o ácido ascórbico é notavelmente sensível aos agentes de oxidação e dentre eles destacam-se os metais pesados — o cobre, sobretudo — cuja ação catalítica na transformação da vitamina "C" em ácido dehidro ascórbico é notável.

A conservação do ácido ascórbico, em vegetais, varia com o tipo de agentes empregados para essa finalidade. Nas conservas, tipo massas de tomate, além de manipulações técnicas, deve-se somar o efeito de quantidades maiores ou menores de cobre que provem da sulfatação e da própria aparelhagem onde o material é trabalhado. Os resultados que seguem e que se referem a tomates e a massas de tomate, representam o doseamento do produto sempre no momento em que o recipiente era aberto, pois que a presença do ar vai gradativamente baixando o valor vitamínico.

O método empregado foi o da ascorbinase, com a titulação pelo 2-6, di-clorofenol-indofenol, determinando o total da vitamina "C" representado pela soma do ácido ascórbico e dehidro ascórbico; a técnica usada foi a que já referimos em outros trabalhos. (*)

Recebido para publicação em 13 de Outubro de 1941.

(*) Sobre o teor da vitamina "C" em leite de São Paulo — "Revista do Instituto Adolfo Lutz, 1941, Vol. 1, n.º 1.

Passemos aos dados analíticos:

Doseamento de Vitamina "C" em Sementes de Tomates Frescos

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
Tomate redondo	38,88
Tomate pera	45,34
Tomate grande	55,37
Tomate de Santo Amaro	34,46
Tomate de Monte Alto	15,83
Tomate grande verde	12,94
Tomate redondo pequeno	32,34
Tomate comprido	37,52
Tomate redondo de Ribeira de Iguape	36,22

Média de ácido ascórbico em mg. por 100 g. de substrato = 34,76

Doseamento de Vitamina "C" na Polpa e Casca de Tomates Frescos

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
Tomate redondo	47,20
Cascas de tomate redondo	43,39
Polpa e casca de tomate redondo	61,44
Polpa de tomate pera	62,52
Casca e polpa de tomate pera	70,35
Polpa e casca de tomate grande	24,72
Polpa e casca de tomate de Santo Amaro	49,44
Polpa e casca de tomate de Monte Alto	18,11
Polpa e casca de tomate de grande <i>verde</i>	1,94
Polpa e casca de tomate de grande <i>verde</i>	10,99
Polpa e casca de tomate redondo pequeno	34,92
Polpa e casca de tomate comprido	34,92
Polpa e casca de tomate redondo de Ribeira de Iguape	29,11

Polpa e casca de tomate de Monte Alto "1" 23,93
 Polpa e casca de tomate de Monte Alto "2" 12,94
 Polpa e casca de tomate de Monte Alto "3" 14,23
 Polpa e casca de tomate de Monte Alto "4" 18,76
 Polpa e casca de tomate de Monte Alto "5" 21,35

Média de ácido ascórbico em mg. por 100 gr. de substrato = 32,23

Nos quadros acima chamamos a atenção para o fato de encontramos um dos resultados analíticos expresso apenas pela cifra de 1,94mg. de ácido ascórbico total. Esse resultado foi obtido em uma amostra de tomate completamente verde.

De um modo geral, verificamos que quando obtinhamos porcentagem de ácido ascórbico menor do que 20 mg. por 100 g. de substrato, estavam sempre em presença de fruto cuja maturação não era completa.

Este fato nos levou a acompanhar a evolução dos tomates, de um mesmo tomateiro, com dosagens sistemáticas de ácido ascórbico, cujos resultados serão motivo de outra publicação.

A observação dos dados analíticos dos quadros acima leva-nos à conclusão de que não existe diferença significativa do teor vitamínico entre a polpa e as sementes do tomate.

Os resultados de várias massas de tomate, de consumo nesta Capital, são os que seguem:

Doseamento de Ácido Ascórbico em "Massa de Tomate", cujo exame microscópico revelou a presença de elementos histológicos do Pimentão (Capsicum).

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
(*) Marca A	22,54
Marca B	36,80
Marca C	85,98
Marca B	63,83
Marca C	34,04
Marca D	82,98
Sem marca	59,58
Média de ácido ascórbico em mg. por 100 g. de produto = 55,10	

Pelos dados analíticos constantes do quadro acima é lícito concluir que a junção de pimentão à massa de tomates, o que realmente constitui uma falsificação, não altera o valor vitamínico do produto.

Doseamento de Ácido Ascórbico em "Massa de Tomate", cujo exame microscópico revelou a presença de elementos histológicos da Abóbora (Cucubita maxima-pepo)

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
Marca M	52,65
Marca P	77,48

(*) Classificamos as varias marcas do produto por letras, arbitrariamente. Uma mesma letra indica sempre uma determinada marca. do produto.

Resultado em Mg. de ácido ascórbico

<i>Amostra</i>	<i>por 100 g. de produto</i>
Marca D	48,94
Marca P	97,16
Marca K	95,53
Sem marca	70,62
Marca K	89,88
Marca P	72,51
Sem marca	46,54
Sem marca	73,83
Sem marca	78,58
Sem marca	57,70
Marca D	49,40
Marca D	74,09
Marca M	83,26
Marca M	35,28
Marca M	35,28
Marca P	43,34

Média de ácido ascórbico em mg. por 100 g. de produto = 65,54

É claro que a adição de abóbora à massa de tomates é uma falsificação, porem, ainda neste caso, não há prejuizo com relação às propriedades vitamínicas do produto, pois que é bastante elevada a porcentagem de ácido ascórbico em tais "massas de tomate".

O doseamento de ácido ascórbico em abóbora revelou riqueza em vitamina "C", o que justifica os resultados acima.

Doseamento de Ácido Ascórbico em "Massa de Tomate", cujo exame microscópico revelou a presença de elementos histológicos da Batata Doce (Ipomoea batatas)

*Resultado em Mg. de ácido ascórbico
por 100 g. de produto*

<i>Amostra</i>	<i>por 100 g. de produto</i>
Marca D	62,24
Sem marca	33,99
Marca B	13,09
Marca E	34,70

Média de ácido ascórbico em mg. por 100 g. de produto = 38,00

Pelos dados acima vê-se claramente que a adição de batata doce à massa de tomates, alem de constituir falsificação, prejudica o valor vitamínico desse alimento.

Massa e Extrato de Tomates de fabricantes diversos, cujo exame microscópico relevou apenas elementos histológicos do Tomate.

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
Sem marca	12,68
Marca F	10,68
Marca G	11,36
Marca H	18,93
Sem marca	17,93
Marca J	58,62
Sem marca	58,62
Sem marca	77,16
Marca F	38,30
Marca K	94,15
Sem marca	25,29
Marca G	78,58
Marca F	50,07
Marca G	71,64

Média de ácido ascórbico em mg. por 100 g. de produto = 41,71

Resultados obtidos em amostras de Massa de Tomate marca "X", cujo exame microscópico revelou apenas elementos histológicos Tomate

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
Extrato de Tomate	72,69
Massa de Tomate	15,28
Massa de Tomate	31,64
Massa de Tomate	38,30
Extrato de Tomate	36,83
Extrato de Tomate	42,38
Extrato de Tomate	46,80
Extrato de Tomate	100,16
Extrato de Tomate	111,71

Média de ácido ascórbico em mg. por 100 g. de produto = 55,0*

Resultados obtidos em amostras de Massa de Tomate marca "Y", cujo exame microscópico revelou apenas elementos histológicos do Tomate

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
Extrato de Tomate	102,42
Extrato de Tomate	100,83
Massa de Tomate	77,16
Extrato de Tomate	60,64
Extrato de Tomate	90,77

<i>Amostra</i>	<i>Resultado em Mg. de ácido ascórbico por 100 g. de produto</i>
Extrato de Tomate	93,62
Extrato de Tomate	62,40
Extrato de Tomate	122,49
Massa de Tomate	66,44
Extrato de Tomate	59,98
Extrato de Tomate	73,39
Extrato de Tomate	74,09

Média de ácido ascórbico em mg. por 100 g. de produto = 82,04

Dada a variação dos resultados, pois que obtivemos como valor máximo para a vitamina "C" na massa de tomate 122,49 mg. e como valor mínimo 10,68 para 100 g. de produto, tratando-se em ambos os casos de massas de tomate, cujo exame microscópico não revelou a presença de elementos estranhos resolvemos procurar a causa de tão grande variabilidade. Isto nos levou a acompanhar a fabricação completa de massa de tomate, colhendo pessoalmente amostras, quer do tomate apenas espremido, quer do produto em suas diversas fases de fabricação.

Em face da diversidade dos resultados encontrados, resolvemos fazer, para cada um dos quadros acima, o cálculo dos valores em σ e V. (*) Constatamos, como era natural, que muito grande era o limite de dispersão. Assim encontramos para σ valor mínimo de 12,4 e valor máximo de 29,9 e para V obtivemos o valor mínimo de 21,9 e a máximo de 60,8.

Pelo que ficou dito no decorrer do trabalho, é lícito concluir que três fatores influem decisivamente para a baixa do teor ácido cevitâmico nas massas de tomate:

- a) emprego de frutos não completamente maduros;
- b) lavagem imperfeita dos frutos antes da preparação da massa. A lavagem destina-se a remover da casca o sal de cobre empregado na sulfatação da planta;
- c) Aparelhagem utilizada, que normalmente é de cobre.

(*) σ = desvio do padrão.
V = coeficiente de variabilidade.

RESUMO

Os autores descrevem resultados do doseamento do ácido cevitamínico nos tomates, cujo resultado médio foi 33,49 mg. por 100 g. de produto, considerando-se o fruto integral — polpa, semente e casca.

Mostram que é frequente a falsificação das massas de tomate pela adição de batata doce, pimentão e principalmente abóbora. Mostram ainda que o teor médio da vitamina "C" nas massas de tomate é 59,65 mg. por 100 g. de produto, tendo encontrado como valor máximo 122,49 mg. e mínimo 10,78, com um coeficiente de variabilidade que oscila entre 21,9 e 60,8.

INDICE

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

(VOLUME I — 1941)

INDICE DE AUTORES

- ACHÉ, Lúcia — Farinha de cebola, 199.
- ACHÉ Lúcia — Vide RIBEIRO, Renato Fonseca.
- ALMEIDA, Floriano de, Carlos da S. Lacaz e Olga de Barros — Orientação prática para classificação das leveduras, 396.
- ARANTES, Maria — Vide PESTANA, Bruno Rangel.
- ASHGAR, Hassib — Considerações sobre os animais de laboratório, 361.
- AYRES, Luiz — Vide TAUNAY, Augusto E..
- BARROS, Olga de — Vide ALMEIDA, Floriano de.
- BRIQUET, Prof. Raul — Adolfo Lutz, 203.
- BRITO E SILVA, Manoel — Vide SILVA, Manoel de Brito e.
- BÜLLER SOUTO, Ariosto — Vide SOUTO, Ariosto Büller.
- CARVALHO, Lídia Calazans de — Vide TAUNAY, Augusto E..
- CARVALHO LIMA, J. P. — Vide LIMA, J. P. Carvalho.
- CORRÊA, Osvaldo Alvares — Técnica do preparo da vacina e antígeno para a "leishmaniose tegumentar americana", 389.
- COUTINHO, José Oliveira — Dados epidemiológicos sobre a doença de Chagas em uma zona restrita do Estado de S. Paulo, 381.
- FRÂNCIA MARTINS, A. — Vide MARTINS, A. França.
- GOMES, Ana — Vide RIBEIRO, Renato Fonseca.
- GOMES, Luis de Sales — Sobre a presença do Tifo exantemático do tipo murino ou endêmico em S. Paulo, 21.
- LACAZ, Carlos da S. — Vide ALMEIDA, Floriano de.
- LIMA, J. P. Carvalho — Instituto Adolfo Lutz, 5.
- MARTINS, A. França — Do Diagnóstico sorológico da Leishmaniose, 55.
- MARTINS, A. França — Sobre o padrão bacteriológico do leite em S. Paulo, 304.
- MELO, Mário Sampaio — Sobre o teor de acidez em farinhas, 457.
- MONTENEGRO, João — Tumores gigantocelulares das bainhas tendinosas, 70.

MONTENEGRO, João — Gravidez e febre amarela, 76.

MONTENEGRO, João — Nodosidades juxta-articulares de Lutz-Jeanselme, 447.

PEDROSO, Dario — Vide TAUNAY, Augusto E..

PESTANA, Bruno Rangel — Da Meningite tuberculosa, 40.

PESTANA, Bruno Rangel, Maria Arantes e Ettore Rugai — Pasteurelose humana, 357.

QUEIROZ TELES, Lúcia — Vide TELES, Lúcia de Queiroz.

RANGEL PESTANA, Bruno — Vide PESTANA, Bruno Rangel.

RIBEIRO, Renato Fonseca e Lúcia Aché — Sobre o teor da Vitamina "C" no leite de São Paulo, 192.

RIBEIRO, Renato Fonseca e Ana Gomes — Teor de ácido escórbico em tomates frescos (*Lycopersicum esculentum*) e massas de tomates, 476.

ROSSETTI, Nicolau — Tricofícia difusa da pele glabra com persistência de lesões do couro cabeludo em adulto, por *Trichophyton violaceum*, 85.

ROSSETTI, Nicolau — Um novo problema sanitário em S. Paulo. Primeiros resultados de um inquérito sobre as Tinhas, 217.

RUGAI, Ettore — Cultura de Leishmânias, 153.

RUGAI, Ettore — Estudo comparativo entre o meio de Levine e Vaughn e um novo meio isento de peptona, para determinação da produção de H₂S pelas bactérias, 373.

RUGAI, Ettore — Vide PESTANA, Bruno Rangel.

SILVA, Manoel de Brito e — Diagnóstico sorológico da Mononucleose infectuosa (Febre ganglionar de Pfeiffer), 160.

SOUTO, A. Büller — "Primera Reunión Argentina de Agronomía", 181.

TAUNAY, Augusto E. e Lídia Calazans de Carvalho — Meningite aguda enterocócica, 115.

TAUNAY, Augusto E., Luiz Ayres e Dario Pedroso — Mielocultura e mielograma na Febre tifóide, 118.

TELES, Lúcia de Queiroz — Brucelas. Ação sobre nitrato, 142.

INDICE DE ASSUNTO

Acidez em farinhas, sobre o teor de	457	Diagnóstico sorológico da Febre ganglionar de Pfeiffer (Mononucleose infectuosa)	160
Agronomia, Primera Reunión Argentina de	181	Diagnóstico sorológico da Leishmaniose	55
Animais de laboratório, consideração sobre os	361	Diagnóstico sorológico da Mononucleose infectuosa (Febre ganglionar de Pfeiffer)	160
Animais de laboratório mais usados e principais aplicações ..	361	Doença de Chagas em uma zona restrita do Estado de S. Paulo, dados epidemiológicos sobre a	381
Animais de laboratório, condições somáticas e imunológicas: sua importância	361	Enterococo, meningite aguda enterocócica	115
Animal de experiência, conceito de	361	Farinha de cebola	199
Antígeno e vacina para a "Leishmaniose tegumentar americana", técnica do preparo da ..	389	Farinhas, sobre o teor de acidez em	457
Bacilo bovino, o tipo encontrado no leite em S. Paulo	40	Favus, primeiros resultados de um inquérito sobre as tinhas em S. Paulo	217
Bactérias, estudo comparativo entre o meio de Levine e Vaughn e um novo meio isento de peptona, para determinação da produção de H ₂ S pelas ..	373	Febre amarela, gravidez e	76
Bainhas tendinosas, tumores gigantocelulares das	70	Febre ganglionar de Pfeiffer, diagnóstico sorológico da Mononucleose infectuosa	160
Biotério, sua importância	361	Febre tifóide, mielocultura e mielograma na	118
Bruce'las, ação sobre nitrato ..	142	Floculação do soro na água destilada no diagnóstico da Leishmaniose	55
Cebola, farinha de	199	Gravidez e febre amarela	76
Classificação das leveduras, orientação prática para	396	H ₂ S pelas bactérias, estudo comparativo entre o meio de Levine e Vaughn e um novo meio isento de peptona, para determinação da produção de	373
Couro cabeludo, tricofícia difusa da pele glabra com persistência de lesões do	85	Hemocultura no tifo exantemático	
Cultura de Leishmânias	153		
Diagnóstico bacteriológico da meningite tuberculosa	40		

co murino em S. Paulo	21	tona, para determinação da	
Hemograma na febre tifóide ..	118	produção do H ₂ S pelas bacté-	
Inoculações em cobaias, tifo exan-		rias	373
temático murino em S. Paulo	21	Lutz, Adolfo	203
Instituto Adolfo Lutz	5	Lutz, Instituto Adolfo	5
Intradermo reação de Montene-		Massas de tomates, sobre o teor	
gro no diagnóstico da Leishma-		da Vitamina "C" nos tomates	
niose	55	e	476
Leishmânias, controle de esterili-		Meio isento de peptona, para de-	
dade	389	terminação da produção de H ₂ S	
Leishmânias, cultura de	153	pelas bactérias, estudo compa-	
Leishmânias, isolamento das	389	rativo entre o meio de Levine	
Leishmaniose, do diagnóstico soro-		e Vaughn e um novo	373
lógico da	55	Meio de Levine e Vaughn e um	
Leishmaniose, floculação do soro		novo meio isento de peptona,	
na água destilada no diagnós-		para determinação da produ-	
tico da	55	ção de H ₂ S pelas bactérias,	
Leishmaniose, intradermo reação		estudo comparativo entre o .	373
de Montenegro no diagnóstico		Meningite aguda enterocócica .	115
da	55	Meningite tuberculosa, diagnós-	
Leishmaniose, reação de Brama-		tico bacteriológico	40
chari no diagnóstico da	55	Microsporias, primeiros resulta-	
Leishmaniose, reação do desvio		dos de um inquérito sobre as	
do complemento para	55	tinhas em S. Paulo	217
Leishmaniose, reação do Formol-		Mielocultura e mielograma na	
Gel tipo Napier no diagnóstico		febre tifóide	118
da	55	Mielograma e mielocultura na	
Leishmaniose, reação de peptonato		febre tifóide	118
de ferro no diagnóstico da		Mononucleose infectuosa (Febre	
Leishmaniose tegumentar ameri-		ganglionar de Pfeiffer), diag-	
cana, técnica do preparo da va-		nóstico sorológico da	160
cina e antígeno para a	387	Nitrato, ação das Brucelas so-	
Leite em São Paulo, sobre o pa-		bre	142
drão bacteriológico do	304	Nodosidades juxta-articulares de	
Leite em São Paulo, sobre o teor		Lutz-Jeanselme	447
da Vitamina "C" no	192	Padrão bacteriológico do leite em	
Leptomonas, contagem do número		S. Paulo, sobre o	304
de	389	Pasteurelose humana	357
Lesões do couro cabeludo em		Pele glabra, tricofícia difusa da,	
adulto por <i>Trichophyton vio-</i>		com persistência de lesões do	
<i>laceum</i> , tricofícia difusa da		cabeludo em adulto por <i>Tricho-</i>	
pele glabra com persistência		<i>phyton violaceum</i>	85
de	85	Pfeiffer, febre ganglionar de,	
Leveduras, orientação prática		diagnóstico sorológico da Mo-	
para a classificação das	396		
Levine e Vaughn estudo com-			
parativo entre o meio de, e			
um novo meio isento de pep-			

nonucleose infectuosa	160	Tifo exantemático murino em S. Paulo, reação de Weil-Felix .	21
Problema sanitário em São Paulo, primeiros resultados de um inquérito sobre as tinhas	217	Tifo exantemático murino em S. Paulo, reação de Widal	21
Produção de H ₂ S pelas bactérias, estudo comparativo entre o meio de Levine e Vaughn e um novo meio isento de peptona, para determinação da	373	Tifo exantemático murino ou endêmico em S. Paulo, sobre a presença do	21
Reação de Brahmachari do diagnóstico de Leishmaniose	55	Tinhas, primeiros resultados de um inquérito sobre as, em S. Paulo	217
Reação desvio do complemento para Leishmaniose	55	Tomates e massas de tomates, sobre o teor da "Vitamina "C" nos	476
Reação escrotal em cobaias, tifo exantemático murino em S. Paulo	21	Tricofícias, primeiros resultados de um inquérito sobre as tinhas em S. Paulo	217
Reação do Formol-Gel tipo Napier no diagnóstico da Leishmaniose	55	Tricofia difusa da pele glabra com persistência de lesões do couro cabeludo em adulto, por <i>Trichophyton violaceum</i>	85
Reação do peptonato de ferro no diagnóstico da Leishmaniose	55	<i>Trichophyton violaceum</i> , tricoficia difusa da pele glabra com persistência de lesões do couro cabeludo em adulto	85
Reação de Weil-Felix no tifo exantemático murino em S. Paulo	21	Tumores gigantocelulares das bainhas tendinosas	70
Reação de Widal no tifo exantemático murino em S. Paulo	21	Vacina e antígeno para a "Leishmaniose tegumentar americana", técnica do preparo da ..	389
Técnica do preparo da vacina e antígeno para a "Leishmaniose tegumentar americana"	389	Vitamina "C" no leite de São Paulo, sobre o teor da	192
Tifo exantemático murino em S. Paulo, inoculações em cobaias.	21	Vitamina "C" nos tomates e massas de tomates, sobre o teor da	476
Tifo exantemático murino em S. Paulo, hemocultura	21	Xenodiagnóstico, dados epidemiológicos sobre a doença de Chagas em uma zona restrita do Estado de S. Paulo	381
Tifo exantemático murino em S. Paulo, reação escrotal em cobaias	21		