

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

VOL. 7 • 1947 • NUM. ÚNICO



CAIXA POSTAL, 27-A
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.

Tôda a correspondência referente á Revista deve ser dirigida ao Diretor do Instituto Adolfo Lutz.

DR. J. P. DE CARVALHO LIMA

Avenida Dr. Arnaldo, 3

Caixa Postal. 27-A

São Paulo — Brasil

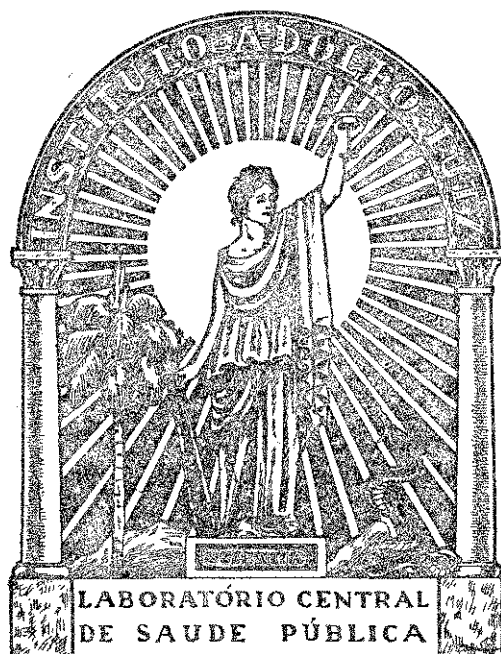
REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA

VOL. 7

1947

NUMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL

CAIXA POSTAL, 27-A

S U M Á R I O

BRUNO RANGEL PESTANA e ETTORE RUGAI — Da presença de Salmonelas nas carnes preparadas	5
BRUNO RANGEL PESTANA e LÚCIA DE QUEIRÓS TELLES — Membros manita-indol-negativos do gênero <i>Shigella</i>	8
JOÃO MONTENEGRO, OSWALDO PAULO FORATTINI e ANA FARACO — Pesquisa de espiroquetas no fígado humano	41
JOSÉ ROBERTO DE CARNEIRO NOVAES — A influência da semente tardia das fezes no isolamento do bacilo tífico	55
NICOLAU ROSSETTI — Sôbre algumas lucites por sensibilizadores vegetais	60
SYLVIO SOARES DE ALMEIDA, AUGUSTO DE E. TAUNAY, JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES e AMÉLIA PACHECO TRIGO — Tipos sorológicos de <i>Sh. paradysenteriae</i> encontrados em São Paulo	75
WALDOMIRO PREGNOLATTO — Estudo da possibilidade da substituição isomorfa dos halogênios e grupos pseudohalogênios na orto- e para-posição do ácido benzóico	85

DA PRESENÇA DE SALMONELAS NAS CARNES PREPARADAS

BRUNO RANGEL PESTANA

Chefe de Subdivisão do Instituto Adolfo Lutz

ETTORE RUGAI

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

Em 1943, pesquisando Salmonelas em gânglios mesentéricos de porcos abatidos para a alimentação pública, verificamos que 15% dos animais eram portadores; porcentagem semelhante às obtidas por Hormaeche & Salsamendi (1936) e por Rubin & Colaboradores (1942).

Em vista desses resultados, passamos a pesquisar Salmonelas nas carnes preparadas, à venda no mercado varejista.

Bailey & Colaboradores (1943) já verificaram que 5,2% das carnes preparadas que examinaram, estavam contaminadas por Salmonelas.

MATERIAL E TÉCNICA

O material, apreendido pelo Sr. Dr. Hernani Marx e enviado pelo serviço da Alimentação Pública, constava de linguças de carne de porco, linguças mistas, salsichos e mortadelas.

Vinte gramas, mais ou menos, do material foram trituradas em geral, com auxílio de areia, juntando-se depois, aos poucos, 20 a 25 cc. de sol. de colóide de sódio a 8,5 por mil.

Após rápido repouso, semeamos 5 cm³ do líquido sobrenadante em 20 cc. do meio de tetracionato verde brilhante de Kauffmann. Após 24 horas a 37°, semeamos em duas placas de agar-ácido rosólico de Calazans-Rangel Pestana e duas de eosina-azul de metileno de Hclt-Harris Teague.

As colônias suspeitas foram repicadas em tríplice açúcar de Krumwiede e dêste, quando suspeito, para os outros meios de identificação. Os germes que se enquadraram no gênero *Salmonella* foram classificados sorologicamente de acordo com o esquema Kauffmann-White.

Ao todo examinamos 170 amostras. Conseguimos 3,52% de casos positivos, isolando 6 Salmonelas que foram classificadas como:

S. anatis — 2
S. newport — 2
S. minnesota — 2

As duas amostras que classificamos como *S. minnesota* estão sujeitas a uma retificação, porque até o momento não conseguimos provar a presença do antígeno flagelar da fase 2 (enxz16) mesmo após várias passagens pelo agar semi-sólido adicionado de sêro específico. Não podemos ainda tirar conclusões, mas parece que se trata de um tipo monofásico de composição antigênica XXI XXVI b —, o que estamos procurando elucidar.

RESUMO

Amostras de vários tipos de carne em conserva do mercado varejista foram examinadas para pesquisa de Salmonelas, com prévio enriquecimento em meio com tetracionato de Kauffmann.

Das 170 amostras examinadas 6 (3,52%) continham Salmonelas que foram classificadas sorologicamente como:

S. anatis — 2
S. newport — 2
S. minnesota — 2

SUMMARY

Samples of various types of meat products from the retail market were examined for the presence of Salmonella, using the tetrathionate enrichment method of Kauffmann.

Of the 170 samples analyzed, 6 (3,52%) were found to contain Salmonella. The following types were isolated:

S. anatum — 2
S. newport — 2
S. minnesota — 2

BIBLIOGRAFIA

- HORMAECH, E. & SALSAMENDI, R. — 1936 — *Arch. Urug. Med. Cir. Y Esp.*,
9: 665.
- RANGEL PESTANA, B. & RUGAI, E. — 1948 — *Rev. Inst. A. Lutz*, 3: 236.

NOTA — O presente trabalho tinha sido entregue para publicação quando tivemos conhecimento do trabalho "Pesquisa de bactérias do gênero *Salmonella* em carnes e seus derivados vendidos a retalho", de Lucas de Assumpção (1946), no qual relata ter encontrado 15% de resultados positivos (*Arq. de Hig. e Saude Pública*, S. Paulo, 1946, 29: 445).

MEMBROS MANITA-INDOL-NEGATIVOS DO GÊNERO *SHIGELLA* (*)

BRUNO RANGEL PESTANA

Chefe de Subdivisão do Instituto Adolfo Lutz

LÚCIA DE QUEIRÓS TELLES

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

E' a presente publicação resultado de investigações iniciadas em fevereiro de 1937 e, por razões diversas, independentes de nossa vontade, freqüentemente interrompidas, mesmo por anos, até esta data.

Verificávamos as amostras de *S. dysenteriae* existentes no Instituto Bacteriológico posteriormente reunido ao Laboratório Bromatológico do Estado e constituindo o atual Instituto Adolfo Lutz. Algumas de isolamento relativamente recente, outras muito antigas. Despertou-nos a atenção seu comportamento em caldo com nitrato e em rafinose, adonita e arabinose ensaiadas em meio semi-sólido de Hiss preparado com infusão de carne isenta de açúcar. E' que o já então muito conhecido e consultado manual de Bergey estabelecia, em suas últimas edições (1930, 1934), que *S. dysenteriae* ataca rafinose e adonita, com produção de ácido, não reduz nitrato e não altera arabinose. Obtínhamos resultados exatamente inversos em rafinose, adonita e nitrato, êste pesquisado segundo o manual da Society of American Bacteriologists (1936), e irregulares em arabinose, sendo nos casos positivos geralmente tardia a acidificação.

Ocorreu-nos reverificar essas 23 amostras; salvo uma, procedente de Paris, haviam sido isoladas e, dada a urgência de diagnóstico, sujeitas, na Secção de Disenteria, apenas às provas diferenciais básicas e indispensáveis segundo o critério então prevalecente para identificação. Algumas anotadas como inaglutináveis em sôro anti-Shiga. Reisolando-as, em junho de 1937, procedemos ao seu estudo quanto a caracteres morfológicos e tintoriais, motilidade, crescimento em gelose e em caldo, redução de nitrato, reações de Voges-Pro-

(*) Recebido para publicação em abril de 1947.

kauer e de vermelho metila, produção de indol, comportamento em gelatina, leite tornassolado e nos seguintes carboidratos, poliálcoois e glicósides verificados no meio de Hiss já citado: adonita, arabinose, dextrose, dulcita, galactose, glicerina, inosita, inulina, isodulcita, lactose, levulose, maltose, manita, manose, rafinose, sacarose, salicina, sorbita e xilose. Nova surpresa: os exemplares que atacavam arabinose e que eram os mesmos da 1.^a observação também atacavam sorbita, em geral tardiamente. Bergey não fazia referência a sorbita e não se incluíam êste poliálcool e arabinose nas provas de fermentação habitualmente usadas nos laboratórios para identificação do gênero *Shigella*. Nitrato, rafinose e adonita confirmaram nosso resultado anterior. Em caldo uniforme turvação, ou limpidez e considerável sedimento, diferenças certamente condicionadas à variação S-R. Sacarose, dada como negativa por Bergey, revelava fermentação, por algumas amostras, em 5-10 dias. Maltose idem; esta positiva na 2.^a edição de Bergey (1925) e negativa nas duas posteriores (1930, 1934). As demais provas concordes com o seu manual. Inosita, inulina, galactose, manose e reação do vermelho metila, não citadas ali, foram negativas as duas primeiras e positivas as restantes.

Em setembro de 1937 repetimos sòmente as provas de fermentação substituindo o ácido rosólco usado rotineiramente no meio de Hiss pelo vermelho de fenol, indicador que nos parecia fornecer mais precisos resultados. Confirmação das anteriores observações, com fermentações mais nítidas, conforme prevíamos.

Afastada a hipótese, a princípio aceita, de ocasional fermentação de arabinose e de sorbita, interessou-nos a investigação sorológica. Procuramos obter amostras de *S. dysenteriae* bem recentemente isoladas na expectativa de encontro de fermentadoras de arabinose e de sorbita, o que eliminaria a suspeita de correr tal comportamento por conta de cultivo artificial; também algumas de estabelecimentos de renome, embora antigas, para estudo comparativo. Conseguimos oito, das quais: três, recentes, da Secção de Disenteria, sendo uma inaglutinável; uma também recentemente isolada por Luís de Sales Gomes e inaglutinável; uma do Instituto Osvaldo Cruz, Manguinhos; uma da Faculdade de Medicina; uma do Instituto Butantã; uma da National Collection of Type Cultures, recebida dos Laboratórios Raul Leite por gentileza de Henrique Figueiredo de Vasconcelos. As quatro últimas já antigas em laboratório.

Entretanto, só em novembro de 1939 nos foi possível reencetar o trabalho e, então, as quatro primeiras amostras há pouco citadas como recentes contavam meses de cultivo artificial. Nessa verificação das novas amostras incluímos as antigas por havermos substituído, para provas fermentativas, os produtos pelos de Pfansstiehl salvo, por não disponível, glicerina (era de Wyman); acrescentado meio de Simmons, recente solução peptonada de Myers com papel impregnado de acetato de chumbo e empregado as duas variedades óticas de arabinose: *l* e *d* já notadas, por Russo (1939), comportarem-se diversamente com espécies do gênero *Pasteurella*; o restante como de início. Resultados: H₂S praticamente ausente; utilização de citrato negativa; *d*-arabinose negativa e *l*-arabinose concorde com as verificações anteriores; os demais não divergiram dos já obtidos.

Já existia, no momento, a 5.^a edição do manual de Bergey (1939), ainda hoje a mais recente. Consigna redução de nitrato pela *S. dysenteriae*, coincidindo com o que observáramos. Mantém rafinose e adonita positivas, arabinose negativa.

Separamos, bioquimicamente, em dois grupos nossas amostras que, convém frisar, jamais produziram bôlhas de gás quer em dextrose, quer em dulcita:

Grupo I — *l*-arabinose e sorbita negativas (24 amostras).

Grupo II — *l*-arabinose e sorbita positivas (7 amostras).

Designamos Grupo I e Grupo II unicamente para facilidade de exposição; esta deve ser a interpretação no decorrer dêste trabalho.

Para preliminares provas de aglutinação e de absorção cruzadas imunizamos coelhos com duas amostras de cada grupo que nos pareceram, em rápido exame, formas S. A diferenciação bioquímica foi confirmada sorològicamente.

Estaríamos em presença de entidades biológicas distintas, correspondendo as novas formas a tipo diferente e certamente incluído, na literatura, entre os "Shigas inaglutináveis" assim conhecidos por se comportarem como *S. dysenteriae* nas provas bioquímicas rotineiramente usadas para identificação desta espécie? Ou seria a variação S-R responsável pela inaglutinabilidade recíproca entre os nossos dois grupos? Propensos a admitir a primeira hipótese em razão da coincidência entre diferenças fermentativas e sorològicas e porque a literatura sempre afirmou não

divergirem as formas S e R em propriedades fermentativas, impressionava-nos, entretanto, a reserva com que se recebiam publicações registrando o isolamento de germes disentéricos culturalmente idênticos ao de Shiga mas inaglutináveis por sôro anti-Shiga, embora as endossassem, muitas vêzes, assinaturas, por tôdas as razões, respeitáveis e fortemente sugestivas fôssem as circunstâncias relatadas.

Thomson e Mackie (1917) citam casos de disenteria no Egito. Isolaram bacilos Shiga, Flexner e alguns atípicos dos quais um não fermentador de manita, com caracteres culturais de bacilo Shiga e considerado provável variante inaglutinável do tipo clássico.

Dudgeon (1929) faz referência ao "B. para-Shiga —" descrito por Dudgeon e Urquhart (1919). Isolado de 11 pacientes das Fôrças Britânicas, na Macedônia, durante a primeira guerra mundial. Casos de disenteria. Germe culturalmente idêntico ao de Shiga, sem comunidade antigênica com êle e muito menos tóxico. Assim denominado por não dar indol, em oposição ao "B. para-Shiga +", indol-positivo e não objeto de nosso trabalho.

Riding (1931) relata casos de infecção que considera interessante divulgar em vista da divergência de opiniões, no momento, quanto ao papel desempenhado pelos "B. para-Shiga" na etiologia da disenteria humana. Isolou de 4 soldados britânicos chegados a Karthoum "B. para-Shiga (indol —)" e de 2 nativos sudaneses "B. para-Shiga (indol +)". Casos de disenteria aguda. Não conseguiu germes disentéricos além desses. Provas de aglutinação revelaram serem as amostras de "B. para-Shiga (indol —)" sorolôgicamente distintas das de "B. para-Shiga (indol +)" e de bacilo Shiga e constituírem grupo homólogo.

Hazen (1938) descreve germe isolado de 9 amostras de fezes de crianças atacadas de disenteria em colônia de férias mantida para crianças de New York City supondo-o, por culturalmente semelhante ao bacilo Shiga e sorolôgicamente diverso, idêntico ao "B. para-Shiga —" de Dudgeon e Urquhart.

Grichener (1938) cita doentes seus de cujas fezes se isolaram germes disentéricos, no Instituto Bacteriológico de Buenos-Aires; de um, caso grave de disenteria, "bacilo para-Shiga negativo" conforme resultado assinado por Uriarte-Sosa.

Hormaeche e Surraco (1938), referindo-se aos tipos e frequência de *Shigella* no Uruguai, mencionam o encontro de amostra com caracteres bioquímicos de bacilo Shiga e inaglutinável por

soros antidisentéricos. Julga-a corresponder ao "para-Shiga" de Dudgeon e Urquhart mas não lhe garante a identidade por não dispor de amostra dêste tipo. Diz dar aglutinação cruzada com a amostra Andrada, isolada por Sosa, em Buenos-Aires, bioquimicamente igual e, portanto, parecer do mesmo tipo; que ambas procedem de casos disentéricos e que a sua não revela, para coelho, a toxicidade do bacilo Shiga razão porque crê não serem essas amostras variantes não aglutináveis do tipo Shiga, mas espécie distinta.

Desconhecíamos, na ocasião, outras publicações sôbre germes que se assemelhassem aos nossos. Nenhuma das citadas acima fazia referência a arabinose e sorbita.

Novamente interrompidas nossas investigações em janeiro de 1940, pudemos prosseguí-las em dezembro do mesmo ano. Já então dispúnhamos da amostra Andrada, de Sosa. Suspeitando serem ao menos alguns dos "Shigas inaglutináveis" registrados idênticos e também aos nossos havíamos recorrido a Hormaeché no sentido de obter, além de outras amostras que no momento nos interessavam, o provável "para-Shiga" por êle e Surraco isolado e que, com o de Sosa, eram os primeiros sul-americanos de que tínhamos conhecimento. Na impossibilidade de nos enviar o seu cedeu-nos, gentileza que muito agradecemos, o de Sosa que considerava idêntico.

Nessa época soubemos, por Coleman (1940), da aglutinação do germe de Hazen por sôro anti-Newcastle. Logo após lemos, em Mayfield e Gober (1941), o isolamento, em Mississipi, de 13 amostras de *Shigella* "sorbita-positiva", tipo não classificado, negativo em manita e atacando sorbita em 3-8 dias. Tôdas aglutinavam-se por sôro imune preparado com uma delas isolada de doente com sintomas clínicos de disenteria. Ausência de aglutinação com soros anti-Shiga e anti-Newcastle.

Estabelecida a identidade morfológica e bioquímica entre Andrada e as amostras componentes do Grupo II e verificado serem tôdas inaglutináveis por sôro anti-Newcastle, tínhamos, entretanto, a atenção voltada para a rugosidade de algumas. Propusemo-nos a selecionar, quanto possível, formas S e com elas preparar soros imunes para provas mais amplas de aglutinação e de absorção. Trabalho de reconhecida lentidão aumentada por novas interrupções de nossas pesquisas; suspensas em janeiro de 1941 só as retomamos em novembro de 1943. Nesse intervalo recorreremos a Carvalho Lima no sentido de obter de Sordelli, então diretor do Instituto Bacteriológico do Departamento Nacional de Higiene, em Buenos-

Aires, onde trabalhava Sosa, informações sôbre a publicação do isolamento de Andrada a que se referem Hormaeche e Surraco e da qual por êstes nos fôra cedida subcultura. Respondendo à carta de Carvalho Lima, de 29-1-1942, muito gentilmente Sordelli anexou a atenciosa informação de Sosa. Diz ter isolado a amostra em 1933, de caso de disenteria; designou-a Andrada e a considerou "Para-Shiga —" por seus caracteres bioquímicos. Esperando obter a amostra tipo para completar, com o estudo sorológico, a classificação da sua, atrasou a publicação; convencido, entretanto, de que não fôra conservada, achava que a faria sem êsse requisito. Informa, também, haver cedido sua amostra a Hormaeche para confrontá-la com a posteriormente encontrada, por êste, em Montevidéu e que se mostrou idêntica.

Parece-nos Andrada outra amostra isolada por Sosa além da registrada por Grichener pois êste cita como data de isolamento 1936 e não 1933 como informa Sosa. Além disso, não mostram relação com a designação Andrada as iniciais do doente de Grichener: F. S., nem seu domicílio: Palacios, Santa Fé.

Em fins de 1943 obtivemos de Carvalho Lima exemplar isolado de caso de disenteria e que comparado com os do Grupo II dêles não se afastava. Pouco depois, ainda no mesmo ano, sabendo de caso disentérico típico na família de uma de nossas auxiliares e que o germe isolado na subsecção competente dêste Instituto se comportava como bacilo Shiga inaglutinável interessou-nos conseguí-lo, tanto mais que se tratava de isolamento recentíssimo. Recorremos a Taunay, responsável pela subsecção; somos gratos à sua amabilidade cedendo-nos não só essa amostra, M. E. F., mas, ainda, uma outra, D. J. R., também bacilo Shiga inaglutinável, isolada quase ao mesmo tempo. Ambas, conforme esperávamos, se localizaram, por seu comportamento, no Grupo II.

Já em fase adiantada de nossas investigações, em abril de 1944, víamos, de um lado, a influência da rugosidade de culturas nas provas sorológicas refletindo, talvez, no registro de alguns "Shigas inaglutináveis"; de outro, germes disentéricos de interesse em patologia humana, manita-indol-negativos, semelhantes à *S. dysenteriae* nas provas bioquímicas rotineiras e completamente diferentes dela sorologicamente e também de *Shigella sp.* (tipo Newcastle) e que, considerados membros atípicos da 1.^a espécie e, então, figurando nos resultados como *S. dysenteriae* ocasionavam

falhas da soroterapia específica e conclusões indevidas de sua ineficácia porque levavam à aplicação de sôro anti-Shiga. Esta a face a que atribuíamos maior importância em nossas pesquisas.

Insistíamos, ainda, na obtenção de formas S de algumas amostras então R do Grupo II, inclusive Andrada, para término de nossas observações quando necessidades de serviço nos impuseram, novamente, suspendê-las até maio de 1946. Assim se justifica, por uma série de interrupções, a morosidade desta publicação.

Começavam a surgir mais alusões a germes semelhantes.

Coleman (1943) registra a ocorrência, nos Estados- Unidos, de germes bioquimicamente idênticos ao bacilo Shiga e a algumas amostras de bacilo Newcastle, aglutináveis por sôro imune preparado com amostra idêntica recebida de Mississipi (deve ser do tipo descrito por Mayfield e Gober a que já nos referimos) e não por soros anti-Shiga e anti-Newcastle.

Silva (1943) tenta, em Portugal, a classificação sorológica de bacilos disentéricos isolados em 1941, em Lisboa, durante surto epidêmico, conforme publicação de Fonseca *et al.* (1941) que não conseguimos consultar. Figuram 1 DA e 17 DB distintos do bacilo Shiga por atacarem sorbita; Silva verifica serem inaglutináveis por soros antidisentéricos e aglutinarem-se reciprocamente.

Parece-nos, assim, que a primeira referência a sorbita se faz, independentemente, por Mayfield e Gober, em Mississipi, e por Fonseca *et al.*, em Lisboa.

Gober, Stacy e Woodrow (1944) descrevem, como tipo provavelmente novo de *Shigella* não fermentadora de manita e indol-negativa, 47 amostras sorbita-positivas em 4-6 dias. Inaglutináveis por soros antidisentéricos. Antigênicamente homogêneas: sôro imune preparado com uma delas, 8524, aglutinava tôdas. Dizem não as haverem comparado com os tipos de Sachs e que Mayfield e Gober as incluíram no gênero *Shigella*, em 1941, como espécie não classificada, fermentando sorbita. São os exemplares registrados em Mississipi.

Christensen e Gowen (1944) apresentam como *S. arabinotarda nov. spec.* 15 amostras isoladas em Tunísia, África do Norte. Casos de disenteria. Caracteres morfológicos e bioquímicos indistinguíveis dos de *S. dysenteriae* salvo lenta fermentação de arabinose pela nova espécie dividida, antigênicamente, em dois tipos, A e B, correlatos com o prazo de fermentação: A, 2-5 dias; B, 7-25. Ambos

negativos em provas de aglutinação e de absorção com soros anti *dysenteriae*, *ambigua*, *paradysenteriae* e *sonnei*. De passagem citam fermentação de sorbita, em 3-5 dias, embora não a incluam quer no quadro das reações culturais, quer no sumário.

No 1.º Congresso da Confederação de Sociedades Sul-americanas de Pediatria reunido, em 1944, em Santiago, Chile, Canessa e Garces (1945) analisam a distribuição de germes dos gêneros *Shigella* e *Salmonella*, segundo exames praticados no Instituto Bacteriológico do Chile, citando 2 casos de "*Shigella parashiga* (-)". Na mesma ocasião Schwarzenberg *et al.* (1945), estudando as diarreias agudas do lactente, registram 1 caso de "*Shigella Andrada*" ocorrido no ano de 1944.

Avoluma-se a literatura.

Weil e Wieder (1945) referindo-se ao grupo Sachs advertem que a motilidade e capacidade de produção de gás de muitas amostras nêle incluídas indicam não poderem, provávelmente, ser tôdas classificadas como *Shigella*.

MacLennan (1945) afirma haver identificado entre amostras isoladas de casos de disenteria e de diarreia, na área do Mediterrâneo, todos os tipos sorológicos descritos por Sachs salvo um, indol-positivo, e obtido P25, novo, também indol-positivo. Discorda de Sachs quanto à arabinose: encontrou muitas raças Q1167 atacando-a e diversas pertencentes aos tipos arabinose-positivos de Sachs, especialmente Q454, negativas; acha que a fermentação irregular e morosa de arabinose, por muitas amostras, prova ser de valor muito duvidoso seu emprêgo em diagnóstico.

Aos poucos tínhamos, por citações, conhecimento da comunicação de Sachs. Não conseguimos consultá-la. Dada a relação que nos parecia existir entre alguns dos tipos ali descritos e os nossos novamente recorremos a Carvalho Lima; como diretor dêste Instituto talvez obtivesse de Sachs a separata que desejávamos. Em resposta à sua carta, de 30-1-46, mais um obséquo pelo que lhe consignamos o nosso reconhecimento, recebeu de Sachs, com presteza merecedora de admiração e agradecimentos, o exemplar solicitado. Foi, sobretudo, êste trabalho (1943) que alertou os pesquisadores e incentivou estudos sôbre o assunto. Nêle relata Sachs o resultado de suas investigações, durante 5 anos, sôbre novos tipos de germes manita-negativos procedentes de casos de disenteria na Índia e no Egito. Todos inaglutináveis por soros anti-Shiga, anti-Schmitz e anti-Newcastle. No grupo indol-nega-

tivo, o que focalizamos, figuram cinco novos tipos sorològicamente distintos entre si e assim agrupados, bioquimicamente, ao lado do bacilo Shiga, pela constância de suas reações de fermentação:

ARABINOSE

- +	
B. Shiga Q1167 (12 amostras)	Q771 (27 amostras) Q454 (3 amostras) Q1030 (16 amostras) A12 (10 amostras)

Portanto, só Q1167 bioquimicamente idêntico ao bacilo Shiga. Os demais diferindo por atacarem arabinose; destes, Q1030 fermentava, também, dulcita e A12 caracterizava-se pela produção de gás em pequena quantidade.

Pertence, assim, a Sachs a primeira referência a arabinose.

As amostras Q são de Quetta, na Índia; A de Abbotabad, também na Índia.

São mencionados, nessa publicação, anterior isolamento registrado em Quetta, por Large, 1934, de bacilos semelhantes aos de Shiga e Schmitz, mas inaglutináveis; de 3 raças indol-negativas citadas, em 1935, por Boyd, como inaglutináveis por sêro anti-Shiga; de 1, descrita por Archer, em 1933, diferindo do bacilo de Shiga por ser dulcita-positiva.

Consultando a comunicação de Large (1934) verificamos que, em colaboração com Sankaran, descreve, entre os germes não fermentadores de manita isolados durante epidemia de disenteria, em Quetta, grande número bioquimicamente semelhantes alguns ao bacilo Shiga e outros ao bacilo Schmitz mas sem relação sorológica com êles. Assim subdividem, bioquimicamente, os novos germes indol-negativos (também diferentes sorològicamente do bacilo Newcastle) ao lado dos bacilos Shiga e Newcastle:

DULCITA

- +	
B. Shiga 771 (11 amostras) 1167 (10 amostras)	B. Newcastle 1030 (16 amostras)

Os algarismos correspondem à numeração das amostras com que se prepararam soros-tipos.

Vê-se que os três tipos novos, todos descritos como sorològicamente distintos e associados com casos graves de disenteria, foram incluídos entre os cinco indol-negativos de Sachs ainda hoje designados pelo número da descrição original precedido da inicial que lhes acrescentou êste autor relativa à localidade.

Large e Sankaran também se referem, como Sachs, à publicação de Archer (1933) que, trabalhando em Wellington, sul da Índia, encontrou, em 2 casos, o tipo dulcita-positivo. Supõem corresponder ao 1030. Não nos foi possível consultar êste trabalho.

No de Boyd (1935) é, igualmente, mencionada a ocorrência, na Índia, de germes manita e indol-negativos divergindo antigênicamente do bacilo Shiga: 3 amostras, associadas a casos clinicamente disentéricos, das quais duas são ditas coincidirem, morfológica e bioquimicamente com o B. para-Shiga de Dudgeon e Urquhart e uma com o tipo dulcita-positivo descrito por Archer. Informa o autor não haver aglutinação cruzada entre as duas primeiras amostras.

Wheeler e Stuart (1946) conseguem os tipos de Sachs, *S. arabinotarda* e *Shigella* 8524 para trabalho comparativo incluindo culturas por êles isoladas. Mostram a identidade sorològica de Q771, *S. arabinotarda* tipo A e *Shigella* 8524 de um lado e, de outro, de Q1167 e *S. arabinotarda* tipo B. Confirmam a existência de 5 tipos sorològicos entre as espécies manita-indol-negativas, patogênicas para o homem, do gênero *Shigella*: *S. dysenteriae* e quatro dos tipos Sachs (Q771, Q1167, Q454, Q1030). Excluem, conforme a previsão de Weil e Wieder, A12 por ser produtor de gás; comentando o comportamento das raças Newcastle, também produtoras de gás mas relacionadas sorològicamente com *S. paradysenteriae*, admitem a possibilidade de se incluir a raça A12 no gênero *Shigella* no caso de se mostrar relação sorològica entre ela e outras espécies dêsse gênero. Entre os indol-positivos também fazem exclusões baseadas em motilidade e produção de gás; acrescentam 1831, novo, indol-positivo. Ao contrário dos resultados de Sachs, os seus revelam ser Q1167 arabinose-positiva e algumas amostras Q1030 dulcita-negativas. Dizem que Christensen e Gowen deram como lentos fermentadores de arabinose seus tipos correspondentes a Q771 e Q1167 ao passo que, para êles, mais ou menos 20% dessas amostras produziram reação ácida em caldo-bromocresol púrpura em 24 horas e repetidas provas não foram

constantes quanto ao prazo de fermentação. Verificam que o tipo Q771 é, como Q1030, serbita-positivo tardio; Q454 e bacilo Shiga, negativos; do tipo Q1167 há raças positivas e raças negativas.

Quase na mesma ocasião Fulton e Curtis (1946) registram exemplar procedente de Texas correspondendo ao tipo 8524. Comparando-o com amostras dêste tipo cedidas por Gober e com 7 de bacilo Shiga concluem serem as de Gober e a sua arabinose-serbita-positivas e as de bacilo Shiga negativas.

Finalmente Ewing (1946) diz, de passagem, ter sido verificada a identidade entre 2 raças por êle isoladas perto de Oran, na Algéria, em 1943 e, respectivamente, os tipos A e B de Christensen e Gowen e Q771 e Q1167 de Sachs. Mais tarde (1947), em colaboração com Gravatti, registrando germes do gênero *Shigella* encontrados na área do Mediterrâneo, menciona 47 amostras de Q771, 9 de Q1167 e 8 de Q1030.

Vê-se grande a atenção dada, nos últimos anos, a bactérias de interêsse em patologia humana pertencentes ao grupo manita-negativo do gênero *Shigella*. A medida que surgiam as publicações se evidenciava que descrições independentes do mesmo germe se faziam. Coube a Wheeler e Stuart, como vimos, confirmá-lo.

Por nossa vez reiniciamos, em maio de 1946, as investigações. Obtidas as formas S desejadas fizemos revisão geral de nossas amostras, com acréscimo de algumas provas; terminada em novembro, estabelecendo identidade morfológica, tintorial, cultural, bioquímica e sorológica entre os nossos 10 exemplares *l*-arabinose-sorbita-positivos e Andrade, distintos de *S. dysenteriae*, começávamos a redigir esta comunicação avançando corresponderem, talvez, a algum dos tipos Sachs dos quais, infelizmente, não dispúnhamos para confronto quando Taunay, a quem novamente agradecemos, nos ofereceu subculturas de Q771 e Q1167 recebidas de Wheeler, Connecticut State Department of Health e sôro imune preparado com a primeira. Pudemos verificar corresponderem nossos exemplares *l*-arabinose-sorbita-positivos, Andrade e Q771; embora bioquimicamente idêntico, Q1167 diferia sorologicamente.

Passamos a descrever nossas observações. 37 amostras estudadas:

27 procedentes de casos clínicos de disenteria e isoladas neste Instituto;

C., também de caso de disenteria, isolada por Carvalho Lima;

MEMBROS MANITA-INDOL-NEGATIVOS DO GÊNERO *SHIGELLA* 19

- M. C. isolada por Luís de Sales Gomes, de paciente com passadão disentérico;
Andrada isolada por Sosa, Buenos-Aires, caso disentérico;
S. dysenteriae Parker, National Collection of Type Cultures;
S. dysenteriae Berger, Paris;
S. dysenteriae 94, Instituto Oswaldo Cruz, Manguinhos;
S. dysenteriae 1216, Instituto Butantã;
S. dysenteriae Ortiz, Faculdade de Medicina;
Shigella sp. Sachs Q771, amostra 1909 e *Shigella* sp. Sachs Q1167, amostra 1913, Connecticut State Department of Health.

CARACTERES MORFOLÓGICOS, TINTORIAIS, CULTURAIS E BIOQUÍMICOS

Verificados, como dissemos, repetidas vêzes e com longos intervalos salvo os padrões Q771 e Q1167; recebidos no encerramento dêste trabalho foram ensaiados apenas uma vez.

Bastonetes curtos, Gram-negativos, de extremidades arredondadas e de acentuado pleomorfismo em culturas antigas em laboratório e, sobretudo, nas rugosas; são freqüentes, nestes casos, longos filamentos. Não produtores de endósporos; imóveis em caldo quer a 37°C, quer a 18-20°C; de crescimento fácil em meios de cultura comuns; incapazes de liquefazer gelatina, utilizar citrato e produzir indol; H₂S praticamente ausente pelo processo descrito; uréia (método de Stuart *et al.*, 1945), catalase e reação de Voges-Proskauer negativas; reação do vermelho metila e redução de nitrato a nitrito positivas. Coagulação de leite tornassolado, ausente; apenas leve acidez seguida ou não de ligeira alcalinidade.

Em meio semi-sólido de Hiss preparado com infusão de carne isenta de açúcar, indicador vermelho de fenol e carboidratos, políálcoois e glicósides Pfanstiehl, observação durante 21 dias a 37°C, inalterados: adonita, *d*-arabinose, dulcita, inosita, inulina, isodulcita, lactose, manita, rafinose, salicina e xilose; acidez, sem gás, em 24 horas: dextrose, galactose, levulose e manose; acidez, sem gás, entre 48 horas e 10 dias: glicerina (Wyman).

Sorbita e *l*-arabinose dividiram, distintamente, em dois grupos os exemplares:

- Grupo I — *l*-arabinose e sorbita negativas (24 amostras, figurando entre elas as de *S. dysenteriae*: Parker, Berger, Ortiz, 94, 1216).

Grupo II — *l*-arabinose e sorbita positivas (13 amostras: Q771, Q1167, Andrada e 10 nossas entre as quais C., M.C., M.E.F., D.J.R.).

Repetimos o que dissemos em o início desta publicação: as designações Grupo I e Grupo II são empregadas apenas para facilidade de exposição.

ARABINOSE E SORBITA — Ressaltam, no tocante às propriedades fermentativas dos novos tipos manita-indol-negativos, as divergências entre autores em relação a arabinose e sorbita, sobretudo quanto ao prazo de fermentação. *S. dysenteriae*, concorda-se: é negativa em ambas.

Reunimos, no Quadro I, os resultados que, a respeito dessas fermentações, se publicaram sobre os tipos acima. Nêles conservamos, atendendo às conclusões de Wheeler e Stuart, reunidas *Shigella* 8524, *S. arabinotarda* A e *Shigella* Q771; por sua vez reunidas *S. arabinotarda* B e *Shigella* Q1167.

Correspondentes que são o padrão Q771, Andrada e nossas 10 amostras do Grupo II organizamos, sobre seu comportamento em *l*-arabinose e sorbita, o Quadro II em que figura, também, o padrão Q1167 incluído, bioquimicamente, naquele grupo e afastado, depois, em provas sorológicas. Não trabalhamos com Q1030 e Q454.

Observação sempre durante 21 dias, meio semi-sólido de Hiss preparado com infusão de carne isenta de açúcar; *l*-arabinose e sorbita Pfanstiehl, indicador vermelho de fenol salvo nas duas primeiras verificações (ácido rosólico).

Destaca-se o seguinte:

1 — Em repetidas provas em épocas bem diversas, como se vê no Quadro II, nossas 10 amostras do Grupo II e Andrada, isto é, correspondentes ao tipo Q771 nunca deixaram de fermentar *l*-arabinose e sorbita. Também positivos para êste tipo são os resultados dos demais autores, no Quadro I, excluído o de Mac Lennan que não esclarece o comportamento de Q771. As amostras do Grupo I: *S. dysenteriae*, já o dissemos, sempre negativas, também concordando com as comunicações dos outros autores. O padrão Q771 positivo em prova única.

Concedem, assim, tais resultados valor diferencial à prova de fermentação de *l*-arabinose e sorbita entre *S. dysenteriae* e o tipo Q771. Entretanto, o padrão Q1167 também foi positivo em

MEMBROS MANITA-INDOL-NEGATIVOS DO GÊNERO *SHIGELLA* 21

QUADRO I

	AMOSTRAS														
	<i>Shigella</i> 8524 <i>Shigella</i> Q 771 <i>S. arabino-</i> <i>tarda</i> A		<i>Shigella</i> Q 1167 <i>S. arabino-</i> <i>tarda</i> B		<i>Shigella</i> Q 1030		<i>Shigella</i> Q 454								
	Arabinose	Sorbita	Arabinose	Sorbita	Arabinose	Sorbita	Arabinose	Sorbita							
Mayfield e Gober, 1941 (<i>Shigella</i> "sorbita-positiva". Conclui-se, por Gober <i>et al.</i> , 1944, ser <i>Shigella</i> 8524.) Gelose semi-sólida. Prazo não citado.		+													
Sachs, 1943 (<i>Shigella</i> Q 771, <i>Shigella</i> Q 1167, <i>Shigella</i> Q 1030, <i>Shigella</i> Q 454). Meio de cultura não citado. 14 dias de observação.	+	1	Consi- derada sem va- lor dife- rencial	-	Consi- derada sem va- lor dife- rencial	+	1	Consi- derada sem va- lor dife- rencial	+	1	Consi- derada sem va- lor dife- rencial				
Gober, Stacy e Woodrow, 1944 (<i>Shigella</i> 8524). Meio de cultura não citado. 21 dias de observação.			+												
Christensen e Gowen, 1944 (<i>S. arabinotarda</i> A e B). Caldo, vermelho de fenol; uma série, autoclave; uma, vela Seitz. 15-40 dias de observação.	+	2-5	+	3-5	+	7-25	+	3-5							
MacLennan, 1945 (<i>Shigella</i> Q 771, <i>Shigella</i> Q 1167, <i>Shigella</i> Q 1030, <i>Shigella</i> Q 454). Meio de cultura não citado. 21 dias de observação.	Considera de valor duvidoso a arabinose por serem muitas amostras Q 1167 positivas, diversas dos tipos "arabinose-positivos" de Sachs negativas (principalmente Q 454) e morosa e irregular a fermentação de outras. Não empregou sorbita.														
Fulton e Curtis, 1946 (<i>Shigella</i> 8524). Melo com triptose, bromocresol púrpura. 7 dias de observação.	+	lenta	+	lenta											
Wheeler e Stuart, 1946 (<i>Shigella</i> Q 771, <i>S. arabinotarda</i> A, <i>Shigella</i> 8524, <i>Shigella</i> Q 1167, <i>Shigella arabinotarda</i> B, <i>Shigella</i> Q 1030, <i>Shigella</i> Q 454). Caldo, bromocresol púrpura. 28 dias de observação.	+	1-28	+	1-28	+	1-28	-	ou +	+	1	+	1-28	+	1	-

* Os algarismos representam o número de dias.

** No quadro de Fulton e Curtis só consta acidez; na enumeração dos característicos das espécies, acidez lenta.

*** Wheeler e Stuart esclarecem que, neste caso, a fermentação se dá entre 24 horas e 28 dias; nos demais em 24 horas a 28 dias.

QUADRO II

	AMOSTRAS														Shig. Q. 771	Shig. Q. 1167	
	1	M.P.	N.T.	A.M.	R.R.	J.O.	M.C.	Andr.	C.	M.E.F.	D.J.R.	Arabinose Sorbita	Arabinose Sorbita	Arabinose Sorbita			
Fevereiro de 1937 . . .	1* 1	10 10	12 1	10 1	10 1												
Junho de 1937 . . .	3 5	6 1	6 1	7 2	5 2												
Setembro de 1937 . . .	10 4	12 2	5 7	5 5	5 5												
Dezembro de 1939 . . .	2 2	5 5	5 5	6 1	5 2	5 2	5 1										
Dezembro de 1940 . . .								10 5									
Dezembro de 1943 . . .								10 3	1 2	10 4	10 4						
Fevereiro de 1944 . . .								2 2	1 2	1 3	2 2						
Maio de 1946	7 3	6 3	7 6	7 3	6 3	8 5	15 4	2 2	8 2	8 2	8 2	8 2					
Novembro de 1946 . . .	5 4	5 5	5 7	5 5	5 5	5 4	5 5	5 1	5 5	5 4	5 2						
Janeiro de 1947															4	21	7

* Os algarismos representam o número de dias. Resultados dentro do prazo citado; ex.: 1 indica fermentação dentro de 24 horas (talvez 8, 10, 18 horas, etc.).

l-arabinose e sorbita, idêntico, pois, aos exemplares tipo Q771 inclusive o respectivo padrão e Andrada, embora sorolôgicamente distintos como veremos sob o subtítulo REAÇÕES SOROLÓGICAS. Imprescindível se faz, então, a tipagem com sôro padrões.

Como dissemos, não estudamos os tipos Q1030 e Q454 que se sabe serem sorolôgicamente distintos entre si e também de Q771 e Q1167. Entretanto, o trabalho de Wheeler e Stuart, dos mais completos e abrangendo todos os tipos Sachs, revela a variabilidade de comportamento dos tipos indol-negativos em sorbita ao passo que arabinose é fermentada por todos. Assim, os nossos resultados comparados com os dos autores acima, a não ser que os contrariem investigações futuras, permitem atribuir a *l*-arabinose valor diferencial na identificação de *S. dysenteriae* e tipos indol-negativos de Sachs; êstes a fermentam e aquela espécie não.

Distinção entre os tipos só a sorologia estabelece, conclusão a que chegam, também, Wheeler e Stuart.

Insistimos em ser *d*-arabinose imprópria porque não a atacam os germes quer do Grupo I, quer do Grupo II. Embora não façam os autores citados menção à variedade ótica empregada, seus resultados positivos indicam *l*.

2 — E' patente, no Quadro II, a variabilidade do prazo de fermentação de *l*-arabinose e de sorbita por amostras tipo Q771.

Wheeler e Stuart também evidenciam essa irregularidade pelo longo prazo citado: 1 a 28 dias. Vê-se, ainda, concordarem os nossos resultados com os seus quanto à ocorrência de fermentação de *l*-arabinose por Q771 mesmo em 24 horas (embora mais raramente) e não sempre tardia como estabelecem Christensen e Gowen.

Verificando Q1167 em prova única e com amostra única registramos lenta fermentação de sorbita contrastando com o prazo de 24 horas de Wheeler e Stuart para as amostras positivas desse tipo.

Atribuímos à diversidade de condições experimentais as discordâncias em fermentação, principalmente quanto ao prazo: diferentes meios de cultura e processos de esterilização, indicadores de maior ou menor sensibilidade, talvez carboidratos, poliálcoois e glicósides de procedências diversas (não são citadas), prazos vários de observação (é possível que Q1167 fôsse arabinose-positiva para Sachs se observada em mais longo período).

LACTOSE — Nossa opinião acima expendida sôbre diferenças em reações de fermentação ainda mais se aplica à *S. dysenteriae* em razão de ser a constância de propriedades bioquímicas reconhecida um de seus mais distintivos característicos.

Gardner (1929) diz de leve ataque à lactose, pelo bacilo Shiga, segundo Winter (1912), sendo, aliás, a acidez produzida geralmente muito fraca para ser revelada. Acrescenta que se pode, às vezes, ver transitória acidez em meios com lactose inoculados com bacilo Shiga, mas inconfundível com a intensa embora tardia reação ácida causada pelo tipo Sonne.

Em lactose Wheeler e Stuart obtiveram com 70% de suas amostras de *S. dysenteriae* fraca reação ácida, entre 14 e 28 dias, empregando caldo-bromocresol púrpura quer esterilizado por aquecimento, quer por filtração em vela Berkefeld.

Em nossas condições experimentais nunca se revelou essa reação, seja com *S. dysenteriae*, seja com as amostras tipo Q771.

RAFINOSE — Só Christensen e Gowen se referem a alguns exemplares de *S. arabinotarda* fermentando, tardiamente, rafinose esterilizada por aquecimento e negativos quando a esterilização se fazia por passagem em vela Seitz.

Nunca obtivemos fermentação de rafinose por quaisquer amostras de nossos dois grupos embora sempre empregando, conforme a rotina do Instituto, esterilização por aquecimento.

MALTOSE E SACAROSE — Por seus resultados inconstantes já perderam o prestígio que chegaram a gozar até como diferenciais nos primórdios das investigações sobre germes disentéricos. Embora assim, damos, abaixo, os resultados positivos divulgados pelos que investigaram os tipos Sachs indol-negativos, conjuntamente com os positivos de *S. dysenteriae*:

AUTORES	AMOSTRAS	MALTOSE	SACAROSE
Large e Sankaran	<i>S. dysenteriae</i> (88 amostras)		+ leve 25 dias
Fulton e Curtis	<i>Shigella</i> 8524 (3 amostras)	+ lenta	
Wheeler e Stuart	<i>Shigella</i> Q771 (26 amostras)	— ou + 1-28 dias	
	<i>Shigella</i> Q1167 (5 amostras)	+ 1-28 dias	

Tôdas as amostras de ambos os nossos grupos variaram em maltose: negativas ou tardiamente positivas, de maneira inconstante.

Em sacarose idem quanto ao Grupo I, isto é, *S. dysenteriae*; negativo o Grupo II: padrões Q771 e Q1167, amostra Andrada e as 10 nossas de tipo Q771.

Sabemos da possibilidade de falsas reações positivas em maltose e sacarose, quando esterilizadas em autoclave, pois êste processo pode causar parcial degradação de tais carboidratos, e germes não fermentadores das substâncias originais são capazes de atuar sobre os produtos resultantes, com formação de ácido. Large e Sankaran não mencionam o processo de esterilização empregado. Fulton e Curtis, aquecimento; registrando, porém, resultados de

observação de apenas 7 dias dizem, a respeito de maltose, que talvez a fermentassem todos os germes estudados (estão incluídas 7 amostras de bacilo Shiga) se observada por mais tempo. Wheeler e Stuart empregaram, para lactose, esterilização em vela Berkefeld e esterilização por aquecimento, como vimos; nada esclarecem sobre os demais carboidratos, poliálcoois e glicósides.

Dado, assim, o devido valor à fermentação de maltose e sacarose, devemos, contudo, salientar a ausência de fermentação da última pelos tipos indol-negativos de Sachs registrada, unânimeamente, pelos que com eles trabalhamos, a despeito da não uniformidade de processos empregados.

REAÇÕES SOROLÓGICAS

No preparo de soros aglutinantes obedecemos às diretrizes do Standard Methods, N. Y. State Dept. of Health, Wadsworth (1939).

Para as reações empregamos antígenos vivos, culturas de 18 horas; soros monovalentes, diluições dobradas a partir de 1:80; método macroscópico, em tubos; incubação em banho-maria a 50-52°C, 18-20 horas.

As provas diretas e cruzadas de aglutinação e de absorção de aglutininas revelaram identidade sorológica das amostras do Grupo I e existência de dois tipos entre as do Grupo II: um representado, apenas, pelo padrão Q1167 e o outro pelo padrão Q771, Andrada e os 10 exemplares nossos.

E' essencial o emprêgo de culturas na fase S, forma normal dos germes em questão, dada a conhecida interferência da variação S-R em resultados sorológicos. Julgamos de interêsse o relato de nossas observações a respeito.

VARIAÇÃO S-R — Empregamos sempre, nas provas de soro-aglutinação, solução a 0,85% de NaCl. Algumas vêzes a auto-aglutinação das suspensões R de ambos os grupos impediu a realização das reações; conseguimos, entretanto, outras estáveis e a estas se referem os resultados que daremos sobre a forma R, seja do Grupo I, seja do Grupo II.

Arkwright (1921), ao divulgar suas importantes observações sobre o fenômeno de dissociação bacteriana, revelou a estabilidade de formas S de bacilo Shiga em solução a 0,85% de NaCl e a aglutinação espontânea de formas R. Estabelece, então, a necessi-

dade de soluções mais fracas para provas de aglutinação com estas raças auto-aglutinantes. Recomenda, como limites, 0,42% — 0,1% por ter verificado que "a porcentagem de sal que leva à aglutinação no caso de diferentes raças varia consideravelmente". Mais tarde (1924), em colaboração com Goyle, conclui que suspensões contendo ambos os antígenos: S e R em geral não se aglutinam espontaneamente em solução a 0,85% de NaCl; que suspensões estáveis em solução de NaCl mais fraca do que a 0,85% se mantêm por aquecimento a 100°C, 10-60 minutos, quando S mas geralmente se aglutinam e mesmo em soluções ainda mais diluídas quando R; que aquecimento prévio de suspensões S em solução fraca de NaCl não prejudica a sôro-aglutinação e, às vezes, até a intensifica.

Discordam os resultados dêstes autores dos nossos em haver-mos obtido, na maioria das vezes, suspensões R estáveis em solução a 0,85% de NaCl não aquecida.

No seguinte coincidem, embora empregássemos solução a 0,85% de NaCl e não mais fraca como êles:

1 — Aquecimento a 100°C mantinha a estabilidade de suspensões S e não a de R; com esta fase ocorria precipitação.

2 — Em provas de sôro-aglutinação o aquecimento prévio de suspensões S não prejudicava e, ao contrário, muitas vezes aumentava seu título. Nada podemos dizer sôbre suspensões R porquanto o aquecimento precipitava as nossas, como dissemos, não nos permitindo proceder às reações; não empregamos concentrações mais baixas como o fizeram Arkwright e Goyle.

Pampana (1931) atribuindo, após trabalho experimental, à dissociação bacteriana os resultados de Alessandrini e Sabatucci (1931) sôbre a reação da tripaflavina, registra 5 amostras de bacilo Shiga fortemente aglutináveis pela tripaflavina e apresentando em caldo crescimento flocoso em meio límpido, ao passo que 1 negativa pela tripaflavina turvava uniformemente o caldo. Eram formas R e S, respectivamente. Nenhuma, entretanto, revelou aglutinabilidade por solução a 0,85% de NaCl não aquecida.

Waler (1935), em estudo minucioso sôbre dissociação de bacilos disentéricos, estabelece realizar-se gradativa ou abruptamente e, além das fases S e R de Arkwright, reconhece outras registrando os seguintes estádios:

S — Sr — Rs — R — Rn

Rn representa degradação de R e bactérias nessa fase são antígenos extremamente pobres; em ambas há sedimentação em caldo; R é de baixa estabilidade em solução salina e Rn de muito baixa estabilidade. Sr e Rs são estádios intermediários; as bactérias então apresentam propriedades intermediárias entre as das fases S e R.

Assim, algumas hipóteses nos ocorrem: 1 — As suspensões instáveis que registramos em solução a 0,85% de NaCl não aquecida seriam Rn; as estáveis porém sofrendo precipitação pelo aquecimento (o que não se dá com S) seriam R, correspondendo estas às de Pampana e as instáveis às de Arkwright e Goyle; neste caso, Pampana teria trabalhado com formas R e Arkwright e Goyle com Rn. 2 — Não seriam de fase pura nossas suspensões R estáveis quando não aquecidas; talvez contivessem fração S, fôsem Rs, já que Arkwright e Goyle concluem pela não aglutinação espontânea em solução a 0,85% de NaCl não aquecida, em geral, de suspensões contendo ambos antígenos: S e R. 3 — Talvez nem sempre haja precipitação em solução a 0,85% de NaCl não aquecida da fase R de *S. dysenteriae* e assim se justifiquem os resultados positivos de Arkwright e Goyle, negativos de Pampana e variáveis nossos. Aceita a 1.^a hipótese surgiria uma interrogação: como Arkwright e Goyle conseguiram soros imunes de elevado título se Waaler (1936) afirma que as formas Rn não produzem anticorpos quando inoculadas em coelho? A 2.^a hipótese levantaria, também, dúvidas. Waaler observa que bactérias nos estádios Rs e Sr apresentam propriedades intermediárias entre as de R e S. Fôsem as nossas Rs, como se explicaria a absoluta ausência de aglutinação cruzada entre elas e as formas S demonstrada em quadros a seguir? E, também, se fôsem Rs, qual a explicação para sua irreversibilidade, adiante citada, coincidindo com os característicos da fase R e não com os de Rs estabelecidos por Waaler e citados a seguir? Mais provável, então, nos parece a 3.^a hipótese. Em qualquer dos casos os resultados que daremos sobre as suspensões supostas R dirão da necessidade de se empregar, nas provas de sôro-aglutinação, culturas na fase S, normal dos germes de que tratamos. Já Neter (1942) preveniu que a falta de relacionar dissociação bacteriana e alterações na estrutura antigênica do bacilo Shiga é causa de muitos registros, na literatura, de raças inaglutináveis.

Julgamos convenientes as considerações acima para interpretação da designação R em nossas reações.

Grupo I — Compreendia 10 amostras S e 14 R. Para o preparo de soros específicos escolhemos como representantes: *S. dysenteriae* Parker (S), *S. dysenteriae* Berger (R) e *S. dysenteriae* 94 (R). Seguem-se, no Quadro III, os resultados das reações de aglutinação.

QUADRO III

N.º DE AMOSTRAS	FASE	SORO IMUNE MONOVALENTE		
		<i>S. dysenteriae</i> Parker (S) Título 1:2560	<i>S. dysenteriae</i> Berger (R) Título 1:640	<i>S. dysenteriae</i> 94 (R) Título 1:640
10 (inclusive <i>S. dysenteriae</i> Parker)	S	1:1280 ou 1:2560	—	—
14 (inclusive <i>S. dysenteriae</i> Berger e <i>S. dysenteriae</i> 94)	R	—	1:160, 1:320 ou 1:640.	1:160, 1:320 ou 1:640.

Vê-se que as formas S e R só são aglutinadas pelos respectivos soros imunes e que R têm propriedades aglutinogênicas mais reduzidas. Este comportamento de *S. dysenteriae* confirma as observações de Calalb e Crivat (1936): soro de coelho imunizado com bacilo Shiga S aglutina fortemente amostras Shiga S e não as de fase R; soro anti-Shiga R aglutina amostras de bacilo Shiga R em título mais baixo que o do soro anti-S para formas homólogas e não aglutina bacilos Shiga S.

Arkwright registra muito leve aglutinação cruzada entre as formas S e R de bacilo Shiga.

Afastam-se os resultados de Thibault e Braunberger (1935 a, b): nunca soros anti-Shiga R aglutinam a forma S, mas soros anti-Shiga S aglutinam francamente R embora bem menos que S. Também divergem seus resultados dos de Calalb e Crivat e dos nossos registrando soros anti-Shiga R de título tão elevado quanto os de anti-Shiga S.

É provável, atendendo às conclusões de Waaler, serem fases não puras as das culturas de Thibault e Braunberger. Reforça esta hipótese o fato de haverem estes autores, logo depois (1936), registrado igual toxicidade para as fases S e R de uma amostra de *S. dysenteriae*, o que contraria a opinião prevaecente a respeito e provoca, de Neter, esta advertência: "A observação de Thibault e Braunberger, que registraram que colônias lisas e rugosas de uma raça Shiga eram igualmente tóxicas, requer confirmação".

Waalder afirma ser possível reversão de R a S enquanto não é completa a variação a R; estabelecido êste estágio não mais há reversão. Mostra que variantes R podem apresentar colônias lisas e a isto atribui muita controvérsia sôbre reversibilidade R-S.

Prova de irreversibilidade do estágio R de *S. dysenteriae* parece oferecer, também, o trabalho de Meyer e Goldenberg (1933). Obtiveram reversão de R a S por cultura em presença de vacina S mas não conseguiram reproduzir a experiência, o que faz crer haver sido o primeiro resultado obtido com variante não absolutamente R.

Nós em vão tentamos obter formas S das amostras *S. dysenteriae* Berger e *S. dysenteriae* 94. Conservaram-se persistentemente R. Idem com algumas outras da mesma espécie.

Por absorção de aglutininas confirmou-se a distinta estrutura antigênica das duas fases de nossas culturas do Grupo I. Vê-se pelo Quadro IV.

QUADRO IV

SÔRO IMUNE MONOVALENTE	ABSORVIDO COM	AGLUTINAÇÃO COM CULTURA			
		<i>S. dysenteriae</i> Parker (S)	Amostras <i>S. dysenteriae</i> (S)	<i>S. dysenteriae</i> Berger (R)	Amostras <i>S. dysenteriae</i> (R)
<i>S. dysenteriae</i> Parker (S) Título 1:2560	Amostras <i>S. dysenteriae</i> (S) isoladamente <i>S. dysenteriae</i> Parker (S) Amostras <i>S. dysenteriae</i> (R) isoladamente	— 1:2560	—		
<i>S. dysenteriae</i> Berger (R) Título 1:640	Amostras <i>S. dysenteriae</i> (R) isoladamente <i>S. dysenteriae</i> Berger (R) Amostras <i>S. dysenteriae</i> (S) isoladamente			— 1:640	—

Grupo II — Era constituído por 13 exemplares dos quais conseguimos selecionar formas absolutamente S e, para confronto, também formas R das amostras Andrada e M.E.F. Preparamos soros monovalentes com as formas S de A.M., C., D.J.R. e com as formas S e R de M.E.F. e Andrada. No Quadro V se vêem os resultados das reações de aglutinação incluindo o sôro imune Q771 (S) obtido de Taunay.

QUADRO V

AMOSTRAS	SÔRO IMUNE MONOVALENTE								
	FASE	A. M.	C.	D. J. R.	Shig.	M. E. F.		Andrada	
		(S) Título 1:5120	(S) Título 1:2560	(S) Título 1:1280	(S) Título 1:1280	(S) Título 1:1280	(S) Título 1:1280	(R) Título 1:160	(S) Título 1:1280
<i>Shigella</i> Q 1167.	S	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Shigella</i> Q 771 e 9 exemplares dos A. A.	S	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	—	1:1280	—
		1:2560	1:2560	1:2560	1:2560	1:2560	—	1:2560	—
		ou 1:5120	ou 1:5120	ou 1:5120	ou 1:5120	ou 1:5120	ou 1:5120	—	ou 1:5120
M. E. F.	S	1:1280	1:5120	1:2560	1:2560	1:1280	—	1:5120	—
	R	—	—	—	—	—	1:160	—	1:320
Andrada.	S	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	—	1:1280	—
	R	—	—	—	—	—	1:320	—	1:320

M.E.F. e Andrada estão destacadas de *Shigella* Q771 e 9 exemplares dos AA. para demonstração dos resultados de suas fases S e R.

É evidente no quadro acima:

1 — A diferença antigênica entre *Shigella* Q1167 e todos os exemplares tipo Q771, inclusive M.E.F. e Andrada. Não preparamos sôro com o padrão Q1167 não só para evitar que esta comunicação, já em sua fase final quando o recebemos, se protelasse ainda mais, como porque o dispensavam os resultados perfeitamente distintos do Quadro V e, a seguir, os do Quadro VI.

2 — A diferença antigênica entre as formas S e R de M.E.F. e também de Andrada, isto é, de amostras tipo Q771, a exemplo do que se deu com *S. dysenteriae*.

3 — Serem mais reduzidas as propriedades aglutinogênicas das formas R também como se viu com *S. dysenteriae*.

O quadro acima revela, ainda, fato freqüente em reações de aglutinação: variam a aglutinabilidade e a capacidade aglutinogênica de amostras da mesma espécie e, muitas vêzes, o título de aglutinação é mais baixo para a amostra antigênica do que para as outras.

Damos, no Quadro VI, as reações de absorção confirmando a existência de 2 tipos sorológicos entre as amostras S de nosso

Grupo II. Para poupança de trabalho e tempo não realizamos, por dispensáveis, absorções cruzadas entre formas S e R idênticas às efetuadas com *S. dysenteriae*.

QUADRO VI

SÓRO IMUNE MONOVALENTE	ABSORVIDO COM	AGLUTINAÇÃO COM CULTURA				
		<i>Shigella</i> Q 771 (S)	Andrada (S)	M. E. F. (S)	A. M. (S)	Restantes tipo Q 771 (S)
<i>Shigella</i> Q 771 (S) Título 1:1280	<i>Shigella</i> Q 1167 (S) <i>Shigella</i> Q 771 (S) Andrada, M. E. F., A. M. e restantes tipo Q 771, isolada- mente (tôdas S)	1:1280 —	—	—	—	—
Andrada (S) Título 1:1280	<i>Shigella</i> Q 1167 (S) Andrada (S) <i>Shigella</i> Q 771, M. E. F., A. M. e restan- tes tipo Q 771, isola- damente (tôdas S)	—	1:1280 —	—	—	—
M. E. F. (S) Título 1:1280	<i>Shigella</i> Q 1167 (S) M. E. F. (S) <i>Shigella</i> Q 771, An- drada, A. M. e res- tantes tipo Q 771, isoladamente (tôdas S)	—	—	1:1280 —	—	—
A. M. (S) Título 1:5120	<i>Shigella</i> Q 1167 (S) A. M. (S) <i>Shigella</i> Q 771, An- drada, M. E. F. e restantes tipo Q 771, isoladamente (tôdas S)	—	—	—	1:5120 —	—

Finalmente, o Quadro VII, de recíprocas reações de aglutinação e de absorção entre formas S de nossos Grupos I e II, confirma a diferença de composição antigênica entre *S. dysenteriae* e os tipos Q771 e Q1167 por sua vez distintos entre si.

Dada a prática corrente de se repetirem com antígenos aquecidos as reações de aglutinação de certas espécies do gênero *Shigella* que não reagem com os soros adequados, procedemos a algumas provas de aglutinação cruzada, nessas condições, com suspensões S de amostras de ambos os grupos. Confirmou-se a diferença entre *S. dysenteriae*, tipo Q771 e tipo Q1167.

QUADRO VII

SORO IMUNE MONOVALENTE	ABSORVIDO COM	AGLUTINAÇÃO COM CULTURA					
		<i>S. dysenteriae</i> Parker (S)	<i>Shigella</i> Q 1167 (S)	<i>Shigella</i> Q 771 (S)	Andrada (S)	M. E. F. (S)	A. M. (S)
GRUPO I: <i>S. dysenteriae</i> Parker (S)		1:2560	—	—	—	—	—
	<i>Shigella</i> Q 1167 (S)	1:2560	—	—	—	—	—
	<i>Shigella</i> Q 771 (S)	1:2560	—	—	—	—	—
	Andrada, M. E. F., A. M., isoladamente (tôdas S)	1:2560	—	—	—	—	—
GRUPO II: <i>Shigella</i> Q 771 (S)		—	—	1:1280	1:1280	1:2560	1:2560
	<i>S. dysenteriae</i> Par- ker (S)	—	—	1:1280	—	—	—
	<i>Shigella</i> Q 1167 (S)	—	—	1:1280	—	—	—
	<i>Shigella</i> Q 771 (S)	—	—	—	—	—	—
	Andrada, M. E. F., A. M., isoladamente (tôdas S)	—	—	—	—	—	—
Andrada (S)		—	—	1:2560	1:1280	1:5120	1:2560
	<i>S. dysenteriae</i> Par- ker (S)	—	—	—	1:1280	—	—
	<i>Shigella</i> Q 1167 (S)	—	—	—	1:1280	—	—
	Andrada (S)	—	—	—	—	—	—
	<i>Shigella</i> Q 771, M. E. F., A. M., iso- ladamente (tôdas S)	—	—	—	—	—	—
M. E. F. (S)		—	—	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280
	<i>S. dysenteriae</i> Par- ker (S)	—	—	—	—	1:1280	—
	<i>Shigella</i> Q 1167 (S)	—	—	—	—	1:1280	—
	M. E. F. (S)	—	—	—	—	—	—
	<i>Shigella</i> Q 771, Andrada, A. M., iso- ladamente (tôdas S)	—	—	—	—	—	—
A. M. (S)		—	—	1:1280	1:1280	1:1280	1:5120
	<i>S. dysenteriae</i> Par- ker (S)	—	—	—	—	—	1:5120
	<i>Shigella</i> Q 1167 (S)	—	—	—	—	—	1:5120
	A. M. (S.)	—	—	—	—	—	—
	<i>Shigella</i> Q 771, Andrada, M. E. F., isoladamente (tôdas S)	—	—	—	—	—	—

PATOGENIA

Nossos 10 exemplares manita-indol-negativos do Grupo II são associados a casos clínicos de disenteria. Alguns sabemos terem sido isolados nos primeiros dias de moléstia, de fezes apresentando muco e sangue e das quais não se conseguiram outros germes disentéricos; sôbre os restantes faltam-nos estas informações. Andrada, conforme esclarece Sosa, procede, também, de caso de disenteria.

No preparo de soros imunes verificamos não revelarem essas amostras, para coelho, a toxicidade da *S. dysenteriae*, como passamos a descrever.

Imunizamos coelhos de 2000-2400 g com as seguintes amostras do Grupo II: fase S de A.M., C. e D.J.R., fases S e R de M.E.F. e Andrada. Intravenosamente, processo II, Standard Methods. 3 para cada amostra. Todos sobreviveram.

Pelo mesmo processo procedemos à imunização de coelhos, de pesos idênticos aos citados, com as amostras *S. dysenteriae* Parker (S), *S. dysenteriae* Berger (R) e *S. dysenteriae* 94 (R) do Grupo I. Resultados:

S. dysenteriae Parker (S) — 3 coelhos. Sobreviveu 1.

S. dysenteriae Berger (R) — 3 coelhos. Sobreviveu 1.

2 coelhos (dose inicial diluída ao dôbro). Sobreviveu 1.

S. dysenteriae 94 (R) — 3 coelhos. Sobreviveram 2.

2 coelhos (dose inicial diluída ao dôbro). Ambos sobreviveram.

Todos os coelhos que morreram, sempre em 2-6 dias, manifestaram paralisia dos membros, sobretudo dos posteriores.

Não repetimos a imunização com *S. dysenteriae* Parker (S) porque o único coelho sobrevivente forneceu sôro de título satisfatório — 1:2560. Com *S. dysenteriae* Berger (R) e *S. dysenteriae* 94 (R) obtivemos na 1.^a série 1:160; na 2.^a, 1:640.

A amostra *S. dysenteriae* Berger, procedente de Paris e recebida do Instituto Butantã há 22 anos, embora R tem revelado sempre alta toxicidade notada por diversos pesquisadores, no Instituto A. Lutz.

A despeito de opiniões contrárias é de aceitação quase geral, principalmente após os trabalhos de Boivin e Mesrobeanu (1937 a, b, c), a toxicidade de *S. dysenteriae* em ambas as fases: S e R.

Também prevalece admitir-se mais alta a de *S. Fugia* à nossa finalidade tal observação, motivo pelo qual não realizamos provas adequadas; apenas salientamos o que o preparo de soros imunes nos permitiu notar: serem as fases S e R de *S. dysenteriae* dotadas de toxicidade e, em igualdade de condições, não haverem as amostras tipo Q771 quer S, quer R, revelado toxicidade.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

S. dysenteriae, ao contrário do estabelecido no manual de Bergey, não fermenta rafinose e adonita.

Estudo comparativo de amostras de *S. dysenteriae* e de germes manita-indol-negativos procedentes de casos clínicos de disenteria, antigênicamente homogêneos e muito semelhantes àquela espécie morfológica, tintorial, cultural e bioquimicamente mas distintos em provas sorológicas e absolutamente idênticos a padrão tipo Q771 recebido de Connecticut State Dept. of Health revela a ocorrência, em São Paulo, de *Shigella sp.* Sachs Q771.

É observação valiosa considerando-se que, se julgado este tipo, como muitas vezes até há pouco o foi, em diversos países inclusive o nosso, *S. dysenteriae* inaglutinável porque como esta espécie se comporta nas provas bioquímicas rotineiras de identificação de *Shigella*, leva ao emprêgo de sôro anti-Shiga, acarretando falhas e conclusões indevidas de ineficácia da soroterapia específica.

"Shigella Andrada", isolada por Sosa, em Buenos-Aires, corresponde, também, ao tipo Q771 de Sachs.

Fala em favor da ocorrência dêste tipo no Uruguai a publicação de Hormaeche e Surraco em que se estabelece identidade entre "Shigella Andrada" e amostra por eles isolada.

Sorbita e *l*-arabinose distinguem *S. dysenteriae* do tipo Q771 de Sachs, o que não o fazem caracteres morfológicos, tintoriais e culturais e rotineiras provas bioquímicas; são fermentadas, em geral tardiamente, pelo tipo Q771 e não por *S. dysenteriae*. Entretanto, a amostra padrão *Shigella sp.* Sachs Q1167 estudada pelos AA. e procedente, também, de Connecticut State Dept. of Health, é de comportamento bioquímico idêntico ao de *Shigella sp.* Sachs Q771 mas sorologicamente distinta, revelando, assim, a necessidade de tipagem com soros padrões.

Os AA. não trabalharam com os tipos Q1030 e Q454; contudo, Wheeler e Stuart, cujas investigações são das mais completas e

abrangem todos os tipos Sachs, concluem exigirem, também aquêles, emprêgo de soros padrões para diferenciação.

As observações dos AA., repetidas vêzes e com longos intervalos, sôbre *S. dysenteriae* e exemplares tipo Q771 comparadas com as de Wheeler e Stuart incluídas no Quadro I desta publicação, a não ser que as contrariem investigações futuras, permitem estabelecer diferenciação, por *l*-arabinose, entre *S. dysenteriae* e os tipos indol-negativos de Sachs já que êstes a fermentam e aquela espécie não. Distinção entre os tipos se fará em base sorológica.

Os tipos Sachs trarão modificações nos atuais sistemas taxionômicos. Borman, Stuart e Wheeler (1944), em cuidadoso estudo sôbre a taxionomia da família *Enterobacteriaceae*, à qual pertence o gênero *Shigella*, dizem da provável necessidade de logo se designarem variedades no grupo não fermentador de manita mas ser ainda cedo para determinar o lugar de germes recentemente descritos como os de Sachs. Porém o trabalho posterior e há pouco citado de dois daqueles autores, Wheeler e Stuart, exclui do gênero *Shigella* alguns tipos Sachs e confirma a inclusão dos demais definindo, assim, a posição taxionômica dos mesmos.

Não fermentam *d*-arabinose *S. dysenteriae*, *Shigella sp.* Sachs Q771 e a única amostra *Shigella sp.* Sachs Q1167 estudada pelos AA.; provávelmente, também os tipos Q1030 e Q454. É essencial que, em publicações sôbre fermentação de arabinose, se mencione a variedade ótica estudada.

Insistem os signatários desta comunicação, por observações próprias, na necessidade do emprêgo, em provas de sôro-aglutinação, de culturas na fase S e soros imunes preparados com amostras S. Ao lado de muitos "Shigas inaglutináveis" registrados e que, na realidade, não são a clássica *S. dysenteriae* e sim tipos indol-negativos de Sachs, outros certamente devem sua inaglutinabilidade ao emprêgo de formas R.

Verificam os AA. serem as formas S e R de *S. dysenteriae* dotadas de toxicidade, embora não hajam observado qual a de mais alto poder, e que, em igualdade de condições, amostras de *Shigella sp.* Sachs Q771 quer S, quer R, não revelam toxicidade.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

S. dysenteriae, on the contrary of what is established in Bergey's manual, does not ferment raffinose and adonitol.

A comparative study was made of *S. dysenteriae* strains and other mannitol-indole-negative organisms here isolated from clinical cases of dysentery, and having morphological, staining, cultural and biochemical characteristics very similar to those of *S. dysenteriae*. Serological tests evidenced that these organisms are homogeneous, but failed to show any relationship between the *S. dysenteriae* strains and the others, which, on the other hand, were found to be exactly identical with one representative strain of type Q771 from the Connecticut State Dept. of Health. Thus the occurrence of *Shigella sp.* Sachs Q771 in S. Paulo is here reported.

The practical value of this observation is obvious when considered that if this type is regarded, as it was often until recently in several countries including Brazil, as "inagglutinable Shiga" because in routine biochemical tests used in the identification of *Shigella* species it is identical with *S. dysenteriae*, the use of Shiga antiserum, which would be recommended in this case as the specific treatment, would prove of no result.

"Shigella Andrada", isolated by Sosa, in Buenos-Ayres, and Sachs type Q771 were found to be identical.

As is concluded from a report presented by Hormaeche and Surraco in which these authors show an identity between one strain they have isolated and the "Shigella Andrada", type Q771 must occur also in Uruguay.

Sorbitol and *l*-arabinose differentiate *S. dysenteriae* from the type Q771 of Sachs; this differentiation is not possible by morphological, staining and cultural characteristics, as well as by routine biochemical tests. *S. dysenteriae* fails to ferment any of them, while cultures of type Q771 produce, generally slowly, an acid reaction. However, the only representative strain of *Shigella sp.* Sachs Q1167 examined by the AA., which was also received from the Connecticut State Dept. of Health, presents the same biochemical behaviour as *Shigella sp.* Sachs Q771, although serologically distinct, proving thus the necessity of typing by means of specific sera.

The AA. have not worked with types Q1030 and Q454; but, Wheeler and Stuart, whose investigations about the subject are very complete and include all the Sachs types state that also these two types require to be differentiated specific type determination.

The observations made repeatedly by the AA. during many years about *S. dysenteriae* and strains type Q771 compared with those of Wheeler and Stuart presented in table I of this paper permit unless the contrary can be shown by future investigations, to differentiate by means of *l*-arabinose *S. dysenteriae* from the Sachs indole-negative types, since these produce acid from the carbohydrate above whereas with *S. dysenteriae* the contrary occurs. The distinction among these types is based on serological tests.

The Sachs types will introduce modifications in the present taxonomic systems. Borman, Stuart and Wheeler (1944), in a detailed study on the taxonomy of the family *Enterobacteriaceae*, to which the *Shigella* genus belongs, state that probably soon the necessity for designating varieties will arise in the non-mannitol-fermenting group, but that it is still early to determine the place of the recently described organisms such as Sachs types. Notwithstanding, through the report presented by Wheeler and Stuart, previously mentioned in this paper, some types of Sachs are excluded from the *Shigella* genus, while the inclusion of the others is confirmed, determining thus their taxonomic position.

Strains of *S. dysenteriae*, *Shigella sp.* Sachs Q771 and the only one of *Shigella sp.* Sachs Q1167 examined do not ferment *d*-arabinose; probably the same occurs with types Q1030 and Q454. It is absolutely necessary that in publications about arabinose fermentation the optical variety be always mentioned.

Based on their experimental findings, the AA. insist on the necessity of employing always cultures and antisera S in agglutination tests. Beside many of the so-called "inagglutinable Shiga" reported, which are, in fact, not *S. dysenteriae* but Sachs indole-negative types, a great number exists which is a result of the use by the investigators of R forms instead of S.

Finally the AA. conclude that the S and R forms of *S. dysenteriae* are toxic; however no conclusion is made about which is the more toxic. Regarding the strains of *Shigella sp.* Sachs Q771 tested in identical conditions, neither the S nor the R forms reveal any toxicity.

AGRADECIMENTOS

Além de nossos agradecimentos já externados em o início desta publicação não podemos silenciar sôbre quanto nos auxilia-

ram nos trabalhos experimentais, com grande dedicação, Angelina Franco Faraco, Gelva Ribeiro, Cremilde G. de Matos Oliveira, Lízete Petinatti Pires, Lucília Fonseca Barbosa e Teresinha de Jesus Calazans, técnicas de laboratório. A tôdas nosso reconhecimento.

REFERÊNCIAS

- ALESSANDRINI, A. e SABATUCCI, M. — 1931 — La tripaflavina quale mezzo di differenzazione dei microbi del genere *Brucella* — *Ann. d'ig.*, 41:29-34.
- ARCHER, G. T. L. — 1933 — Note on non-nannite-fermenting organism recovered from 2 cases of dysentery — *J. Roy. Army M. Corps.*, 61:55-56.
- ARKWRIGHT, J. A. — 1921 — Variation in bacteria in relation to agglutination both by salts and by specific serum — *J. Path. & Bact.*, 24:36-60.
- ARKWRIGHT, J. A., and GOYLE, A. N. — 1924 — The relation of the "smooth and "rough" forms of intestinal bacteria to the "O" and "H" forms of Weil and Felix — *Brit. J. Exper. Path.*, 5:104-114.
- BERGEY, D. H. *et al.* — 1925 — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 2nd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- BERGEY, D. H. *et al.* — 1930 — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 3rd ed., Baillière, Tindall & Cox, London.
- BERGEY, D. H. *et al.* — 1934 — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 4th ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- BERGEY, D. H. *et al.* — 1939 — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 5th ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- BOIVIN, A. et MESROBEANU, L. — 1937 a — Recherches sur les toxines des bacilles dysentériques. Sur l'existence d'un principe toxique thermolabile et neurotrophe dans les corps bactériens du bacille de Shiga — *Compt. rend. Soc. de biol.*, 126:222-225.
- BOIVIN, A. et MESROBEANU, L. — 1937 b — Recherches sur les toxines des bacilles dysentériques; sur l'identité entre la toxine thermolabile et neurotrophe des corps bactériens du bacille de Shiga et l'exotoxine présente dans les filtrats des cultures sur bouillon de la même bactérie — *Compt. rend. Soc. de biol.*, 126:323-325.
- BOIVIN, A. et MESROBEANU, L. — 1937 c — Recherches sur les toxines du bacille dysentérique. Sur la signification des toxines produites par le bacille de Shiga et par le bacille de Flexner. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 126:652-655.
- BORMAN, E. K., STUART, C. A., and WHEELER, K. M. — 1944 — Taxonomy of the family *Enterobacteriaceae* — *J. Bact.*, 48:351-367.
- BOYD, J. S. K. — 1935 — *Bacillus dysenteriae* Schmitz (with brief note on certain other non-nannite-fermenting bacilli) — *J. Roy. Army M. Corps.*, 64:289-299.
- CALALE, G. et CRIVAT, D. — 1936 — Les variantes S et R du bacille de Shiga et leurs propriétés antigéniques — *Compt. rend. Soc. de biol.*, 123:59-61.

- CANESSA, E. y GARCES, C. — 1945 — Distribucion por especies de Shigellas y Salmonellas classificadas en la seccion de germen entericos — *Rev. chilena de pediat.*, 16:697-700.
- CHRISTENSEN, W. B., and GOWEN, G. H. — 1944 — An arabinose-fermenting bacterium of the lactose-negative, mannitol-negative *Shigella* group — *J. Bact.*, 47:171-176.
- COLEMAN, M. B. — 1940 — The differentiation and identification of bacillary incitants of dysentery — *Am. J. Pub. Health*, 30:39-42.
- COLEMAN, M. B. — 1943 — Serologic and bacteriologic procedures in the diagnosis of enteric fevers in Annual Report of the Division of Laboratories and Research, N. Y. State Dept. of Health, Albany.
- DUDGEON, L. S. — 1929 — Schmitz's bacillus in A System of Bacteriology in Relation to Medicine, Medical Research Council, London, vol. 4.
- DUDGEON, L. S., and URQUHART, A. L. — 1919 — Spec. Rep Serv. Med. Res. Comm., N.º 40.
- EWING, W. H. — 1946 — An additional *Shigella paradysenteriae* serotype — *J. Bact.*, 433-445.
- EWING, W. H., and GRAVATTI, J. L. — 1947 — *Shigella* types encountered in the Mediterranean area — *J. Bact.*, 53:191-195.
- FONSECA, F. et al. — 1941 — Disenteria bacilar — *Med. Cont.*, 59:
- FULTON, M., and CURTIS, S. F. — 1946 — Bacteriology of a collection of *Shigella* strains typed by Weil's method — *J. Infect. Dis.*, 78:198-203.
- GARDNER, A. D. — 1929 — The dysentery group of bacilli in A System of Bacteriology in Relation to Medicine, Medical Research Council, London, vol. 4.
- GOBER, M., STACY, V., and WOODROW, M. — 1944 — A probably new type of nonmannitol-fermenting *Shigella* — *Am. J. Hyg.*, 40:209-211.
- GRICHENER, E. — 1938 — Disenteria bacilar — Un caso producido por un tipo de bacilo atípico: el "para-Shiga negativo" — *Semana méd.*, 1.º semestre: 888-890.
- HAZEN, E. L. — 1938 — Isolation of *B. dysenteriae* (Dudgeon-Urquhart) in an outbreak of diarrhea — *J. Infect. Dis.*, 63:330-331.
- HORMAECHE, E. y SURRACO, N. — 1938 — Un nuevo capítulo de nuestra patologia — La disenteria "bacilar" — *An. Fac. de med. de Montevideo*, 23:171-227.
- LARGE, D. T. M., and SANKARAN, O. K. — 1934 — Dysentery among troops in Quetta. Part II D. The non-mannite-fermenting group of organisms — *J. Roy. Army M. Corps.*, 63:231-237.
- MACLENNAN, J. D. — 1945 — The non-mannitol-fermenting dysentery bacilli — *J. Path. & Bact.*, 57:307-315.
- MAYFIELD, C. R., and GOBER, M. — 1941 — Comparative efficiency of plating media for the isolation of *Shigella dysenteriae* — *Am. J. Pub. Health*, 31:363-368.
- MEYER, K., und GOLDENBERG, B. — 1933 — Umwandlungsversuche und pathogenen Darmbakterien; die Rückbildung von R-in S-Formen — *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 80:121-134.

- NETER, E. — 1942 — The genus *Shigella* (Dysentery bacilli and allied species) — *Bact. Rev.*, 6:1-36.
- PAMPANA, E. J. — 1931 — La dissociazione microbica e la tripaflavina come sue reattive — *Ann. Dig.*, 41:537-553.
- RIDING, D. — 1931 — Acute bacillary dysentery due to *Bacillus para-Shigae*. *Tr. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 24:613-616.
- RUSSO, E. — 1939 — Contribuição ao estudo fermentativo das bactérias do gênero "Pasteurella" — *O Hospital*, 16:57-66.
- SACHS, A. — 1943 — A report of an investigation into the characteristics of new types of non-mannitol-fermenting bacilli isolated from cases of bacillary dysentery in India and Egypt — *J. Roy. Army M. Corps.*, 80:92-99.
- SCHWARZENBERG, J., ZENTENO, T., PIERA, A. et al. — 1945 — Diarreas agudas en el lactante — *Rev. chilena de pediat.*, 16:841-901.
- SILVA, M. M. — 1943 — Classification sérologique de quelques souches de bacilles de la dysenterie, isolés au cours d'une poussée épidémique — *Arg. Inst. bact. Cámara Pestana*, 9:19-42.
- SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS — 1936 — Routine tests for the descriptive chart in Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria, Society of American Bacteriologists, Geneva, N. Y.
- STUART, C. A., VAN STRATUM, E., and RUSTIGIAN, R. — 1945 — Further studies on urease production by *Proteus* and related organisms — *J. Bact.*, 49:437-444.
- THIBAUT, P. et BRAUNBERGER, J. — 1935 a — Les variantes R et S du bacille dysentérique Shiga — *Compt. rend. Soc. de biol.*, 120:434-436.
- THIBAUT, P. et BRAUNBERGER, J. — 1935 b — Variation antigénique S et R du bacille de Shiga — *Compt. rend. Soc. de biol.*, 120:617-618.
- THIBAUT, P. et BRAUNBERGER, J. — 1936 — Toxicité comparée des variantes S et R du bacille de Shiga — *Compt. rend. Soc. de biol.*, 123:1118-1120.
- THOMSON, D., and MACKIE, T. J. — 1917 — Clinical and laboratory researches on dysentery in Egypt, with some remarks on sanitation — *J. Roy. Army M. Corps.*, 28:403-427.
- WAALER, E. — 1935 — Studies on the dissociation of the dysentery bacilli, Oslo, Jacob Dybwad.
- WAALER, E. — 1936 — Studies on the toxin production of the Shiga bacilli — *J. Exper. Med.*, 63:1-15.
- WADSWORTH, A. B. — 1939 — Production and standardization of sera and other preparations for diagnostic use in Standard Methods of the Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health, 2nd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- WEIL, A. J. e WIEDER, S. — 1945 — Recentes progressos na disenteria bacilar — *Arg. de biol.*, 29:33-44.
- WHEELER, K. M., and STUART, C. A. — 1946 — The mannitol-negative *Shigella* group — *J. Bact.*, 51:317-325.
- WINTER — 1912 — Vergleichende Untersuchungen über die chemischen und biologischen Eigenschaften von Ruhrbazillen — *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 70:273-305.

PESQUISA DE ESPIROQUETAS NO FÍGADO HUMANO

JOÃO MONTENEGRO
Médico do Inst. Adolfo Lutz

OSWALDO PAULO FORATTINI
Doutorando em Medicina

ANA FARACO
Téc. Lab. do Inst. Adolfo Lutz

Por ocasião do surto de febre amarela silvestre, ocorrido no Estado de São Paulo, nos anos de 1935 a 1937, numerosas amostras de fígado, recolhidas pelo processo da viscerotomia, foram enviadas ao Instituto Bacteriológico (atual Instituto Adolfo Lutz), para o diagnóstico histopatológico dos casos de febre amarela.

Dispondo, assim, desse material, ao lado do rotineiro processo de coloração pela hematoxilina e eosina, pôde-se proceder à impregnação pela prata, segundo o método de Levaditi, afim de, se possível, surpreender algum caso de espiroquetose, principalmente moléstia de Weil. Dêse modo, foram examinadas 235 amostras de fígado, a maioria com o diagnóstico histopatológico de febre amarela. Cada grupo de blocos impregnados pela prata, foi controlado por um fragmento de rim de cobaia, sabidamente positivo para leptospiros. Em nenhum dos cortes da serie humana, foi possível demonstrar a presença de espiroquetas.

Damos a seguir, a lista completa dos casos. Pelo exame da mesma, pode-se verificar que a grande maioria eram provenientes do Estado de São Paulo. Em geral, a viscerotomia foi praticada, antes de decorridas 48 horas, após o falecimento. Esses indivíduos faleceram quase todos dentro dos dez primeiros dias de moléstia. Suas idades oscilavam entre 5 e 60 anos.

N.º	Nome	Procedência	Sexo	Data do falecimento	Hora do falecimento	Data da viscerotomia	Hora da viscerotomia	Resultado quanto a febre amarela	Resultado quanto aos espiroquetas (Método Levaditi)	Outros resultados	N.º do Laboratório
1	E. P.	Monte Aprazível	M.					Positivo	Negativo		1
2	Z. A.	Monte Aprazível	M.					Negativo	Negativo		2
3	J. F. L.	Monte Aprazível	M.	20-12-35				Positivo	Negativo		3
4	A. R. B.		M.	23-12-35			11	Negativo	Negativo		4
5	J. V.	Vila Poloni	M.	22-12-35	14	22-12-35	18,30	Positivo	Negativo		5
6	J. C. D.	Nipoan	M.	23-12-35	24	24-12-35	15,30	Positivo	Negativo		7
7	F. T.	Nipoan	M.	25-12-35	15	26-12-35	15	Positivo	Negativo		8
8	J. N. F.	Monte Aprazível	M.	30-12-35				Positivo	Negativo		10
9	L. T.	Monte Aprazível	M.	28-12-35	1/2	29-12-35	17	Positivo	Negativo		11
10	P. F. B.	Mirassol	M.	31-12-35	3	31-12-35	17	Positivo	Negativo		12
11	G. A.	Mirassol	M.	3- 1-36	17	3- 1-36	17,30	Positivo	Negativo		13
12	F. V.	Penápolis	M.	15- 2-36				Positivo	Negativo		15
13	M. J. G.	Bairro da Cabeceira	F.	18- 2-36				Positivo	Negativo		16
14	B. C.	Araraquara	M.					Negative	Negativo		17
15	J. C.	Rio Preto	M.	19- 2-36		19- 2-36		Positivo	Negativo		19
16		Avaré	M.	21- 2-36				Positivo	Negativo		20
17	B. R. P.	Estação Candido Mota	M.	18- 2-36		19- 2-36	13	Positivo	Negativo		21
18	A. V. P.		M.	19-2-36	7	19-2-36	15	Negativo	Negativo		22

19	P. H.	Sussuí	M.						Positivo	Negativo		23
20		Avaré							Positivo	Negativo		24
21	J. M. A.	Assis	M.	21-2-36	9	22-2-36	11,30		Negativo	Negativo		25
22	C. D.	Penapolis	M.	24-2-36					Positivo	Negativo		26
23	J. L.	Assis	M.	25-2-36	8	25-2-36	15		Positivo	Negativo		27
24	B. L.	Bairro da Caba- ceira	M.			26-2-36			Positivo	Negativo		28
25	E. V.	Assis	M.	24-2-36	13	25-2-36			Positivo	Negativo		30
26	L. C. A.	Assis	M.	25-2-36	23	26-2-36	16		Negativo	Negativo		31
27	M. O. C.	Avaré	M.	28-2-36		28-2-36			Positivo	Negativo		32
28		Agudos	M.	27-2-36		28-2-36	15		Positivo	Negativo		33
29	S. S.	Pirajú	M.	28-2-36	18	29-2-36	9		Positivo	Negativo		34
30	J. C.	Sta. Cruz do Rio Pardo	M.	25-2-36	18	26-2-36	8		Positivo	Negativo		35
31	A. C.	Sta. Cruz do Rio Pardo	M.	27-2-36	11	27-2-36	18		Positivo	Negativo		36
32	M. B.	Esp. Sto. do Turvo	M.	28-2-36	8	28-2-36	22		Positivo	Negativo		37
33	M. D. S.	Batatais	M.	29-2-36		29-2-36			Positivo	Negativo		38
34	A. B.	Avaré	M.			1-3-36			Positivo	Negativo		39
35	I. M. P.	Avaré	M.			1-3-36			Positivo	Negativo		40
36	A.	Avaré	M.			1-3-36			Positivo	Negativo		41
37	A. B. S.	Barretos	M.	1-3-36		1-3-36			Positivo	Negativo		42
38	R. M.		M.	29-2-36		29-2-36			Positivo	Negativo		43
39	C. A.	Araraquara	F.	29-2-36		29-2-36				Negativo	putrefação	44
40	F. S.	Araraquara	M.	3-3-36	14	3-3-36	17		Positivo	Negativo		45
41	M. G.	Pirajú	F.	2-3-36	22	3-3-36				Negativo	putrefação	46
42	S. R.	Pirajú	M.	3-3-36					Positivo	Negativo		47

N.º	Nome	Procedência	Sexo	Data do falecimento	Hora do falecimento	Data da viscerotomia	Hora da viscerotomia	Resultado quanto a febre amarela	Resultado quanto aos espiroquetas (Método Levaditi)	Outros resultados	N.º do Laboratório
43	O. A. F.	Pirajú	M.	3-3-36		3-3-36		Positivo	Negativo		48
44	J. B. N.	Estação Candido Mota	M.	2-3-36	24	3-3-36	13,30	Positivo	Negativo		51
45	H. R. P.	Araçatuba	F.	3-3-36		4-3-36		Positivo	Negativo		52
46	O. B.	Jaboticabal	M.	5-3-36				Positivo	Negativo		53
47	A. P.	Piratininga	M.	3-3-36		4-3-36	10	Positivo	Negativo		54
48	A. A.	Piratininga	M.	3-3-36	21	4-3-36	10	Positivo	Negativo		55
49	A. M.	Assis	M.	5-3-36	1	5-3-36	18	Positivo	Negativo		59
50	J. M.	São José do Rio Pardo	M.					Positivo	Negativo		60
51	B. R.	São José do Rio Pardo	M.					Positivo	Negativo		61
52	J. M.	Araraquara	M.					Positivo	Negativo		62
53	A. E.	Avaré	M.	3-3-36	3			Positivo	Negativo		63
54	I. I.	Avaré	F.	5-3-36	3			Positivo	Negativo		64
55	F. C.	Avaré	M.	5-3-36				Positivo	Negativo		65
56	L. M. A.	Avaré	F.					Positivo	Negativo		66
57	A. V.		M.					Positivo			67
58	S. P. S.	Avaré	M.					Positivo	Negativo		68

59	P. L.	Bernardino de Campos	M.	4-3-36	2	4-3-36	17	Positivo	Negativo		69
60	B. C.	Palmital	M.	1-3-36	6	1-3-36	18	Positivo	Negativo		70
61	M. D.	Avaré	F.					Positivo	Negativo		71
62	J. F.	Avaré	M.	12-3-36	10	12-3-36	14	Positivo	Negativo		72
63	A. P.	Rincão	M.	11-3-36	16	12-3-36	8	Positivo	Negativo		73
64	V. T.	Batatais	M.	10-3-36	17	10-3-36	19	Positivo	Negativo		74
65	E. S.	Faxina	M.	12-3-36	20,30			Positivo	Negativo		75
66	J. V.	Faxina	M.	9-3-36	20			Positivo	Negativo		76
67	J. A.	Assis	M.	11-3-36	13	12-3-36	16	Positivo	Negativo		79
68	A. M.	Garça	M.	8-3-36				Negativo	Negativo		80
69	B. S.	Faxina	M.	14-3-36	2			Negativo	Negativo		81
70	A. S.	Botucatu	M.					Positivo	Negativo	putrefação	83
71	A. A.	Faxina	M.	18-3-36	17			Positivo	Negativo		84
72	M. S.	Jaú	F.	18-3-36	10,30			Positivo	Negativo		85
73	R. S.	Burí	M.	16-3-36				Positivo	Negativo		86
74	J. R.		M.					Positivo	Negativo		89
75	A. F.	Tibirigá	M.					Positivo	Negativo		90
76	L. A. O.	Tietê	F.					Negativo	Negativo		91
77	J. P.	Penapolis	M.					Negativo	Negativo		92
78	C. S. C.	Itapetininga	M.					Positivo	Negativo		95
79	O. P.	Santos	F.					Não típ.	Negativo		97
80		Tremembé (?)						Positivo	Negativo		99
81	B. N.	Sorocaba	M.	28-3-36	1	28-3-36	15	Negativo	Negativo	Malária	100
82	A. M. C.	Araçatuba	M.	28-3-36				Negativo	Negativo	putrefação	101
83	J. P. A.	Avanhandava	M.	27-3-36				Negativo	Negativo	autolise	102
84	J. A. R.	Araraquara	M.	26-3-36		27-3-36	10	Positivo	Negativo		103

N.º	Nome	Procedência	Sexo	Data do falecimento	Hora do falecimento	Data da viscerotomia	Hora da viscerotomia	Resultado quanto à febre amarela	Resultado quanto aos espiroquetas (Método Levaditi)	Outros resultados	N.º do Laboratório
85	A. A.	Faxina	M.	24-3-36	18	25-3-36	8,30	Positivo	Negativo		104
86	A. P. C.	Faxina	M.	18-3-36	6	19-3-36	10	Positivo	Negativo		105
87	J. Q.	Itaporanga	M.	21-3-36		22-3-36		Negativo	Negativo	malária	106
88	A. L. S.	Faxina	M.	28-3-36				Positivo	Negativo	malária	107
89	M. C.	Faxina	M.	20-3-36	2	21-3-36	8	Negativo	Negativo		109
90	J. E. L.	Faxina	M.	22-3-36	22	23-3-36	10	Negativo	Negativo		110
91	J. E. L.	Faxina	M.	30-3-36	11	30-3-36	16	Negativo	Negativo		111
92	V. G. S.	Nuporanga	M.	22-3-36	13,30	22-3-36	21	Negativo	Negativo		112
93		Quaratinguetá ..						Negativo	Negativo		113
94	C. T.	Fazenda Nhonó Braga	M.	28-3-36		28-3-36		Positivo	Negativo		114
95	M. C.	Araçatuba	M.	29-3-36				Positivo	Negativo		115
96	D. M. J.	Ourinhos	F.	17-3-36	19			Positivo	Negativo		116
97	M. O.	Baurú	M.					Positivo	Negativo		117
98	S. T.	São Carlos	M.	4-4-36	8	5-4-36	9	Negativo	Negativo		118
99	J. R.	Araçatuba	M.	4-4-36				Positivo	Negativo		119
100	W. A.	Itaberá	M.	3-4-36				Negativo	Negativo		120
101	J. L. S.	Faxina	M.	31-3-36	2	31-3-36	9,30	Positivo	Negativo		121
102	P. M.	Baurú	M.	31-3-36					Negativo	malária	122

103	R. J.	Sta. Cruz do Rio Pardo	F.	5-4-36		6-4-36		Positivo	Negativo		123
104	M. T. J.	Sta. Cruz do Rio Pardo	F.	4-4-36		4-4-36		Positivo	Negativo	autolise	124
105	E. M.	São Carlos	M.	12-4-36	3	12-4-36	13-45	Negativo	Negativo		125
106	J. M.	Pres. Prudente ..	M.	11-4-36	11,30	11-4-36	12,30	Negativo	Negativo		126
107	B. P.	Araçatuba	M.	12-4-36				Positivo	Negativo		127
108	A. C. Q.	São Carlos	M.	28-4-36				Positivo	Negativo	malária	129
109	A. S.	Dois Córregos ..	M.	25-4-36				Negativo	Negativo		130
110	J. S.	Faxina	M.					Negativo	Negativo		133
111	J. D.	Faxina	M.					Negativo	Negativo		134
112	M. C. R.		M.					Negativo	Negativo		135
113	J. M.	São Carlos	M.					Positivo	Negativo		138
114	B. A.	Botucatu	M.	7-4-36	23	8-5-36	9,30	Positivo	Negativo		140
115	L. L. S.	Ribeirão Preto ..	M.					Positivo	Negativo	putrefação	142
116	A. G.	Batatais	M.	15-5-36	12	15-5-36	18	Positivo	Negativo		144
117	A. M.	São Carlos	M.					Positivo	Negativo		145
118	T. E.	Bauru	M.	16-6-36				Negativo	Negativo		146
119	C. L.	Altinopolis	M.	19-5-36				Positivo	Negativo	putrefação	147
120	J. F.	Agudos	M.	22-5-36				Positivo	Negativo		152
121	S. S.	Casa Branca ...	F.	30- 5-36	16	31- 5-36	14	Negativo	Negativo		154
122	A. A.	Pres. Prudente ..	M.	26- 5-36				Positivo	Negativo		155
123	V. C.	Regente Feijó ..	M.					Positivo	Negativo		156
124	J. B. L.	Tambahu	M.	5- 6-36	13	5- 6-36	14,30	Positivo	Negativo		157
125	V. M. D.	Casa Branca ...	F.	9- 6-36	16	10- 6-36	10	Positivo	Negativo		158
126	B. B.	Botucatu	M.	15- 6-36	20	16- 6-36	13	Positivo	Negativo		159
127	J. A. A.	Dois Córregos ..	M.	19- 6-36				Positivo	Negativo		160

N.º	Nome	Procedência	Sexo	Data do falecimento	Hora do falecimento	Data da viscerotomia	Hora da viscerotomia	Resultado quanto à febre anarética	Resultado quanto aos espiroquetas (Método Levaditi)	Outros resultados	N.º do Laboratório
128	G. F. L.	Agudos	M.	10- 6-36		11- 6-36		Negativo	Negativo	cirrôse	163
129	J. R.		M.	16- 6-36	15,30	17- 6-36	8	Positivo	Negativo		164
130	P. R.	São Manuel	F.	1- 7-36		1- 7-36		Positivo	Negativo		166
131	J. V.	Casa Branca ...	F.	4- 8-36	7	4- 8-36	14	Negativo	Negativo		167
132	J. L. R.	Avaré	M.					Negativo	Negativo		168
133	B. A. C.	Monte Aprazível	F.	28- 9-36	8,30	28- 9-36	14,30	Negativo	Negativo		169
134	J. L.	Casa Branca ...	M.	21-10-36	2	21-10-36	10,30	Negativo	Negativo		170
135	J. B.	Campinas	M.					Positivo	Negativo		171
136	J. P. F.	Casa Branca ...	M.					Positivo	Negativo		172
137	A. R.	Sertãozinho	F.					Positivo	Negativo	cirrôse	173
138	C. F. L.	Ribeirão Preto ..	M.					Positivo	Negativo	hepatite	174
139	B. F. S.	Casa Branca ...	M.					Positivo	Negativo	cirrose	175
140	E. E.	Campinas	M.					Positivo	Negativo		176
141	A. G. S.	Pres. Wenceslau	M.	14-2-37	23,30	15-2-37	9	Positivo	Negativo		178
142	J. S. S.	Pres. Wenceslau	M.					Negativo	Negativo		179
143	F. C.	Capital	M.					Positivo	Negativo		180
144	A. M.	Pres. Wenceslau	M.					Positivo	Negativo		181
145	J. T.	Indaiatuba	M.	24-2-37	8	24-2-37	21	Positivo	Negativo		183
146	P. T. M.	Indaiatuba	M.	25-2-37	17	26-2-37	10	Positivo	Negativo		185
147	N. Z.	Itú	M.	26-2-37				Positivo	Negativo		186

148	J. R.	Campinas	M.	26-2-37	21,30	27-2-37	10,15	Positivo	Negativo		187
149	A. A.	Pres. Wenceslau	M.	27-2-37				Positivo	Negativo		188
150	A. P.	Perús	M.	1-3-37	5	1-3-37	12	Positivo	Negativo		191
151	F. V.	Ribeirão Preto ..	M.					Positivo	Negativo		193
152	A. C.	Rocinha	M.	3-3-37				Positivo	Negativo		198
153	J. L. S.	Pres. Wenceslau	M.					Positivo	Negativo		200
154	A. R.	Pres. Wenceslau	M.	6-3-37				Positivo	Negativo		201
155	A. R.	Rancharia	M.	6-3-37				Positivo	Negativo		202
156	S. N.	Cabreúva	M.	6-3-37	15	6-3-37	16	Positivo	Negativo		204
157	H. A. S.	Parnaíba	M.	8-3-37	15			Positivo	Negativo		205
158	O. A. S.	Cabreúva	M.	5-3-37	14,30	6-3-37	13,50	Positivo	Negativo		206
159	T. V.	Cabreúva	M.	11-3-37	9	11-3-37	18,30	Positivo	Negativo		209
160	J. M. O.	Parnaíba	M.	11-3-37	5	11-3-37	13	Positivo	Negativo		210
161	C. O.	Lavrinhas	F.	12-3-37	9			Positivo	Negativo		211
162	S. L.	Campinas	M.	11-3-37	21,45	12-3-37	8	Positivo	Negativo	tumefação	212
163	R. S.	Lavrinhas	M.	11-3-37	21			Positivo	Negativo		214
164	G. B.	Parnaíba	M.	11-3-37	11	12-3-37	14	Positivo	Negativo		215
165	M. M. N.	Pres. Wenceslau	M.	12-3-37				Positivo	Negativo		219
166	B. R.	Capivari	M.	17-3-37	13	17-3-37	16,30	Positivo	Negativo		221
167	J. S.	Pres. Wenceslau	M.	17-3-37	12	17-3-37	17,30	Positivo	Negativo		222
168	S. B. M.	Sto. Anastacio ..	F.	16-3-37	18,30	16-3-37	23	Positivo	Negativo		223
169	M. C. C.	Campinas	F.	18-3-37	1	18-3-37	12	Negativo	Negativo		224
170	B. A.	Rincão	M.	19-3-37	5				Negativo	malária	225
171	J. G.	Pres. Wenceslau	M.	20-3-37				Positivo	Negativo		227
172	J. R.	S. José dos Cam- pos	M.					Positivo	Negativo		228
173	G. P.	Sto. Anastacio ..	M.					Positivo	Negativo		229

N.º	Nome	Procedência	Sexo	Data do falecimento	Hora do falecimento	Data da viscerotomia	Hora da viscerotomia	Resultado quanto à febre amarela	Resultado quanto aos espiroquetas (Método Levaditi)	Outros resultados	N.º do Laboratório
174	B. F.	Parnaíba	M.					Positivo	Negativo		230
175	S. O.	Regente Feijó ..	M.					Negativo	Negativo		231
176	A. O. M.	Pres. Wenceslau	M.					Positivo	Negativo		232
177	G. C.	Pres. Wenceslau	M.					Positivo	Negativo		233
178	M. C. B.	Pres. Wenceslau	F.					Negativo	Negativo		234
179	P. R.	Botucatu	M.	29-3-37	17	27-3-37	18	Positivo	Negativo		235
180	B. S.	Itú	F.	27-3-37	13	27-3-37	18	Positivo	Negativo		237
181	M. L. S.	Itú	F.	26-3-37	30	27-3-37	18,30	Positivo	Negativo		
182	B. M.	Cotia	M.	23-3-37	14,30	24-3-37	17	Positivo	Negativo		239
183	A. J. R.	Capital	M.	27-3-37	40'	27-3-37	9	Positivo	Negativo		240
184	M. A.	Valparaiso	M.					Positivo	Negativo		241
185	H. T.	José Teodoro ...	M.	29-3-37				Positivo	Negativo		244
186	B. R.	Campinas	F.	31-3-47	3	31-3-47	12,30	Positivo	Negativo		245
187	A. S.	Itú	M.	5-4-37	17	6-4-37	14	Negativo	Negativo		247
188	A. A.	José Teodoro ...	M.	5-4-37	9	5-4-37	15	Positivo	Negativo		248
189	P. I. R.	Parnaíba	M.	6-4-37		7-4-37		Positivo	Negativo		249
190	M. L.	Piquerobí	F.	5-4-37	10	5-4-37	16,30	Positivo	Negativo		250
191	U. M.	Pederneiras	M.	2-4-37	24	3-4-37	13	Positivo	Negativo		251
192	A. B.	Pedrosa (?)	M.	1-4-37	15	1-4-37	21	Positivo	Negativo		252

193	P. S.	Pres. Wenceslau	M.	3-4-37	19,30	4-4-37	7	Positivo	Negativo		253
194	A. J. S.	Pederneiras	M.	3-4-37	24	4-4-37	11	Positivo	Negativo		254
195	J. D.	Mogí das Cruzes	M.	10-4-37	6	11-4-37	11	Negativo	Negativo		255
196	G. K.	Pres. Prudente .	M.					Positivo	Negativo		256
197	A. S.	Pres. Wenceslau	F.	13-4-37	2	13-4-37	9,30	Positivo	Negativo		257
198	M. C.	Pres. Wenceslau	M.	10-4-37	5	10-4-37	11,30	Positivo	Negativo		258
199	B. B.	Mogí das Cruzes	M.	17-4-37	16	17-4-37	23,30	Positivo	Negativo		259
200	F. N. S.	Mogí das Cruzes	M.	18-4-37	24	19-4-37	18	Positivo	Negativo		260
201	J. G. B.	Pres. Prudente .	F.	20-4-37	12,30	20-4-37	16,30	Positivo	Negativo		261
202	J. R. M.	Pres. Wenceslau	M.	17-4-37	19	18-4-37	11,20	Positivo	Negativo		262
203	A. G.	Pres. Wenceslau	M.	17-4-37	-9	17-4-37	-16	Positivo	Negativo		263
204	J. E. S.	Pres. Wenceslau	M.	17-4-37	4	17-4-37	10,40	Positivo	Negativo		264
205	M. L.	Pres. Wenceslau	F.	18-4-37	1	18-4-37	10	Negativo	Negativo		265
206	O. A.	Mogí das Cruzes	M.	28-4-37				Negativo	Negativo		266
207	P. B. S.	Regente Feijó ..	M.	26-4-37				Positivo	Negativo	malária	267
208	T. S.	Regente Feijó ..		30-4-37				Negativo	Negativo	putrefação	268
209	T. A.	Regente Feijó ..		30-4-37				Positivo	Negativo	putrefação	269
210	A. C.	Regente Feijó ..	M.	5-5-37				Positivo	Negativo		270
211	A. V.	Pres. Prudente .	M.	13-5-37				Positivo	Negativo		271
212	A. M.	Mogí das Cruzes	M.	12-5-37	23,30	13-5-37	17,45	Negativo	Negativo		272
213	V. G.	Piracicaba	M.	14-5-37				Negativo	Negativo		273
214	A. C. S.	Santos	M.	11-5-37				Negativo	Negativo		274
215	M. A.	Pres. Wenceslau	M.	6-5-37	15,30	6-5-37	17,50	Positivo	Negativo		275
216	P. C.	Sta. Cruz R. S. Anast.	M.	4-5-37	14,30						
						4-5-37	16,30	Positivo	Negativo		276
217	L. I.	Pres. Wenceslau	M.	14-5-37	17,30	15-5-37	13,50	Positivo	Negativo		277
218	L. S.	Pres. Wenceslau	M.	6-5-37	13,30	6-5-37	17,30	Positivo	Negativo		278

N.º	Nome	Procedência	Sexo	Data do falecimento	Hora do falecimento	Data da viscerotomia	Hora da viscerotomia	Resultado quanto à febre amarela	Resultado quanto aos espiroquetas (Método Levaditi)	Outros resultados	N.º do Laboratório
219	J. R. X.	Pederneiras	M.	30-4-37	6	30-4-37	18,30	Positivo	Negativo		279
220	P. B.	Caiuá	M.	30-4-37	11,30	30-4-37	13,30	Positivo	Negativo		280
221	Z. G.	Porto Epitácio ..	M.	13- 5-37	5,30	13- 5-37	16,30	Positivo	Negativo		281
222	C. R.	Porto Epitácio ..	M.	30- 4-37	4,15	30- 4-37	9,15	Positivo	Negativo		282
223	M. B.	Col. Aimoré	F.	5- 5-37	19,15	5- 5-37	23,30	Positivo	Negativo		283
224	J. A.	Pres. Wenceslau	M.	9- 5-37	9	9- 5-37	12	Positivo	Negativo		284
225	T. N.	Pres. Wenceslau	M.	5- 5-37	13	5- 5-37	15	Positivo	Negativo		285
226	S. A. S.	Ribeirão d. Indios	M.	20- 5-37		21- 5-37	9	Positivo	Negativo		286
227	V. N. S.			24- 5-37	14,45	24- 5-37	20	Positivo	Negativo		287
228	M. P. A.	Pres. Wenceslau	F.	31- 5-37	17,30	31- 5-37	20,15	Negativo	Negativo		289
229	J. P. S.	Pres. Wenceslau	M.	4- 6-37	3	5- 6-37	9	Positivo	Negativo		291
230	A.M.D.E.	Pres. Wenceslau	F.	15- 6-37		15- 6-37	8,30	Positivo	Negativo		292
231	J. C. B.	Gramma	M.	27-10-37	16,40	28-10-37		Negativo	Negativo		296
232	A. M. A.	Gramma	F.	4-11-37	19	5-11-37		Negativo	Negativo		297
233	K. O.	Guará	F.	2-11-37	11	3-11-37	11,30	Negativo	Negativo		298
234	W. R.	Rio Claro	M.	21-10-37	1	30-10-37	8	Negativo	Negativo		299
235	L. F.	Rio Claro	F.	30-10-37	12,30	31-10-37	8	Negativo	Negativo		300

Localização das leptospiras no fígado — De acôrdo com Kaneko e Okuda⁴, a distribuição das espiroquetas (*Spirochaeta icterohaemorrhagiae*) nos vários órgãos do corpo humano, difere com o gráu de desenvolvimento da imunidade. Desaparecem primeiramente do fígado onde, pelo 7.º dia, as espiroquetas são quase completamente destruídas e raramente encontradas. Também nas supra-renais desaparecem logo, mas permanecem por algum tempo nos músculos, próstata, timo, apêndice, testículos, epidimo, etc. Nos rins, podem ser encontradas durante muito tempo.

Verne, Bariéty e Albeaux-Fernet⁷, num caso fatal de espiroquetose com ictericia, não constataram a presença de espiroquetas no fígado.

Essbach², relatando o achado de espiroquetas em diversos órgãos, no estágio secundário da moléstia de Weil, afirma que as leptospiras encontradas no fígado, foram em pequenas quantidades, no que aliás, está de acôrdo com Herxheimer, Dietrich, Beitzke, Inada e col., Kaneko e Okuda, Uhlenhut e Fromme, Busch-Fraenkel (citados por Essbach).

Gast-Galvis³, na Colombia, de um "número considerável de amostras" de fígado humano, com lesões de atrofia amarela aguda, fez cortes para corá-los pelos métodos de Levaditi e Warthin-Starry, com o fim de procurar leptospiras. O resultado porém, foi sempre negativo. Êste achado estava de acôrdo, com a não existência comprovada, até aquela época, de moléstia de Weil, na região (Antioquia). Finalmente, devemos citar Ashe, Pratt-Thomas e Kumpe¹ que, num artigo sôbre moléstia de Weil, apresentam sete casos, sendo dois fatais: apenas num dêstes foi encontrada uma só leptospira no fígado. Na opinião dos citados autores, é mais difícil encontrar espiroquetas da moléstia de Weil no fígado, do que nos rins.

Em resumo, vemos que, de um modo geral, a presença de leptospiras no fígado, fora dos primeiros dias de moléstia, não é frequente; quando presentes, sempre o são em número reduzido, de modo a tornar a sua descoberta, pelo exame histológico, mais difícil do que no rim. Êste é o órgão de eleição dêsses microorganismos; nêle podem ser encontrados durante muito tempo.

CONCLUSÕES

Não foram encontradas espiroquetas nos 235 fígados da serie da febre amarela, corados pelo metodo de Levaditi. Isso não exclue a possibilidade de alguns desses casos, negativos para febre amarela, serem moléstia de Weil, pois sabe-se que as leptospiras ictero-hemorrágicas só são encontradas no fígado nos primeiros dias de moléstia.

- 1 — ASHE, W. M. F.; PRATT-THOMAS, H. R. & KUMPE, C. W. — 1941 — Weil's Disease. A Complete Review of American Literature, and a Abstract of the World Literature — *Seven Case Reports. Medicine*, 20: 145.
- 2 — ESSBACH, H. 1938 — Ueber Spirochatenbefunde in Leichenorganen bei Ikterus infectiosus (Weilscher Krankheit) — *Virchows Arch. f. path. Anat.* 301: 752.
- 3 — GAST-GALVIS, A. — 1941 — Resultados del examen de las primeras 5.000 muestras de higado humano obtenidas en Colombia para el estudio de la fiebre amarilla — *Rev. Fac. Med. Bogotá*, 10: 87.
- 4 — KANEKO, R. & OKUDA, K. — 1937 — The distribution in the human body of spirochaeta icterohaemorrhagiae — *J. Exp. Med.*, 26: 325.
- 5 — SMILIE, W. G. — 1921 — O predomínio da leptospira ictero-hemorrágica nos rato de S. Paulo — *An. Paul. Med. Cir.* 12: 182.
- 6 — TOLEDO PIZA, J. de & SALLES GOMES, L. de — 1930 — Moléstia de Weil em SãoPaulo — *An. Paul. Med Cir.* 21:23
- 7 — VERNE, J.; BARIÉTY, M. & ALBEAUX-FERNET, M. — 1932 — Étude anatomique du foie dans un cas mortel de spirochétose ictérique — *Ann. d'Anat. Path.*, 9: 200.

A INFLUÊNCIA DA SEMEADURA TARDIA DAS FEZES NO ISOLAMENTO DO BACILO TÍFICO

JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES

Médico do Instituto Adolfo Lutz

Entre os diversos problemas dos laboratórios de saúde pública que recebem para exame materiais procedentes de localidades distantes, está o da preservação das fezes destinadas ao isolamento de germes patogênicos do grupo entérico.

O valor dos exames de fezes, cuja semeadura é tardia, diminui progressivamente à medida que aumenta o tempo compreendido entre a dejeção e o início da cultura. No verão, e essa é a época em que mais exames são feitos, as fezes, principalmente quando líquidas, já 12 horas depois de emitidas apresentam um acentuado aumento das bactérias não patogênicas, em relação ao bacilo tífico. Ora, o sucesso no isolamento da *Eberthella typhosa* das fezes, depende da proporção que este germe guarda com as outras bactérias presentes. Segundo Ficker e Hofmann, 1/300 é a menor relação que possibilita resultados positivos.

É necessário, portanto, impedir o desenvolvimento dos germes secundários das fezes no período compreendido entre sua emissão e semeadura nos meios seletivos. Para isso conta o bacteriologista com os meios de preservação e de enriquecimento.

No presente trabalho, estudaremos a influência da semeadura tardia das fezes no isolamento do bacilo tífico e a eficiência dos meios, preservativo de Teague e Clurman e de enriquecimento de tetratioato-verde brilhante Kauffmann.

Teague e Clurman, em 1916, concluíram que a emulsão de fezes numa solução de glicerina a 30% em cloreto de sódio a 0,6% conservava os bacilos tíficos vivos por um tempo mais longo que outros emulsionados para controle em solução salina simples.

Posteriormente novos pesquisadores, estudando o assunto, chegaram às seguintes conclusões: 1.º) a glicerina na concentração já referida não afeta o bacilo tífico; 2.º) em lugar de um aumento dos bacilos fermentadores da lactose, como ocorre em

fezes conservadas por muito tempo sem tratamento algum, há uma acentuada diminuição daqueles germes secundários.

O tetrionato foi recomendado em 1923 por Muller como um meio seletivo para o isolamento da *Eberthella typhosa* e outras bactérias do grupo *Salmonella*.

Em suas experiências iniciais Muller obtinha o tetrionato de sódio pela mistura de iodo e tiosulfato de sódio. Mais tarde introduziu também o carbonato de cálcio.

Verificou que enquanto o bacilo tífico desenvolvia-se bem em meio contendo 1,2% de tetrionato, o bacilo coli era inibido já na concentração de 0,4%.

Diversos investigadores confirmaram amplamente a descoberta de Muller, mas coube a Kauffmann em 1930 a introdução de algumas modificações e maior divulgação do processo. Kauffmann adicionou à fórmula original de Muller bile de boi a 5% e verde brilhante a 1/100.000. Conseguiu com essas alterações um aumento de 30% de isolamentos positivos de bacilo tífico sobre o número de resultados obtidos pela semeadura direta.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizamos êste estudo em 130 amostras de fezes enviadas ao laboratório entre fevereiro e setembro de 1946, para pesquisa do bacilo tífico.

Para maior segurança dos resultados e obtenção de dados comparativos mais reais, usamos somente as fezes procedentes do Hospital de Isolamento Emílio Ribas, desprezando os materiais recebidos dos Centros de Saúde do Interior do Estado, que devido às condições de transporte e grandes distâncias a percorrer, raramente chegam a seu destino em menos de 72 horas.

Em cada um dos casos recebidos, quatro exames foram executados, procedendo-se do seguinte modo: uma vez chegadas ao laboratório eram as fezes emulsionadas no meio glicerinado de Teague e Clurman, que conservado à temperatura ambiente, era semeado nos meios seletivos de isolamento 24 e 72 horas depois.

As fezes, deixadas no próprio recipiente em que eram recebidas, permaneciam durante 72 horas à temperatura do labora-

tório. Ao fim dêsse tempo procedia-se nova emulsão em glicerina-cloreto de sódio e agora também no meio de tetrionato-verde brilhante. Após 24 horas de permanência nestes meios de enriquecimento e preservação, efetuávamos mais duas sementeiras.

Como meios seletivos de isolamento usamos, seguindo a rotina dêste Instituto, os meios de Calazans-Rangel Pestana e de Holt-Harris e Teague. As colônias suspeitas eram isoladas em tríplice açúcar de Krumwiede e posteriormente identificadas por métodos sorológicos e eventualmente bioquímicos.

RESULTADOS

Dos 130 casos examinados conseguimos isolar o bacilo tífico 44 vezes.

O material emulsionado imediatamente em glicerina-cloreto de sódio e semeado 24 e 72 horas depois, forneceu respectivamente 38 e 40 resultados positivos.

Considerando-se o número total de casos isolados, isto é, 44 como correspondendo a um isolamento de 100%, as porcentagens relativas a êsses dois processos são respectivamente, 86,36% e 90,9%.

Como era de se esperar, resultados menos favoráveis foram obtidos com os materiais que receberam tratamento tardio pelos meios de enriquecimento.

Das fezes emulsionadas no meio de Teague e Clurman 72 horas depois de emitidas, somente 4 casos positivos foram conseguidos, isto é, 9,0%.

O tetrionato-verde brilhante de Kauffmann, mostrou-se mais eficiente para a sementeira tardia, pois possibilitou o isolamento do bacilo tífico 17 vezes, ou seja, 38,63%.

Total Positivo	Emulsão em Glicerina		Fezes 3 dias	
	24 horas	72 horas	Glic. 24 hs.	Kauff. 24 hs.
44	38	40	4	17
100,0%	86,36%	90,9%	9,0%	38,63%

COMENTÁRIO

Os resultados a que chegamos confirmam plenamente trabalhos anteriores publicados sobre o assunto.

O meio de Teague e Clurman, mesmo agindo sobre as fezes durante 72 horas, não mostrou nenhum efeito danoso sobre o bacilo tífico, permitindo um isolamento de 90%. Considerando-se o pequeno número de exames realizados, a diferença de 2 casos apenas entre a glicerina de 24 e a de 72 horas torna-se desprezível, podendo-se concluir que ambos os processos fornecem uma boa porcentagem de isolamento.

Já o mesmo não observamos com fezes que sofreram um retardo em sua cultura. Ficou bem evidenciado que uma demora de 3 dias acarreta a apreciável redução de 81,9% no isolamento da *Eberthella typhosa*, trabalhando-se com o meio de Teague e Clurman. Este, portanto, mostrou-se bastante ineficiente para fezes nas quais houve tempo para o desenvolvimento exagerado da flora normal. Para estes casos está indicado o emprêgo do tetrionato-verde brilhante de Kauffmann.

Usando este meio em fezes conservadas durante 72 horas sem tratamento algum, conseguimos aumentar 29% no isolamento da *Eberthella typhosa* em relação ao número obtido com o emprêgo da glicerina-cloreto de sódio.

CONCLUSÕES

1.º — Fezes destinadas ao isolamento do bacilo tífico, quando sujeitas a transporte demorado, deverão sempre ser conservadas no meio preservativo de Teague e Clurman.

2.º — Fezes recebidas para exame sem nenhum tratamento e já emitidas a algum tempo, deverão permanecer 24 horas no meio de enriquecimento de Kauffmann antes da sementeira nos meios seletivos de isolamento.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — TEAGUE, O. & CLURMAN, A. W. — 1916 — *Journ. Inf. Dis.* 18: 653.
- 2 — BENIANS, T. H. C. — 1918 — *Lancet* 1: 255

- 3 — MULLER, L. — 1923 — *Comp. rend. soc. biol.* 89: 434
- 4 — KNOX, R.; GELL, P.G.H. & POLLOCK, M. R. — 1943 — *The Journ. of Hyg.* 43: 147
- 5 — HAVENS, L. C. & DEHLER, S.A. — 1924 — *Journ. Lab. Clin. Med.* 10: 238
- 6 — GILBERT, R.; COLEMAN, M. B. & ZIMMER, M. 1926 — *Am. Journ. Public. Health* 16: 743
- 7 — HYNES, M. — 1942 — *Journ Path. and Bact.* 54: 193
- 8 — RUYS, A. C. 1940 — *Brot. Med. Journ.* 1: 606.
- 9 — JONES, E. R. — 1936 — *The Journ. Path. and Bact.* 42: 455.

SÓBRE ALGUMAS LUCITES POR SENSIBILIZADORES VEGETAIS

Fotodermites hipercrômicas causadas pela figueira

NICOLAU ROSSETTI

Prof. catedrático da Escola Paulista de Medicina
Biólogo-chefe do Instituto Adolfo Lutz

As hiperchromias cutâneas adquiridas são consequência da perturbação do metabolismo pigmentar da pele. Seu diagnóstico genérico não oferece dificuldade ao dermatologista; o etiológico traz, pelo contrário, com frequência sérios embaraços. É que as causas perturbadoras da melanogênese são múltiplas e nem tôdas conhecidas. Há as internas ou gerais, que agem "pelo lado de dentro", representadas sobretudo pelas perturbações endócrinas, tão do agrado dos clínicos, e por certas substâncias químicas circulantes, quase sempre medicamentos como o arsênico, o ouro, a antipirina e corpos afins, a tripaflavina, as sulfonamidas, etc. Outras, externas ou locais, pertencem à ordem dos mais diversos agentes mecânicos, físicos, químicos e mesmo biológicos que agri-dem a pele de fora para dentro em ação transepidérmica.

Algumas dessas causas, tanto internas como externas, não são isoladamente capazes de determinar a hiperchromia. Seu mecanismo de ação é mais complexo por necessitar de um fator adjuvante que revele a perturbação pigmentar que elas provocaram. Sem o concurso da luz, que é o agente desencadeador, não haveria, nesses casos, o aparecimento de lesão clinicamente perceptível. Agem, por isso, como substâncias fotodinâmicas, de maneira análoga às emulsões que permitem às chapas fotográficas gravar imagens luminosas.

Jausion e Pagès expuseram êsse mecanismo de luminossensibilização nas quatro seguintes equações, taxadas por êles mesmos de simplistas, mas que nem por isso deixam de ser úteis à compreensão superficial do fenômeno:

- 1.º Célula + luz = ausência de reação;
- 2.º Célula + catalizador = ausência de reação;
- 3.º Luz + catalizador = ausência de aquisição, por parte do catalizador, de propriedades biológicas novas;

e finalmente:

4.º Célula + catalizador + luz = reação biopatológica, isto é, *lucite*.

Esta última equação refere-se a qualquer quadro clínico das chamadas "*maladies de lumière*" que são muitas e variadas. Tratamos, aqui, unicamente de uma — as pigmentações, precedidas ou não de fenômenos inflamatórios, limitando-nos a algumas destas em que o catalizador é substância vegetal. Daí, para os casos de que nos ocupamos, a equação seria:

Pele + catalizador vegetal + luz = hiperchromia.

Dentre as hiperchromias dêste grupo algumas chamam a atenção do observador por uma particularidade do seu aspeto morfológico, que é, a nosso ver, fundamental porque fornece pista segura para o diagnóstico etiológico. Não se trata, na maioria dos casos, de manchas *inexpressivamente* redondas, ovaladas ou irregulares; sua forma, logo ao primeiro exame, nos diz ser reprodução de imagem criada por líquido que tivesse escorrido sobre a pele. Cobrem às vêzes, extremidades de artos como se estas tivessem sido mergulhadas em tinta (Fig. n.º 1). As bordas são ou simplesmente onduladas ou se desfazem não raramente em ramificações serpeantes dirigidas no sentido da declividade, lembrando gotas escorridas. Às vêzes êsses ramúsculos, progressivamente mais finos, convergem e se entrecruzam limitando ilhotas de pele normal, como superfícies não alcançadas por uma inundação, ou desenham uma trama pigmentada que delimita malhas mais claras. Ao redor e à pequena distância pode haver manchas menores espalhadas à maneira de líquido salpicado na proximidade (Fig. n.º 3). Outras vêzes há verdadeiras impressões digitais como se um dedo molhado tivesse decalcado a pele. Conformação e disposição tão originais dificilmente poderiam ser desprezadas como insignificantes. Vê-se, logo, que revelam ao observador esclarecido ter havido, no caso, a imprescindível ação externa de uma substância líquida.

Freund tinha notado manchas semelhantes dispostas na frente sobretudo em derredor do limite de implantação dos cabelos, aos lados do pescoço, sôbre a nuca, na parte alta do dorso e do peito. Apareciam em pessoas que usavam Água de Colônia e se achavam na ocasião expostas à intensa irradiação luminosa das praias ou montanhas. Afirmou com razão e demonstrou o papel fotocatalizador do óleo de bergamota contido no perfume e a ação desencadeadora dos raios solares.

Como capazes de determinar o mesmo fenômeno foram, mais tarde, apontadas outras substâncias vegetais.

Dentre estas desejamos pôr em destaque o suco dos frutos, dos ramos e das fôlhas da figueira (*Ficus carica*). É de Straton (1912), ao que parece, a primeira verificação de lesões cutâneas causadas por essa planta.

Chaïm Berlin, em 1930, e Houloussi-Behdjet, em 1933, trataram do mesmo assunto, mas não perceberam o papel do fator luz na determinação da dermatose por figueira. Todavia, *Chaïm Berlin* notara o aparecimento tardio das lesões em certos casos, isto é, muito depois do contato com a figueira, atribuindo-o, porém, ao prurido que se instala ulteriormente e ao conseqüente atrito das unhas ao coçar. Pensou assim justificar, também, a forma linear ou em fita das lesões, lembrando, mesmo, como fenômeno análogo, o que pode acontecer em outra dermatose, o líquen plano, cujas pápulas aparecem, às vêzes, ordenadas em linha sôbre marcas de coçadura.

Mais tarde Kitchevatz (1936), dentre os casos que teve ocasião de examinar, observou um que lhe abriu nova via para a explicação etiológica da dermatose por figueira, até êsse momento tida como simples toxidermia. Tratava-se de moça com lesões sôbre o dorso das mãos e dos dedos, uniformemente distribuídas, exceto no dedo médio da mão direita e no anular da esquerda em que aparecia uma fita circular de pele normal correspondendo ao lugar dos anéis que ela costumava trazer. Era impossível, notou o autor, admitir-se que a substância tóxica do figo não tivesse entrado em contato com a pele protegida pelos anéis; portanto, a dermatose não aparecera nesses lugares por não ser devida simplesmente ao efeito de substância tóxica, mas a um agente que necessita da colaboração da luz. Os anéis teriam impedido que a

ação da luz se exercesse sobre a pele impregnada por uma substância fotossensibilizadora que deveria existir nos figos.

Com essa interpretação *Kitchevatz* colocava a dermatose dos figos no seu legítimo lugar, entre as *lucites*.

Pelo que ficou dito atrás pode parecer que seja a hiperchromia a única manifestação dessa fitodermatose.

Na verdade, a alteração pigmentar aparece como reliquat de outras alterações cutâneas (eritema acompanhado ou não de edema e de formação de bôlhas), ou apresenta-se "d'emblée" como, de regra, acontece com a hiperchromia por Água de Colônia.

Referimo-nos sobretudo à hiperchromia por ser, a nosso ver, o mais saliente e duradouro sintoma, chamando sobre si, com maior freqüência, a atenção do observador. Não só constitui, muitas vezes, manifestação única, como também suas características particulares indicam a pista para diagnóstico certo.

O paciente, ao constatar a pigmentação, não a relaciona (por ser tardia e muitas vezes único sintoma) com o contato que teve com a figueira ou com os seus frutos. Mas, a configuração da hiperchromia e seu matiz inconfundível pardo-bronze orientam a anamnese para a explicação segura da alteração cutânea.

Vejamos algumas observações nossas:

CASO I — Maria Aparecida M., branca, de 21 anos de idade, procura-nos na segunda-feira, 14 de março de 1938, bastante nervosa, suspeitando ter no rosto "um começo de erisipela". Apresentava na face direita uma lesão em tira estreita, nitidamente delimitada, de côr mais rósea do que avermelhada. Começando com pouco mais de 1 cm. de largura à altura do trágus descia obliquamente, afinando-se, até a proximidade da narina direita. A paciente não se queixava de sensação anormal ao nível da lesão e nem de manifestações gerais.

Pareceu-nos tratar-se de dermite artificial, sem atinarmos com a causa devido, como verificamos depois, à falta de boa orientação no interrogatório. Tranquilizamos, contudo, a paciente excluindo qualquer possibilidade de erisipela, e a deixamos em observação.

Na quarta-feira seguinte, isto, quarenta e oito horas mais tarde, volta a cliente em estado de inquietação muito mais acentuada. Moça loura, bonita, naturalmente faceira, vinha alarmada por se terem alastrado as lesões do rosto e tomado colorido diferente que ressaltava sobre a tez clara da face. Verificamos, logo à primeira vista, que a fita estreita primitivamente obser-

vada, já não era rósea; sua côr transmudara-se em pardo de bronze, matiz que já tínhamos aprendido ser inconfundível e capaz, quase por si só, de orientar o diagnóstico. Numerosas outras lesões semelhantes, algumas ainda róseas, quase tôdas, porém, já pigmentadas, partindo da borda de implantação dos cabelos, *escurriam* sinuosas sobretudo através da face direita e do mesmo lado do pescoço. Mais largas no alto, vinham como filêtes se estreitando à medida que desciam, terminando ora em ponta fina, ora arredondada como se fôra uma gôta terminal.

O quadro sugeria a hipótese de um líquido que, descendo do couro cabeludo, em grossas gôtas e filêtes, tivesse assinalado sua passagem nos pontos em que secara. Interrogada com mais propriedade a paciente, soube-se que três dias antes, na vespera de sua vinda à primeira consulta, tinha tratado os cabelos com infuso de folhas de figo, na crença de lhes dar côr mais bonita. Sabíamos, já, da ação fotodinâmica de substâncias da figueira por termos visto anteriormente outros casos que vão relatados mais adiante e pelo conhecimento da respectiva literatura. Foi-nos, por isso, fácil reconstruir tôda a história que se desenvolveu da seguinte maneira:

- a) *sábado* (dia 12): — Tratamento dos cabelos com infuso de fôlhas de figo; os cabelos foram enxugados torcendo-os e espremendo-os para o lado direito da cabeça, o que explica o aparecimento ulterior das lesões sobretudo do lado direito da face e do pescoço, por ter quase todo o líquido escorrido sôbre essa parte. Exposição solar pouco intensa e curta, cêrca de 7 minutos.
- b) *segunda-feira* (dia 14): — Primeira consulta, devido ao aparecimento de uma única lesão eritematosa em fita, notada desde a véspera.
- c) *terça-feira* (dia 15): — A paciente esteve, pela manhã, em um clube, freqüentando a piscina e “*tomando muito sol*” durante cêrca de hora e meia. À tarde sente o lado direito do rosto afogueado e percebe o esboço de novas lesões.
- d) *quarta-feira* (dia 16): — Volta à consulta com numerosas lesões pigmentadas cujo aspeto foi acima descrito.

CASO II — Dezenia D, branca de 26 anos de idade, vem consultar por ter notado, há 25 dias, o aparecimento de marcada diferença de côr na pele das mãos.

Vê-se de fato, a extremidade distal do dorso das mãos e superfície dorsal das falanges tingidas de pardo-bronze bem acentuado, desbotando-se gradualmente para o lado das pontas dos dedos (Fig. nº 1). A borda proximal da mancha é bem definida, em linha ondulada e se destaca com nitidez pelo contraste da hiperchromia, que aí alcança seu matiz mais intenso, com a pele normal limítrofe. A palma das mãos não se apresenta alterada, mas as superfícies laterais das falanges mostram pigmentação semelhante. A forma e disposição da mancha, sua tonalidade mais intensa numa extremidade e gradual-

mente menos intensa na outra, dão a impressão de ter sido causada por líquido que, derramado entre os dedos, tivesse vindo espalhar-se no dorso das mãos e das falanges.

A paciente referiu que cerca de dois meses antes preparara licor de fôlhas de figo, mergulhando-as em álcool. Após oito dias, ao decantar o álcool, devido a um movimento descuidado o líquido derramou-se-lhe nas mãos, escorrendo entre os dedos e cobrindo as superfícies atualmente pigmentadas. Como o líquido tinha, no momento, cor verde fluorescente, a pele por ele umedecida tomou tonalidade esverdeada. A paciente lavou-se então imediatamente, conseguindo com o emprego de sapólio fazer desaparecer a cor verde. Nada mais notou de anormal até que, vinte dias mais tarde, o aparecimento da mancha pardo-bronze veio alarmá-la e a conduziu à consulta.

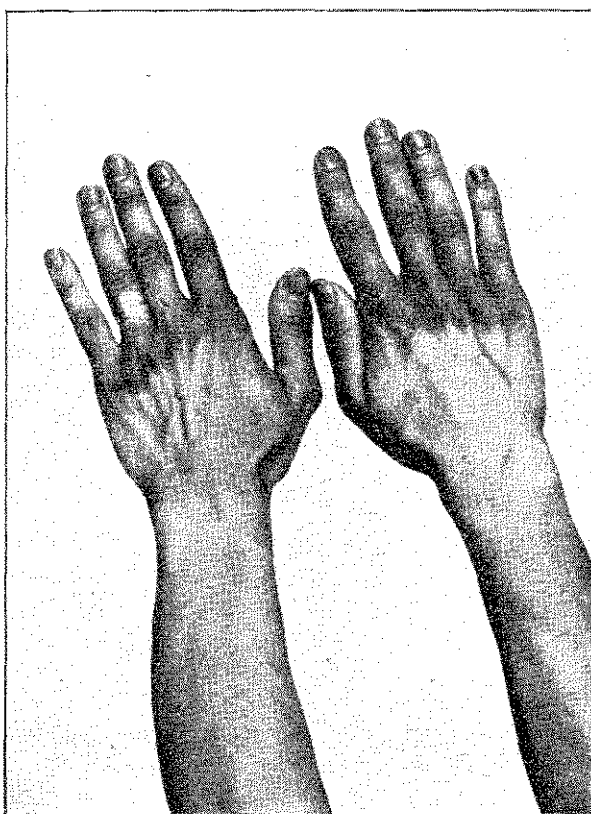


FIG. N. 1 — Dezmia D. (caso II) — Hiperchromia por fôlhas de figo.

Preparamos um extrato alcoólico de fôlhas de figo, copiando o que fizera a paciente. O líquido esverdeado fluorescente obtido foi, em seguida, pincelado em dois pontos separados da pele do dorso da paciente, desenhando em ambos

os pontos a figura de uma cruz. Um dos pontos foi irradiado com raios ultra-violeta durante 10', a um metro de distância; o outro foi mantido coberto. Cerca de 24 horas depois, aproximadamente, pudemos verificar que neste último a pele não sofrera nenhuma alteração, enquanto que no primeiro, irradiado, tornara-se visível uma cruz eritematosa que depois se pigmentou.

CASO III — Carlos A R., branco, de cerca de 3 anos de idade, apresenta em novembro de 1935, sobre a pele do dorso, uma perfeita impressão digital de cor pardo-bronze. Achava-se nessa ocasião em fazenda e passava muitas horas do dia vestido apenas de calção. Resultou da anamnese que na véspera do aparecimento da mancha, dia muito quente e luminoso de novembro, a mãe fôra com êle ao pomar colher figos verdes com que fazer doce. A mancha testemunhava a impressão de um dos dedos da mãe lambuzado do látex da planta.

CASO IV — Maria D., branca de 7 anos de idade, é trazida à Consulta por lhe terem os pais notado, no dia precedente, mudança de cor da pele do lábio inferior. Nada apresenta de anormal a não ser uma mancha parda de aspeto escorrido que ocupa toda a parte alta do lábio inferior. A paciente estava passando o verão em uma chácara; aí, dois dias antes provara um figo verde, lambuzando a parte inferior da boca.

CASOS V e VI — Irene O. e Antonieta G., ambas brancas, a primeira de 36 e a segunda de 28 anos de idade, vêm juntas à Consulta no dia 8 de janeiro do corrente ano. Apresentam manchas pardas nas mãos e antebraços. Irene mostra sobre a mão direita uma grande mácula bronzeada que se alastra sobre o dorso dos dedos (Fig. n.º 2) descendo para o lado cubital da mão, onde se delimita em linha ondulada, como se um líquido pardo aí tivesse escorrido e secado no lugar. Dentro da área dessa grande mancha há pequenas ilhotas de pele normal dando a impressão que estas áreas não foram alcançadas pelo líquido, mas apenas contornadas. Sobre o dorso de algumas falanges percebem-se vestígios de eritema que contrasta com o pardo-bronze da parte pigmentada. Nestes pontos há leve descamação. A mão esquerda de Irene traz mancha de igual cor que ocupa não sómente a superfície dorsal dos dedos, mas também o dorso da própria mão. Aqui a pigmentação alastra-se em superfície mais extensa; a mancha não é unida em uma só placa, mas distribuída de modo desigual e toma o aspeto rendilhado ou de rede com tramas pardas que incluem malhas de pele normal (Fig. n.º 3). O dorso das falanges mostra, em alguns pontos, vestígios de eritema.

No antebraço do mesmo lado há manchas menores, em gotículas, como se o líquido tivesse salpicado à distancia.

Quanto à sua companheira, Antonieta G., ao exame das mãos e antebraços (Fig. n.º 4) notam-se manchas de cor igual, todas sugerindo a mesma idéia de líquido escorrido, com salpicos tanto na proximidade das manchas maiores do dorso das mãos como à distancia, sobre os antebraços.

Do interrogatório resulta a seguinte história: No dia 23 de dezembro ambas colheram cêrca de 100 figos verdes, que depois de limpos com pano e submetidos à fervura em água e cinza, foram deixados em água limpa até o dia seguinte. Nesse dia, 24 de dezembro, retiraram, um por um, os figos da água e os pelaram. Referem que, ao retirarem a película dos frutos, escoava-se um líquido de consistência gomosa, que tornou pegajosas as mãos das pacientes, incomodando-as. Por essa razão trataram, logo, de lavar-se cuidadosamente utilizando água e sabão e mesmo pedra-pomes, esta para a palma das mãos. Não mais manipularam os figos, tendo o doce sido feito por outras pessoas que, de resto, nada apresentaram.

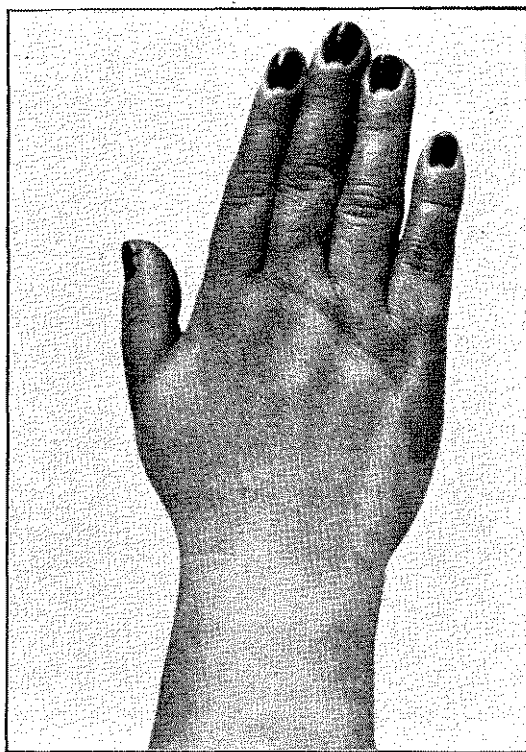


FIG. N. 2 — Irene O. (caso V). Dorso da mão direita com pigmentação por figo.

Na tarde dêsse dia e no dia seguinte (25 de dezembro) estiveram pescando, expostas ao sol durante cêrca de 2 a 3 horas cada dia. Foi sómente no dia 26 que perceberam modificações na pele das mãos. Havia avermelhamento, certo grau de edema e mesmo algumas pequenas bôlhas, e sensação de dor local. Aplicaram unguento de picrato de butesin e, temendo infecção, tomaram sulfadiazina. A pigmentação começou a se instalar no dia 28, tanto nas partes em que o contato da substância pegajosa provocara reação eritematosa e eritemato-bolhosa como nos pontos em que nada houvera a princípio.

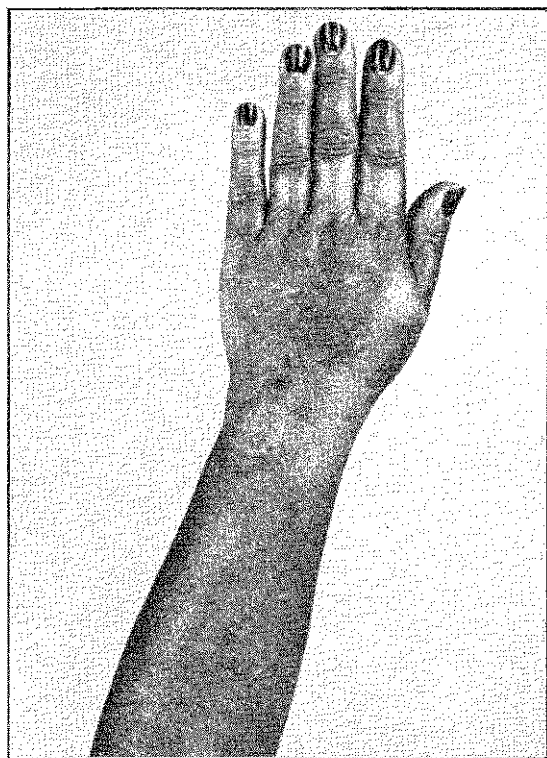


FIG. N. 3 — Irene O. (caso V) — Mão e antebraço esquerdos com pigmentação por figo.

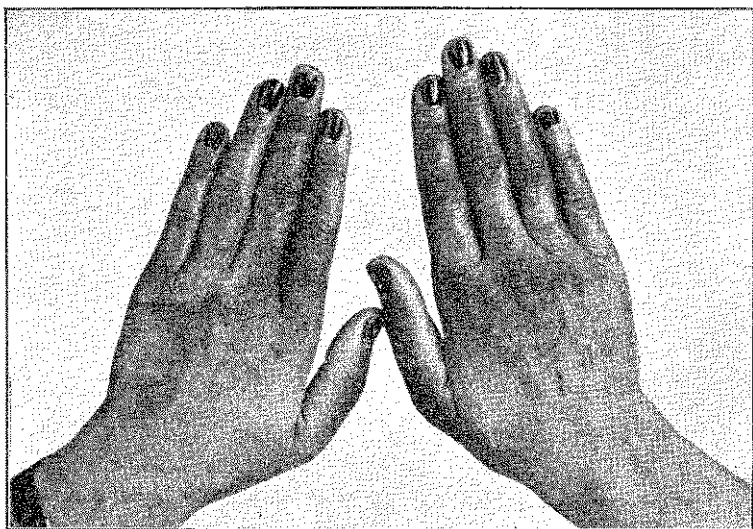


FIG. N. 4 — Antonietta G. (caso VI) — Pigmentação por figo.

CASO VII — Rosa, branca, de meia idade, procura-nos por ter notado manchada, no dia anterior, a borda interna de ambas as mãos. Realmente, uma longa fita de clássica côr pardo-bronze ocupa tôda a borda cubital das mãos e sobe, desbotando-se ao nível da articulação dos punhos. Dias antes esta senhora manipulara figos verdes para fazer doce, transferindo-os, com as mãos em concha, de uma vasilha, onde tinham sido colocados por uma empregada, para outro recipiente. O líquido que dêles escorria juntava-se sobretudo na fresta entre as mãos, o que explicava a localização da mancha. A exposição ao sol era de se presumir devido a ser parte descoberta. A pigmentação não fôra precedida por eritema perceptível.

CASO VIII — Mme F., rica dama da sociedade paulista vai no verão passar alguns dias em sua chácara. Volta, dias depois, assustada com o aparecimento de fitas pardas no lado cubital do dorso das mãos e dos antebraços. Neste caso, também, a anamnese revela contato com figos verdes que a paciente andou colhendo e manipulando para fazer doce.

CASO IX — Célia K. M., branca, de 23 anos de idade, estivera uma semana antes de nos consultar colhendo figos verdes e tentara, mesmo, subir em uma figueira. Dois dias depois notou nas mãos e dias mais tarde na superfície anterior das pernas e no dorso dos pés, a presença de manchas pigmentadas. O exame da doente mostra a existência, nesses pontos, de hiperchromia com a forma e côr já citadas nos casos precedentes. É de se notar, neste caso, que as manchas das pernas não se manifestaram ao mesmo tempo que as das mãos porque, nos dias seguintes ao contato com o látex da figueira, a paciente usou meias durante cêrca de 3 a 4 dias. Foi sómente após 2 dias em que esteve sem meias, portanto com a pele exposta à insolação intensa de dezembro, que também nas pernas e dorso dos pés se tornaram manifestas as lesões até então latentes.

Desejamos salientar dois pontos em nossas observações.

1.º *a longa duração da latência da luminossensibilização provocada por substâncias vegetais* é evidente em diversos dos casos citados. Não queremos tomar como exemplo o caso II.º cuja latência extraordinariamente longa (20 dias) tem para prová-la unicamente a informação da paciente. Preferimos, para maior rigor, pôr em relevo o caso I.º em que a duração da latência foi por nós diretamente observada. Aqui, não obstante o contato com o infuso de fôlhas de figo se ter dado no dia 12, sómente no dia 16, isto é, quatro dias depois, a dermatose se tornou realmente manifesta com o desenvolvimento pleno do seu quadro. Não resta a menor dúvida que o agente desencadeador foi a insolação intensa do dia anterior exercida sôbre a pele cuja preparação fotocatalizadora datava, já, de quatro dias.

2.º a lavagem da pele imediatamente após o contato não impede a ação fotossensibilizadora. No caso I.º a pele do rosto não deixou de ser submetida aos habituais cuidados de higiene, isto é, lavagem com água e sabão, no intervalo transcorrido entre o contato com o infuso de fôlhas de figo (dia 12) e a ação intensa da luz (dia 15). Não obstante, a fotossensibilização não foi afastada e a luz pôde determinar a lucite.

Isto contraria a afirmação de Straton (citado por Prosser White e por Touton) que a dermatose não aparece se a pele fôr lavada após o contato. No caso acima a lavagem foi feita e repetida nos dias que se seguiram, até o aparecimento da lesão. Aliás, o mesmo se deu nos casos II.º, V.º e VI.º: a pele não foi só lavada logo após a manipulação com os derivados da figueira, como também, por se tratar de contato com as mãos, estas puderam ser submetidas à limpeza muito mais enérgica, com sapólio em um dos casos e com sabão e pedra-pomes nos outros.

* * *

Qual seja o princípio luminossensibilizador contido no suco da figueira é questão que tem interessado diversos pesquisadores.

Kitchevatz, em março de 1934, escrevendo sôbre a etiologia e patogenia da "dermatitis bullosa pratensis striata", que é, também, uma fotofitodermatose, atribuiu à clorofila o papel de fotocatalizador. Meses mais tarde, em novembro do mesmo ano, relatou experiências feitas em paciente de fotodermite por figo, das quais resultou que nesta moléstia não, é a clorofila o agente sensibilizador.

Kuske, em 1938, reviu tôda a questão, mostrando que as diversas fotodermites resultantes de sensibilização exógena-percutânea por substâncias ativas vegetais têm grande analogia entre si no que diz respeito ao aspeto das lesões, ao decurso e sobretudo ao reliquat que é muito caraterístico sob a forma de pigmentação intensa e muito duradoura. Atribui a coincidência dêsses dados ao fato de serem as fotodermites acima consequência de um único e mesmo mecanismo patogênico: a fotossensibilização. Uma patogenia idêntica sugere-lhe a possibilidade de ser encabeçada por fator etiológico também idêntico, no sentido de ser o agente catalizador uma mesma e única substância química. Com o auxílio de *Mùhlenman* pôde levantar a hipótese de que se tratasse de furocumarinas presentes na maioria das plantas capazes de exercerem

ação fotocatalizadora. Experimentou, então, furocumarinas quimicamente puras, conseguindo os fenômenos cutâneos de luminosensibilização em qualquer indivíduo e, ao que parece, independentemente do tipo pigmentar da pele, da cor dos cabelos e do maior ou menor grau da adaptação à luz. Sua conclusão é que a unidade etiológica das fitofotodermites deve ser considerada muito verossímil, sendo que tôdas essas manifestações de luminosensibilização basear-se-iam na ação fotocatalítica das furocumarinas.

A outros investigadores, que puderem trabalhar com substâncias de origem vegetal quimicamente puras, fica o encargo de dizer a palavra decisiva sobre esta interessante questão.

RESUMO

O A. ocupa-se, neste trabalho, de fitofotodermatoses devidas a contato com partes da figueira ou com seus frutos, dando especial relêvo à pigmentação que disso resulta. A hiperchromia é posta em destaque como sinal diagnóstico fundamental, não só por se apresentar, às vêzes, como único sintoma de fotossensibilização como, também, pela cor e forma que lhe são próprias. A cor pardo-bronze tem matiz característico; a forma sobrelêva, ainda mais, em importância. Trata-se, na maioria dos casos, de manchas que não são *inexpressivamente* redondas, ovaladas ou irregulares. Pelo contrário, sua forma sugere, logo à primeira vista, a imagem de líquido que tivesse escorrido sobre a pele deixando, ao secar, a sua marca. As manchas maiores têm bordas onduladas que se desfazem, às vêzes, em filêtes serpeantes, dirigidos no sentido da declividade, entrecruzando-se de modo a delimitar ilhotas de pele normal. Outras manchas tomam o aspeto de salpicos, de gotas escorridas e mesmo de impressão digital. Tôdas revelam a preexistência da ação externa de uma substância líquida.

A colaboração da luz como elemento desencadeador é indispensável, como o demonstrou Kitchevatz, porquanto a substância da figueira representa, nesses casos, o elemento fotocatalizador.

O A. refere 9 observações próprias fazendo, de algumas, exposição minuciosa do quadro clínico e das circunstâncias que permitiram a realização do fenômeno, sobretudo no que diz respeito ao tempo decorrido entre o contato com o líquido e o aparecimento das lesões.

Verifica-se que a ação fotossensibilizadora permanece latente longo tempo, o que permite o aparecimento da dermatose à primeira insolação, mesmo quando se realiza muitos dias após o contato. Outrossim, o A. faz notar que a lavagem da região imediatamente após o contato não impede o aparecimento das lesões, ao contrário do que afirmou Straton. Em 3 dos casos observados pelo A. a fitofotodermatose apareceu após insolação apesar de ter sido a pele lavada depois do contato com o látex da figueira. A divergência com a afirmação de Straton talvez esteja na dependência da intensidade maior ou menor do contato.

Finaliza o A. lembrando a hipótese de Kuske sôbre a possibilidade de terem tôdas as fotodermites, devidas à ação sensibilizadora exógena-percútânea de substâncias vegetais, uma única etiologia. Seriam tôdas causadas por um mesmo grupo de substâncias químicas presente nas plantas capazes de fotossensibilização; segundo Kuske, o das furocumarinas.

A investigadores com possibilidade de trabalhar com substâncias de origem vegetal quimicamente puras fica o encargo de dizer a palavra decisiva a respeito.

SUMMARY

The A. deals, in this work, with the Phytophotodermatitis occurring after contact with parts of fig tree or their fruits, pointing out especially the resulting pigmentation. The hypercromy is brought out as fundamental diagnostic sign, not only because it is sometimes the only photosensibilization symptom present but also because of its peculiar shape and color. The brown bronzed color has characteristic hues; the shape gives it more importance. In most cases the macules are not *inexpressively* round, oval or irregular. On the contrary, its shape suggests the image of fluid which might have run down over the skin, leaving its mark, as it dries up. The bigger macules have undulated borders which break up, sometimes, in undulated streaks running downward, often anastomosing to limit islands of normal skin. Other macules look as though they were sprinkled, or look like rundown drops or they are like digital impressions. They all show the preexistence of the external action of a liquid substance.

The action of light, as disclosing is indispensable, as Kitchevatz showed, since the fig substance represents, in these cases, the photocatalysing element.

The A. publishes nine cases of his own and in some of them he makes through exposition of the clinical picture and the circumstances which allowed the phenomenon to take place, especially regarding time elapsed between the contact with the liquid and the manifestation of the lesions.

It is stressed that the photosensibilizing action remains latent for long time, which permits the flaring up of the dermatosis at the first sunlight exposition even when this occurs many days after the contact. Besides, the A. calls attention to the fact that washing the skin immediately after the contact does not prevent the lesions, contrary to what Straton states. In three of the cases observed by the A. the Phytophotodermatitis appeared after sun exposure although the skin had been washed after the contact with the fig latex. The divergence from Straton may perhaps be due to the bigger or smaller intensity of the contact.

Finally the A. invokes Kuske hypothesis about the possibility of all photodermatitis, due to the percutaneous-exogen sensibilizing action of active vegetable substance, having the same etiology. The would all be caused by the same group of chemical substance present in plants capable of photosensibilizing action; according to Kuske, the furocumarins.

It is up to those working with chemically pure substance of vegetable origin, to say the last word on such interesting chapter.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BERLIN, CHAIM — 1930 — Feigenbaumdermatitis — *Dermatologische Wochenschrift*. 90 n.º 22:733
- 2 — TOUTON, KARL — 1932 — Hauterkrankungen durch phanerogamische Pflanzen und ihre Produkte (Toxidermia et Allergodermia phyto-genes) — *Handbuch der Haut — und Geschlechtskrank. J. Jadas-son* 4: 1
- 3 — HOULOSSI, BEHJET — 1933 — Dermatite des figues et de figuiers — *Bull. Soc. Franc. Dermatol. Syphil.* 39: 787.
- 4 — JAUSION, HUBERT et FRANÇOIS PAGÈS — 1933 — Les maladies de lumière et leur traitement — *Masson et Cie.*

- 5 — KITCHEVATZ, M. — 1934 — Étiologie et pathogenèse de la dermatite des figues — *Bull. de la Soc. Derm. et Syph.* 40: 1751.
- 6 — ALEIXO, A. — 1935 — Dermatose provocada pela água de figo — *Brasil-Médico* n.º 25 p. 533
- 7 — KITCHEVATZ, M. — 1936 — Nouvelles recherches sur la photosensibilisation de la peau—*Bull. de la Soc. Derm. et Syph.*42:581.
- 8 — POPOFF, LUBIN und BOUDIMIR ZAHARIEFF — 1935 — Uber die Dermatitis bullosa, striata und pigmentosa (Feigenbaumdermatitis) und ihre klinischen und pathogenetischen Analogien mit der Dermatitis bullosa striata pratensis Oppenheim und der Dermatitis phytogenes bullosa, striata und pigmentosa durch Euphorbiaceae hervorgerufen — *Jb. Univ. Sofia, Med. Fak.* 14: 153-170 u. franz. Zusammenfassung 166-169.
- 9 — PAIONNE, JOSÉ — 1938 — Um caso de dermatose papulo-bolhosa produzida pelo leite de figo — *Brasil-Médico* n.º 14 p. 347.
- 10 — KUSKE, H. — 1938 — Experimentelle Untersuchungen zur Photosensibilisierung der Haut durch pflanzliche Wirkstoffe. Lichtsensibilisierung durch Furocumarine als Ursache verschiedener phytogener Dermatosen — *Archiv. fur Dermatologie und Syphilis* — Berlin. Band 178: 112
- 11 — BEHCET, HULUSI, BERTA OTTENSTEIN, KURT LION et FRIEDRICH DESSAUER — 1939 — Les dermatites des figues. Recherches des influences, chimiques, physiques et allergiques pouvant provoquer la dermatite des figues. *Ann. de Dermatologie* (7.^a série) 10: 32.
- 12 — BLUM, HAROLD FRANCIS — 1941 — Photodynamic action and diseases caused by light — *Reinhold Publishing Corporation* — N. York.
- 13 — KLAEBER, ROBERT — 1942 — Phytophotodermatitis — *Brit. J. Dermat.* 54: 193-211 Ref. *Year Book of Dermat. and Syph.* (1942) 69-72.

TIPOS SOROLÓGICOS DE *Sh. PARADYSENTERIAE* ENCONTRADOS EM SÃO PAULO

SYLVIO SOARES DE ALMEIDA
AUGUSTO DE E. TAUNAY
JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES

Médicos do Instituto Adolfo Lutz

AMÉLIA PACHECO TRIGO

Téc. Lab. do Instituto Adolfo Lutz

Uma identificação exata dos diferentes tipos de *Sh. paradysenteriae* é frequentemente impossível por meio de provas bioquímicas, pois tipos diversos de *b. paradysentéricos* podem apresentar idênticas reações nos meios diferenciais comumente usados. Os métodos sorológicos são os únicos que permitem uma identificação precisa, condição particularmente importante sob o ponto de vista do estudo e controle epidemiológicos. O processo de aglutinação em lâmina com soros tipo-específicos, constitui um método rápido e econômico de identificação sorológica; uma vez preparados os soros necessários a tipagem dos bacilos do grupo paradysentérico se faz de forma simples e adequada às finalidades práticas.

A complexidade da estrutura antigênica da *Sh. paradysenteriae* dificultou de início a sua classificação sorológica. Das diversas tentativas neste sentido, a de Andrewes e Inman¹ foi a que teve melhor êxito. Êstes AA. postularam a existência de 4 tipos que denominaram V, W, X e Z. Além desses que se caracterizavam pela preponderância em cada um dêles dos respectivos antígenos V, W, X e Z, admitiram ainda a existência de um 5.º tipo, denominado Y, caracterizado por possuir os 4 antígenos acima em proporções mais ou menos igualmente distribuídas e dois tipos VZ e WX, nos quais êsses dois antígenos estariam representados em quantidades igualmente significativas. Êsse esquema de Andrewes e Inman demonstrou-se exato no sentido de que permitia a classificação da maioria das amostras de *Sh. paradysenteriae*; no entanto um número relativamente grande de culturas não se enquadrava dentro dessa classificação.

Boyd² estudando o comportamento sorológico de grande número de bacilos paradisentéricos confirmou nas suas linhas gerais a classificação de Andrewes e Inman, alterando-a porém em alguns pontos e desenvolvendo-a, de modo a incluir novos tipos que nela não estavam anteriormente representados. Assim, Boyd admitiu a existência dos tipos V, W e Z de Andrewes e Inman considerando porém os tipos X e Y como variantes degradadas, respectivamente dos tipos Z e W. Descreveu também 9 tipos sorológicos diferentes, todos êles possuindo um antígeno específico próprio; dêsses novos tipos apenas 2 se relacionavam com os tipos V, W e Z de Andrewes e Inman por intermédio de antígenos secundários comuns, caracterizando-se os outros 6 por não possuírem êsses antígenos de grupo ou apresentá-los em quantidade muito reduzida.

Os trabalhos de Boyd levaram então a uma nova classificação sorológica dos b. paradisentéricos: os tipos V, W e Z de Andrewes e Inman e mais os 3 tipos correlatos de Boyd passaram a ser designados "Flexner" I a VI, enquanto os 6 tipos restantes tomaram a denominação de "Boyd" I a VI.

A existência dos novos tipos sorológicos de *Sh. paradysenteriae* descritos por Boyd tem sido geralmente confirmada, particularmente graças aos importantes trabalhos de Wheeler³ e de Weil⁴. Há entretanto, divergências entre as afirmações dêsses dois AA. Wheeler se aproxima mais dos conceitos de Boyd, ao negar a individualidade das amostras X e Y como tipos sorológicos definidos e ao afirmar que os antígenos tipo-específicos que caracterizam as diversas amostras de *Sh. paradysenteriae* são qualitativamente diferentes dos antígenos grupo-específicos.

Para Wheeler uma determinada amostra de *Sh. paradysenteriae* se relaciona com as demais por antígenos de grupo comuns, mas é caracterizada pela presença de um só antígeno tipo específico que lhe é próprio e que não se encontra nas amostras restantes. Weil, ao contrário, chega a conclusões semelhantes às primitivas de Andrewes e Inman pois aceita a validade dos tipos X e Y e acredita que as amostras sejam caracterizadas por um componente antigênico primário, associado a outros antígenos quantitativamente menos importantes e por isso denominados secundários. Um determinado antígeno primário, isto é, predominante em uma determinada amostra, poderá ser secundário em outra. Weil identificou 14 antígenos diferentes nos b. para-

disentéricos; a predominância de um desses antígenos é que caracteriza a amostra como "tipo" sorológico definido. Admite, por outro lado, que existam 3 tipos mistos, isto é, nos quais se encontrem dois componentes antigênicos dominantes, e portanto com caracteres de antígeno primário. Sob o ponto de vista prático, as divergências entre as opiniões de Wheeler e Weil não teriam maior significação, se não tendessem a tornar algo confusa a classificação sorológica dos *b. paradysentéricos*, pois nem sempre há correspondência entre os diversos tipos desses AA.

No quadro I estão reproduzidas as classificações de Andrewes e Inman e a de Boyd, com a sua equivalência em relação à mais recente de Wheeler⁵ e que foi por nós adotada neste trabalho.

QUADRO I

Andrewes e Inman	Boyd	Wheeler
V	V	I
W	W	II
Z	Z	III
—	Boyd 103	IV
—	Boyd P 119	V
—	Boyd 88	VI
X	—	—
Y	—	—
—	Boyd 170	VII
—	Boyd P 288	VIII
—	Boyd P 274	IX
—	Boyd D 1	X
—	Boyd D 19	XI
—	Boyd P 143	XII

MÉTODOS E MATERIAL

O método utilizado por nós para a identificação sorológica dos *b. paradysentéricos* foi, em suas linhas gerais, o proposto por Wheeler⁶, tanto para o preparo dos soros polivalentes e tipo específicos como para as aglutinações em lâmina.

SOROS: As amostras de *Sh. paradysenteriae* utilizadas na preparação dos soros foram cedidas por Wheeler a um de nós (A.E.T).

Tratava-se de amostras lisas (suspensão estável, não aglutináveis por solução de tripaflavina a 0,2% e com morfologia normal). Os animais foram inoculados em dias alternados na quantidade de 1cc com doses crescentes da suspensão de germens; a 1.^a inoculação foi mais ou menos de 300.000.000 e a última de 1.200.000.000 por cc. Foram feitas 5 inoculações, sendo as duas primeiras sub-cutâneas com germens em suspensão formolada a 0,4% e as três últimas na veia com germens vivos.

Após 5 dias da última inoculação procedia-se a uma sangria de prova, com sangue obtido por punção do coração quando não foi possível a punção da veia marginal da orelha.

Verificada por aglutinação em tubo a existência de um título suficiente procedia-se à sangria definitiva. O sangue era obtido em condições de limpeza, mas não de assepsia; era conservado em geladeira por 24 horas mais ou menos quando então se procedia à centrifugação e separação do soro, adicionando-se por fim ácido fênico na concentração de 0,5%, o que mantém a esterilidade apesar da técnica "sética".

Com os diversos soros assim obtidos prepararam-se 2 soros polivalentes, que foram denominados A e B. O soro A foi obtido misturando-se partes iguais dos soros I a VI e o B adicionando-se partes iguais dos soros VII a XII. O funcionamento de ambos foi verificado por aglutinação em lâmina com as diversas culturas utilizadas nas inoculações, como se pode observar nas quadros II e III.

QUADRO II

Soro Polivalente A	Aglutinação em lâmina com as amostras													
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	X	Y
não absorvido	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+

QUADRO III

Soro Polivalente B	Aglutinação em lâmina com as amostras															
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	X	Y	Son nei	Alk.
não absorvido	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
absorvido com Sh. sonnei e Alkales cens.	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Os soros puros para um determinado tipo foram obtidos após se ter verificado por aglutinação em lâmina, quais as amostras que davam aglutinações cruzadas; entre estas escolhiam-se as que demonstravam aglutinação mais intensa para com elas proceder à absorção das aglutininas não desejadas. Quase sempre as reações mais fortes foram obtidas com as raças X e Y, que por êsse motivo foram as mais frequentemente usadas. As raças eram semeadas na véspera em tubos de caldo glicosado, e 2cc. do caldo eram então distribuídos em placas de alumínio (25 x 25 cms), contendo ágar comum ou ágar Hottinger; após 24 horas a 37° retirava-se o excesso do líquido e o crescimento era aspirado com uma pipeta Pasteur, sendo quase sempre necessário diluir um pouco a cultura com pequena quantidade de sôro a absorver. A quantidade de germens necessários para uma absorção completa é evidentemente variável em cada caso particular; por tentativa verificamos que na maioria das vezes era necessária uma placa (25x25cms) para a absorção de 15cc de sôro.

Os soros a serem absorvidos foram diluídos a 1/10 com solução fisiológica e as absorções realizadas em banho-maria a 37-39° durante 2 horas. Findo êsse prazo eram centrifugados a 4.000 rotações por minuto em centrífuga inclinada e o sôro límpido separado por aspiração. Verificava-se a seguir, por aglutinação em lâmina, se a absorção fôra completa; caso contrário, procedia-se a nova absorção até desaparecimento completo das aglutininas não específicas. A seguir cada um dos soros tipo-específico era experimentado com outras amostras de *Shigellas* com o fim de verificar a possível existência de reações cruzadas. Tal fato foi verificado apenas com os soros IX e XI que precisaram ser absorvidos respectivamente com amostras de Sh. *Alkalescens* e Sh. *Sonnei*, o que confirma observações anteriores de Wheeler sôbre a existência de componentes antigênicos comuns entre os tipos P274 (IX) e D19 (XI) e as referidas *Shigellas*. Obtido o sôro específico para o tipo desejado, adicionava-se ácido fênico como preservativo e distribuía-se o sôro em pequenos frascos de vidro munidos de rôlha com conta-gotas.

O quadro IV mostra de maneira esquemática todas as operações realizadas para a obtenção dos diversos soros tipo-específicos e o seu comportamento após as respectivas absorções. Para

evitar confusão com o tipo X (Wheeler), a raça X de Andrewes e Inman é representada entre parentesis (X).

QUADRO IV

SÔRO TIPO-ESPECÍFICO		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
ABSORVIDO COM AS CULTURAS	(X),Y	I	I	I	(X),Y	(X),Y	—	I,Y	Alk.	I,(X)	Sonnei	I,II	
	II III	Y	(X),Y	III		I		(X)	I,Y		I,(X),Y		
EXPERIMENTADO COM AS CULTURAS	I	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	II	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	IV	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	V	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
	VI	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
	(X)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Y	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	VII	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
	VIII	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
	IX	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0
	X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
	XI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
XII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
Sonnei	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Alk.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

CULTURAS: As amostras utilizadas no presente trabalho apresentavam os caracteres morfológicos e culturais e as reações bioquímicas gerais próprias do grupo; foram na sua maior parte isoladas no Instituto Adolfo Lutz durante os últimos anos, em nosso laboratório; outras nos foram fornecidas pela Coleção de Culturas do referido Instituto e pelo Dr. Luís de Sales Gomes; algumas nos foram cedidas pelos Drs. Lucas Assumpção (Faculdade de Higiene e Saúde Pública) e Nelson Planet (Instituto Biológico). Os germens foram cultivados em tubos de ágar-comum; após 24 horas de estufa a 37° foi adicionada aos tubos solução fisiológica formolada (a 0,4%) em quantidade adequada para se obter uma suspensão espessa. Verificada a inexistência de auto-aglutinação a suspensão era aspirada com uma pipeta Pasteur mu-

nida de um pequeno filtro de algodão na extremidade afilada, e uma gota era depositada sobre a superfície quadriculada de uma placa de Hudleson. Cada raça era experimentada inicialmente com os dois soros polivalentes A e B. Para isso depositava-se uma gota do respectivo sôro sobre a gota da suspensão dos germens; misturava-se com um fino bastão de vidro e verificava-se a existência ou não de aglutinação. Quando esta não se manifestava imediatamente prolongava-se a observação por alguns minutos (4 ou 5), submetendo-se a placa a movimentos de rotação. Verificada a aglutinação com qualquer dos 2 soros, procedia-se então à prova com os soros específicos correspondentes, procedendo-se de forma semelhante à anterior. Quase sempre as aglutinações foram rápidas e nítidas, muitas vezes imediatas; três culturas apesar de aglutinadas a frio com o sôro polivalente A precisaram ser previamente fervidas durante meia hora, para aglutinarem com os soros tipo-específicos.

RESULTADOS

Foram examinadas 225 amostras de *Sh. paradysenteriae*.

Dêsse total, 200 culturas (88,8%) puderam ser identificadas como tipos sorológicos no conceito de Wheeler, isto é, como possuindo um antígeno tipo-específico único; 25 amostras não puderam ser classificadas de acôrdo com êsse conceito.

O quadro anexo (V) mostra a freqüência dos vários tipos sorológicos no material por nós estudado.

QUADRO V

Tipos de Wheeler	Equivalência	N.º de culturas	%
I	Andrewes V	34	17 %
II	Andrewes W	100	50 %
III	Andrewes Z	7	3,5%
IV	Boyd 103	19	9,5%
V	Boyd P 119	26	13 %
VI	Boyd 88	5	2,5%
VII	Boyd 170	2	1,0%
VIII	Boyd P 288	1	0,5%
IX	Boyd P 274	0	0,0%
X	Boyd D 1	0	0,0%
XI	Boyd D 19	3	1,5%
XII	Boyd P 143	3	1,5%

DISCUSSÃO

A análise dos resultados obtidos revela com grande evidência a predominância dos tipos de Wheeler I, II e III (V, W e Z primitivos de Andrewes e Inman) que constituem 70,5% do total examinado; nos restantes 29,5% estão incluídos os demais tipos "Flexner" e 4 dos tipos "Boyd", não tendo sido identificados representantes dos tipos IX e X (Boyd P274 e D1). Examinados sob o ponto de vista dessa conclusão geral, os nossos resultados se aproximam dos que têm sido obtidos pelos AA. estrangeiros ^{7, 8 e 9} que estudaram a distribuição dos diferentes tipos sorológicos dos b. paradisentéricos, e bem assim dos de A. Assis e colaboradores,¹⁰ realizados no Rio de Janeiro. É digno de nota, no entanto, o achado no nosso material, de um número relativamente grande de amostras pertencentes aos tipos Boyd 103 e Boyd 119, representados por 22,5% contra apenas 3,5% no material estudado por Assis. Com relação à frequência dos tipos individualmente considerados, os nossos dados confirmaram a maior incidência do tipo II (primitivo tipo W de Andrewes e Inman) que sózinho representa 50% de todos os tipos encontrados. Situa-se a seguir, o tipo I (Andrewes V), com 17% do total.

Das 5 amostras identificadas como tipo VI, quatro se comportaram bioquimicamente como o bacilo Manchester, e uma como Boyd 88. Acreditamos que a porcentagem de 2,5% encontrada para este tipo sorológico não represente a sua frequência real, pois a particularidade cultural facultativa de produzir gás nos meios de isolamento ou identificação habituais tende a dificultar o seu reconhecimento como b. disentérico.

Das 25 culturas que não puderam ser identificadas como pertencendo a nenhum dos tipos sorológicos admitidos por Wheeler, 16 aglutinavam com o sôro polivalente A, mas não eram aglutinadas por nenhum dos soros univalentes, tipo-específicos, adequadamente absorvidos. No conceito de Boyd e que é também o de Wheeler, essas amostras devem ser consideradas como pertencendo aos primitivos tipos X ou Y de Andrewes e Inman ou seja

como tipos que perderam os seus antígenos específicos, possuindo apenas os antígenos de grupo. As 9 culturas restantes comportaram-se de maneira diversa, pois aglutinaram igualmente bem com mais de um sôro tipo específico, confirmando aparentemente a afirmativa de Weil, com relação à existência de tipos sorológicos mistos. Tais culturas serão objeto de futuras pesquisas que oportunamente serão publicadas.

RESUMO

Os AA. estudaram o comportamento sorológico de 225 culturas de *Sh. paradysenteriae*, utilizando-se do método de aglutinação em lâmina com sôros tipo-específicos, proposto por Wheeler. Puderam ser identificadas como tipos sorológicos definidos 200 amostras, 50% das quais foram classificadas como tipo II; foram também frequentes os tipos I (17%), V (13%) e IV (9,5%). Os demais tipos foram identificados com menor freqüência, não tendo sido encontrados os tipos IX e X. Não foram demonstrados antígenos tipo-específicos em 16 culturas, que devem ser considerados como raças X ou Y. Segundo os conceitos de Wheeler, não puderam ser classificadas 9 amostras, pois revelaram possuir mais de um antígeno tipo-específico.

SUMMARY

The authors analysed serologically 225 cultures of *Shigella paradysenteriae* by the slide-agglutination test of Wheeler with type-specific sera. Of the 200 cultures that could be identified by this method, type II was the most frequent (50%); also common were types I (17%), V (13%) and IV (9,5%). Other types were identified less frequently; no types IX and X were found. Type-specific antigens were not detected in 16 cultures; since strong reactions were given by them with polyvalent sera they were regarded as belonging to the former X and or Y types. Agglutination with more than one type-specific sera was obtained with 9 other *Sh. paradysenteriae* cultures; these strains will be more thoroughly studied and reported later.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ANDREWES, F. W. e INMAN A. C. — 1919 — A study of the serological races of the Flexner group of dysentery bacilli — *Medical Research Council, Special Report Series*, N.º 42, London.
- 2 — BOYD, J. S. K. — 1938 — The antigenic structure of the manitol-fermenting group of dysentery bacilli — *J. Hyg.*, 38: 477-499.
- 3 — WHEELER, K. M. — 1944 — Antigenic relationships of *Shigella paradysenteriae* — *J. Immunol.*, 48: 87-101.
- 4 — WEIL, A. J. BLACK, J. e FARSETTA, K. — 1944 — The serological types of *Shigella Paradysenteriae* (Flexner). — *J. Immunol.*, 49: 321-351.
- 5 — 1945 Stool and urine cultures for enteric disease organisms. Connecticut State Department of Health. Bureau of Laboratories Approved Method EN-1
- 6 — WHEELER, K. M. — 1944 — Serological Identification of Dysentery bacilli — *Am. J. Public Health*, 34: 621-629.
- 7 — GONZÁLEZ, I. M. e OTERO, P. M. — 1945 — Antigenic and biochemical studies of *Sh. paradysenteriae* isolated in Puerto Rico. *J. Immunol.*, 50: 373-376.
- 8 — EWING, W. H. e GRAVATTI, J. L. — 1947 — *Shigella* types encountered in the Mediterranean area — *J. Bact.*, 53: 191-195.
- 9 — FULTON, M. e CURTIS, S. F. — 1946 — Bacteriology of collection of *Shigella* Strains — *J. Inf. Dis.*, 78: 198-203.
- 10 — ASSIS, A., MONTEIRO FILHO, A. e RIBEIRO, V. R. L. — 1946 — Tipos sorológicos de *Shigella paradysenteriae* no Rio de Janeiro — *O Hospital*, 30: 367-374.

ESTUDO DA POSSIBILIDADE DA SUBSTITUIÇÃO ISOMORFA DOS HALOGÊNIOS E GRUPOS PSEUDOHALOGÊNIOS NA ORTO- E PARA-POSIÇÃO DO ÁCIDO BENZÓICO *

WALDOMIRO PREGNOLATTO
Químico do Instituto Adolfo Lutz

PARTE TEÓRICA

O presente trabalho estuda a possibilidade da substituição isomorfa dos halogênios e grupos pseudohalogênios na posição orto- e para- do ácido benzóico. Contém a elaboração da análise térmica de 22 sistemas binários, que foram todos determinados pelo método de "degêlo-fusão".

Entendemos por substituição isomorfa a propriedade que têm certos átomos ou grupos de átomos de substituir outros átomos ou grupos de átomos num mesmo composto, e os compostos assim resultantes poderem formar cristais mixtos.

A possibilidade da substituição isomorfa dos halogênios entre si e destes por pseudohalogênios, (os grupos hidroxilo, amino e metilo) vem sendo estudada, especialmente nos últimos dêcenios, em compostos orgânicos pertencentes às mais diferentes classes. Assim é por exemplo, que sistemas binários entre ácido benzóico, ácidos halogenobenzóicos e pseudohalogenobenzóicos são abundantemente encontrados na literatura elaborados especialmente por H. Lettré com seus colaboradores.

Na Tabela I, reunimos todos os sistemas binários até hoje conhecidos entre os ácidos mencionados acima.

Podemos verificar pela Tabela I que o estudo dos sistemas binários ficou incompleto. Faltam ainda os sistemas entre os ácidos fluorobenzóicos com ácido benzóico, (com exceção do sistema ácido benzóico e ácido p-fluorobenzóico) e com todos os ácidos halogenobenzóicos e pseudohalogenobenzóicos. Falta tam-

* (Extraído da Tese de Doutorado dirigida pelo Prof. Dr. H. Rheinboldt)

TABELA I

<i>Sistema binário</i>	<i>Resultado</i>	<i>Autores</i>	<i>Literatura N.º</i>
Ác. benzóico e ác. p-fluorobenzóico	C. M. IV	S. A. Koopal	1
Ác. benzóico e ác. o-clorobenzóico	E E	H. Lettré e colabs. J. T. Bornwater e A. F. Holleman	2 3
Ác. benzóico e ác. m-clorobenzóico	E E	H. Lettré e colabs. J. T. Bornwater e A. F. Holleman	2 3
Ác. benzóico e ác. p-clorobenzóico	E E	H. Lettré e colabs. J. T. Bornwater e A. F. Holleman	2 3
Ác. benzóico e ác. o-bromobenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. benzóico e ác. m-bromobenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. benzóico e ác. p-bromobenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. benzóico e ác. o-iodobenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. benzóico e ác. m-iodobenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. benzóico e ác. p-iodobenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. o-clorobenzóico e ác. o-bromobenzóico	C. M. I	H. Lettré e colabs.	2
Ác. m-clorobenzóico e ác. m-bromobenzóico	C. M. III	H. Lettré e colabs.	2
Ác. p-clorobenzóico e ác. p-bromobenzóico	C. M. I	H. Lettré e colabs.	2
Ác. o-clorobenzóico e ác. o-iodobenzóico	C. M. III	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. m-clorobenzóico e ác. m-iodobenzóico	C. M. III	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. p-clorobenzóico e ác. p-iodobenzóico	C. M. III	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. o-bromobenzóico e ác. o-iodobenzóico	C. M. III	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. m-bromobenzóico e ác. m-iodobenzóico	C. M. I	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. p-bromobenzóico e ác. p-iodobenzóico	C. M. I	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. benzóico e ác. o-hidroxibenzóico	E E E E	F. M. Jaeger K. Hrynakowsky H. Lettré e colabs. E. Vitale	5 6 2 7
Ác. benzóico e ác. m-hidroxibenzóico	E E	H. Lettré e colabs. E. Vitale	2 7
Ác. benzóico e ác. p-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2

TABELA I (continuação)

Sistema binário	Resultado	Autores	Literatura N.º
Ác. benzóico e ác. o-metilbenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. benzóico e ác. m-metilbenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. benzóico e ác. p- metilbenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. benzóico e ác. o-amino-benzóico	Composto, 1:2	E. Vitale	7
Ác. o-clorobenzóico e ác. o-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e colabs.	8
Ác. m-clorobenzóico e ác. m-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e colabs.	8
Ác. p-clorobenzóico e ác. p-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e colabs.	8
Ác. o-clorobenzóico e ác. o-metilbenzóico	C. M. incompleto	H. Lettré e colabs.	8
Ác. m-clorobenzóico e ác. m-metilbenzóico	C. M. III	H. Lettré e colabs.	8
Ác. p-clorobenzóico e ác. p-metilbenzóico	C. M. I	H. Lettré e colabs.	8
Ác. o-bromobenzóico e ác. o-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. m-bromobenzóico e ác. m-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. p-bromobenzóico e ác. p-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e colabs.	2
Ác. o-bromobenzóico e ác. o-metilbenzóico	C. M. I	H. Lettré e colabs.	2
Ác. m-bromobenzóico e ác. m-metilbenzóico	C. M. (tipo ?)	H. Lettré e colabs.	2
Ác. p-bromobenzóico e ác. p-metilbenzóico	C. M. I	H. Lettré e colabs.	2
Ác. o-iodobenzóico e ác. o-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. m-iodobenzóico e ác. m-hidroxibenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. p-iodobenzóico e ác. p-hidrobencóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. o-iodobenzóico e ác. o-metilbenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. m-iodobenzóico e ác. m-metilbenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. p-iodobenzóico e ác. p-metilbenzóico	E	H. Lettré e P. Lehmann	4
Ác. o-hidroxibenzóico e ác. o-metilbenzóico	E	H. Lettré e colabs.	8
Ác. m-hidroxibenzóico e ác. m-metilbenzóico	E	H. Lettré e colabs.	8
Ác. p-hidroxibenzóico e ác. p-metilbenzóico	E	H. Lettré e colabs.	8

E = eutético

C. M. I, II, III, IV e V = cristais mixtos do tipo I, II, III, IV e V, segundo a classificação de H. W. B. Roozeboom. (9)

bém o estudo de todos os sistemas binários entre os ácidos aminobenzóicos com todos os ácidos halogenobenzóicos e pseudohalogenobenzóicos.

Resolvemos então, em primeiro lugar, completar a série dos sistemas binários do grupo dos ortocompostos. Estudamos o comportamento cristalográfico do ácido o-fluorobenzóico, primeiro em relação ao próprio ácido benzóico e, segundo, em relação aos outros ácidos o-halogeno- e o-pseudohalogenobenzóicos. Este estudo abrange sete sistemas binários.

Como sabemos, sempre o primeiro membro de cada família do sistema periódico dos elementos químicos mostra propriedades diferentes dos demais elementos pertencentes à mesma família. Ora, sendo o flúor o primeiro elemento da família VII, seria lícito esperarmos a revelação de sistemas binários diferentes, quando um dos componentes fosse constituído pelo ácido fluorobenzóico, daqueles obtidos com os outros ácidos halogenobenzóicos.

Que nos diz agora a experiência? A experiência veio confirmar em parte as previsões deduzidas da teoria.

De fato, no primeiro sistema binário que estudamos:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido benzóico — (pág. 120, fig. 2) constatamos a formação de cristais mixtos, em proporção limitada, pois o diagrama de estado pertence ao tipo V da classificação de H. W. Bakhuís Roozeboom⁹, apresentando uma lacuna de miscibilidade que se estende de cerca de 35% até cerca de 75% do ácido o-fluorobenzóico. Trata-se aqui de comportamento diferente do flúor em relação aos outros halogênios como substituinte na posição orto do ácido benzóico, pois os ácidos o-clorobenzóicos, o-bromobenzóico e o o-iodobenzóico formam com ácido benzóico, só simples conglomerados.

A substituição isomorfa de um átomo de hidrogênio pelo flúor foi, porém, já várias vezes observada. Assim é que L. Klemm, W. Klemm e G. Schiemann¹⁰, os primeiros a estudarem o comportamento cristalográfico de compostos orgânicos fluorados, comunicaram que, benzena com fluorobenzena formam cristais mixtos limitados do tipo V, naftalena com 2-fluoronaftalena e difenila com 3-fluorodifenila dão uma série contínua de cristais mixtos do tipo I e toluena com o- ou m-fluorotoluena, difenila com 2- ou 4-fluorodifenila formam séries contínuas de cristais mixtos do tipo III.

Estudamos em seguida o sistema binário:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido o-clorobenzóico (pág. 121, fig. 3) e constatamos que, neste caso, o cloro e o flúor podem substituir-se isomórficamente, pois verificamos a provável existência de uma série contínua de cristais mixtos, pertencendo o sistema ao tipo III da classificação de Roozeboom. É de se notar, porém, que a curva "solidus" do sistema binário decorre, conforme nossas determinações, horizontalmente, isto é, à mesma temperatura, numa longa extensão (ca. 40%) do diagrama. Assim sendo, nossas determinações não excluem o caso do tipo V, isto é, formação limitada de cristais mixtos com eutético, hipótese esta reforçada pelo fato do traçado das curvas "liquidus" e "solidus" não revelar um mínimo definido.

A formação de cristais mixtos entre compostos orgânicos fluorados e clorados foi observada em vários casos: Fluorobenzena com clorobenzena formam, segundo P. Pascal¹¹, cristais mixtos limitados do tipo V. L. Klemm, W. Klemm e G. Schiemann¹⁰ acharam a formação de séries contínuas de cristais mixtos do tipo III nos sistemas: 2-fluoronaftalena e 2-cloronaftalena, 4-fluorodifenila e 4-clorodifenila, e M. Hasselblatt¹² observou uma série contínua de cristais mixtos, do tipo III, no sistema: m-fluoronitrobenzena e m-cloronitrobenzena.

Já no sistema binário constituído pelos:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido o-bromobenzóico, (pág. 122, fig. 4) constatamos que os componentes formam entre si só parcialmente cristais mixtos, pertencendo o sistema ao tipo V da classificação de Roozeboom, com uma lacuna de miscibilidade que vai de 30 a 100% do ácido o-bromobenzóico e um ponto de transição na curva liquidus, e um eutético a 106° e 45% do mesmo ácido.

A formação de cristais mixtos entre fluor e bromo-derivados já foi observada nos sistemas binários fluorobenzena e bromobenzena: C. M. V, P. Pascal¹¹ 2-fluoronaftalena e 2-bromonaftalena: C. M. III, L. Klemm, W. Klemm e G. Schiemann,¹⁰ e m-fluoronitrobenzena e m-bromonitrobenzena: C. M. III, M. Hasselblatt¹².

Examinamos em seguida o sistema binário:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido o-iodobenzóico, (pág. 123 fig. 5) e constatamos aqui, a formação de um simples conglomerado entre os componentes. Cristais mixtos entre compostos orgânicos fluorados e iodados foram observados por P. Pascal¹¹ no sistema fluorobenzena e iodobenzena: C. M. V,

com grande lacuna de miscibilidade entre 25 e 75 mol %, e por M. Hasselblatt¹² no sistema m-fluoronitrobenzena e m-iodo-nitrobenzena: formação limitada de cristais mixtos do tipo IV ou V. Outros sistemas não foram publicados até hoje. Podemos dizer agora, da análise de todos os sistemas binários possíveis entre os ácidos o-halogenobenzóicos, que os resultados conseguidos em nossas determinações experimentais, em conjunto com os dos autores anteriores, concordam, de maneira geral:

- 1.º) com o fato de que as diferenças nas propriedades físicas são muito maiores entre o flúor e os outros halogênios como substituintes de compostos orgânicos do que as que existem quando comparamos cloro, bromo e iôdo entre si.
- 2.º) com o fato de que o átomo de flúor em ligação orgânica é muito menos volumoso do que os átomos dos outros halogênios.

Temos na tabela II alguns valores numéricos determinados por L. Pauling e M. L. Huggins¹³ que ilustram as diferenças existentes entre o raio do átomo do flúor e os dos demais halogênios em ligação homeopolar.

TABELA II

F	Cl	Br	I
0,64	0,99	1,14	1,33 A°

Prosseguindo nos nossos estudos passamos a verificar se o átomo de flúor, como substituinte na posição orto do ácido benzóico, pode ser isomòrficamente substituído pelos pseudohalogênios hidroxilo (HO-), amino (H₂N-) e metilo (H₃C-).

Esse estudo está baseado na tese da deslocação dos hidretos (Hydridverschiebungssatz) de H. G. Grimm¹⁴. Esse autor declara aí que os três radicais acima mencionados, também chamados por êle pseudoátomos, apresentam relações com os elementos da família dos halogênios, declaração esta que, de resto, encontrou várias vezes confirmação em trabalhos experimentais.

A tese da deslocação dos hidretos está ilustrada pela tabela III, que reproduzimos da tese de doutoramento de Francisco Berti, e foi resumida pelo autor nos seguintes termos:

“Os átomos dos elementos que se acham no sistema periódico dos elementos químicos nos quatro lugares que precedem um gás nobre modificam as suas propriedades pela adição de a átomos de hidrogênio ($a = 1, 2, 3, 4$) de tal maneira que os novos agrupamentos assim formados se comportam como pseudoátomos, pseudoátomos êstes que se assemelham aos átomos dos elementos colocados, no sistema periódico, de a grupos à direita daqueles átomos aos quais se adicionou o hidrogênio”.

TABELA III

Número dos electrons periféricos		DIAMETRO						GRUPO DO S. P. E.
		IV	V	VI	VII	VIII	I	
Número dos átomos de hidrogênio	0	C	N	O	F	Ne	Na	D I Á M E T R O
	1		CH	NH	OH	FH		
	2			CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ +	
	3				CH ₃	NH ₃	OH ₃ +	
	4					CH ₄	NH ₄ +	
Valência Hidrogênica		-4	-3	-2	-1	0	+1	

Esta semelhança entre os átomos e os seus correspondentes pseudoátomos, quer no volume por êles ocupado, quer em outras propriedades físicas, resulta, na opinião de Grimm, do fato dos protons dos átomos de hidrogênio, adicionados a êstes hidretos, se acharem em uma posição interna tal que a camada eletrônica periférica tem, tanto nos átomos como nos pseudoátomos, a mesma composição e a mesma configuração.

* * *

Examinamos em primeiro lugar o sistema binário:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido o-hidroxibenzóico (pág. 124, fig. 6). Constatamos que os componentes são miscíveis no estado sólido, pois o diagrama de estado pertence ao tipo IV da classificação de Roozeboom, apresentando um ponto de transição na curva "liquidus". Este fato demonstra, mais uma vez, comportamento totalmente diferente do flúor em comparação com os outros halogênios, pois que os ácidos o-cloro, o-bromo e o-iodobenzóico formam somente simples eutéticos com o ácido o-hidroxibenzóico. Sistemas entre compostos orgânicos fluorados e hidroxilados não foram até hoje pesquisados, sendo este o primeiro exemplo. Conhecem-se porém, já há muito tempo, vários minerais nos quais os ions hidroxilo e flúor se substituem isomôrficamente.

Em seguida analisamos o sistema binário:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido o-metilbenzóico (pág. 125, fig. 7), e constatamos que os componentes podem formar um composto equimolar entre si de fusão incongruente.

A formação de um composto equimolecular entre ácido o-fluorobenzóico e ácido o-metilbenzóico deveria poder explicar-se pela hipótese estabelecida em 1908 por J. Kendall¹⁵, à base de seus trabalhos experimentais, e que diz:

"Compostos moleculares se formam sempre quando as constantes de dissociação eletrolítica dos componentes são bastante diferentes entre si, isto é, quando um dos componentes é um ácido forte em relação ao outro".

Indicamos na tabela IV as constantes de dissociação eletrolítica dos ácidos o-fluorobenzóico e o-metilbenzóico, e podemos verificar que esses dois ácidos mostram só uma relativamente pequena diferença de acidez.

É preciso observar, no entretanto, que a hipótese de Kendall não tem, absolutamente valor rigoroso, como foi apontado já em 1922 por P. Pfeiffer, no seu livro "Organische Molekülverbindungen" e também provado experimentalmente, por H. Lettré, em 1940¹⁶. Na tabela IV reunimos todos os sistemas binários por nós pesquisados, indicando a constante de dissociação eletrolítica dos componentes, para assim, comparando os resultados previstos por uma tal hipótese e os encontrados em nossas verificações experimentais, demonstrarmos mais uma vez o nenhum valor da hipótese de Kendall.

TABELA IV

Sistema binário	K.	Determinada por	Literatura N.º	Resultado	
				Encontrado	Previsto
Ácido o-fluorobenzóico e ác. benzóico	3.10 ⁻⁴ 0,686.10 ⁻⁴	J. H. Slothouwer G. F. White e H. C. Jones	17 18	C. M. V	
Ácido o-fluorobenzóico e ác. o-clorobenzóico	3.10 ⁻⁴ 1,3.10 ⁻³	J. H. Slothouwer J. Kendall	19 19	C. M. III ou V	Composto
Ácido o-fluorobenzóico e ác. o-bromobenzóico	3.10 ⁻⁴ 1,4-1,8.10 ⁻³	J. H. Slothouwer L. D. Smith e H. C. Jones	17 20	E	Composto
Ácido o-fluorobenzóico e ác. o-iodobenzóico	3.10 ⁻⁴ 1,4.10 ⁻³	J. H. Slothouwer Schalleer	17 21	E	Composto
Ácido o-fluorobenzóico e ác. o-hidroxibenzóico	3.10 ⁻⁴ 1,06.10 ⁻³	J. H. Slothouwer G. F. White e H. C. Jones	17 18	C. M. IV	Composto
Ácido o-fluorobenzóico e ác. o-metilbenzóico	3.10 ⁻⁴ 1,35.10 ⁻⁴	J. H. Slothouwer G. F. White e H. C. Jones	17 22	Composto	
Ácido o-fluorobenzóico e ác. o-aminobenzóico	3.10 ⁻⁴ 6,71.10 ⁻⁶	J. H. Slothouwer G. F. White e H. C. Jones	17 18	E	Composto
Ácido o-aminobenzóico e ác. benzóico	6,71.10 ⁻⁶ 0,686.10 ⁻⁴	G. F. White e H. C. Jones G. F. White e H. C. Jones	18 18	E	Composto
Ácido o-aminobenzóico e ác. o-clorobenzóico	6,71.10 ⁻⁶ 1,3.10 ⁻³	G. F. White e H. C. Jones J. Kendall	18 19	E	Composto
Ácido o-aminobenzóico e ác. o-bromobenzóico	6,71.10 ⁻⁶ 1,4-1,8.10 ⁻³	G. F. White e H. C. Jones L. D. Smith e H. C. Jones	18 20	E	Composto
Ácido o-aminobenzóico e ác. o-iodobenzóico	6,71.10 ⁻⁶ 1,4.10 ⁻³	G. F. White e H. C. Jones Schalleer	18 21	E	Composto
Ácido o-aminobenzóico e ác. o-hidroxibenzóico	6,71.10 ⁻⁶ 1,06.10 ⁻³	G. F. White e H. C. Jones G. F. White e H. C. Jones	18 18	Composto	Composto
Ácido o-aminobenzóico e ác. o-metilbenzóico	6,71.10 ⁻⁶ 1,35.10 ⁻⁴	G. F. White e H. C. Jones G. F. White e H. C. Jones	18 22	E	Composto
Ácido o-hidroxibenzóico e ác. o-metilbenzóico	1,06.10 ⁻³ 1,35.10 ⁻⁴	G. F. White e H. C. Jones G. F. White e H. C. Jones	18 22	E	Composto
Ácido benzóico e ác. o-metilbenzóico	0,686.10 ⁻⁴ 1,35.10 ⁻⁴	G. F. White e H. C. Jones G. F. White e H. C. Jones	18 22	C. M. V	

TABELA IV (continuação)

Sistema binário	K.	Determinada por	Literatura N.º	Resultado	
				Encontrado	Previsto
Ácido p-fluorobenzóico e ác. benzóico	1,4.10 ⁻⁴	J. H. Slothouwer	17	C. M. I	
	0,686.10 ⁻⁴	G. F. White e H. C. Jones	18		
Ácido p-fluorobenzóico e ác. p-hidroxibenzóico	1,4.10 ⁻⁴	J. H. Slothouwer	17	E	Composto
	2,85.10 ⁻⁵	G. F. White e H. C. Jones	18		
Ácido p-fluorobenzóico e ác. p-metilbenzóico	1,4.10 ⁻⁴	J. H. Slothouwer	17	E	Composto
	4,3.10 ⁻⁵	G. F. White e H. C. Jones	23		
Ácido p-fluorobenzóico e ác. p-aminobenzóico	1,4.10 ⁻⁴	J. H. Slothouwer	17	E	Composto
	1,67.10 ⁻⁵	B. Holmberg	24		
Ácido benzóico e ác. p-aminobenzóico	0,686.10 ⁻⁴	G. F. White e H. C. Jones	18	E	Composto
	1,67.10 ⁻⁵	B. Holmberg	24		
Ácido p-hidroxibenzóico e ác. p-aminobenzóico	2,85.10 ⁻⁵	G. F. White e H. C. Jones	18	E	
	1,67.10 ⁻⁵	B. Holmberg	24		
Ácido p-metilbenzóico e ác. p-aminobenzóico	4,3.10 ⁻⁵	G. F. White e H. C. Jones	23	E	
	1,67.10 ⁻⁵	B. Holmberg	24		

K = Constante de dissociação eletrolítica a 25°

E = Eutético

C. M. I, II, III, IV, V = Cristais mixtos do tipo I, II,
III, IV e V, segundo a classificação de Roozeboom.

Temos no sistema binário:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido o-metilbenzóico uma vez mais um resultado que não concorda em absoluto com o comportamento dos outros ácidos halogenobenzóicos, pois que ácido o-clorobenzóico forma com ácido o-metilbenzóico uma série contínua de cristais mixtos, o mesmo se dando com ácido o-bromobenzóico, enquanto que ácido o-iodobenzóico forma com ácido o-ometilbenzóico só um simples conglomerado. A literatura não registra sistemas entre compostos fluorados e metilados orgânicos.

Estudamos por fim o sistema binário:

Ácido o-fluorobenzóico e ácido o-aminobenzóico (pág. 126, fig. 8) e constatamos que os componentes formam entre si um simples conglomerado.

Trata-se neste caso de um comportamento normal do amino grupo e flúor, visto que o aminogruppo nunca forma cristais mixtos com os halogênios como substituintes na posição orto do ácido benzóico, como logo adiante será relatado. Na literatura não se encontram sistemas binários entre compostos orgânicos fluorados e aminocompostos.

Dos resultados acima obtidos, podemos dizer que o flúor, como substituinte na posição orto do ácido benzóico, pode parcialmente substituir isomòrficamente o hidroxigrupo, ao contrário do que fazem cloro, bromo e iôdo, os quais não se misturam isomòrficamente com ácido salicílico, mas não pode substituir isomòrficamente o grupo metilo, ao contrário do cloro e bromo, que podem fazê-lo. Flúor, como também cloro, bromo e iôdo, nunca podem substituir isomòrficamente o aminogruppo na posição orto do ácido benzóico.

Em conclusão, temos que os resultados obtidos, nessa série de compostos, concordam só em parte com a tésede de *H. G. Grimm* sôbre o deslocamento dos hidretos.

* * *

Prosseguindo em nossos estudos procuramos verificar a maneira como se comporta o aminogruppo, como substituinte na posição orto do ácido benzóico, em relação, primeiro ao próprio ácido benzóico, segundo, aos o-halogeno-derivados do ácido benzóico e, terceiro, aos o-pseudohalogeno-derivados do ácido benzóico.

O sistema binário:

Ácido o-aminobenzóico e ácido benzóico (pág. 127, fig. 9) já se encontra registrado na literatura, num trabalho relativamente recente de E. Vitale⁷. Esse autor constatou, segundo o relatório publicado nos American Chemical Abstracts, que os componentes são capazes de formar entre si um composto que funde a 118° com decomposição, e ao qual correspondem duas moléculas de ácido o-aminobenzóico para uma molécula de ácido benzóico. A análise térmica desse sistema foi por nós repetida, sendo que não pudemos constatar a formação de nenhum composto, pois que, os pontos de degelo percorrem o diagrama inteiro numa única horizontal. De fato, o diagrama de estado nos indica somente a existência de um simples conglomerado.

Não dispondo da literatura original não podemos explicar essa discrepância entre o resultado encontrado pelo autor e o por nós obtido. Indicando o relatório de seu trabalho que o suposto composto funde com decomposição, é de se admitir que o autor comunicou um composto de fusão incongruente. No caso dêle ter-se utilizado do método clássico da análise térmica, isto é, o método de solidificação, que é o que usa em geral a escola italiana, é provável tenha êle conseguido determinar somente a curva "liquidus" e, neste caso, uma pequena irregularidade no traçado da curva pode conduzir facilmente à admissão de um composto entre os componentes.

Passamos em seguida a estudar os sistemas binários:

Ácido o-aminobenzóico e ácido o-clorobenzóico (pág. 128, fig. 10).

Ácido o-aminobenzóico e ácido o-bromobenzóico (pág. 129, fig. 11).

Ácido o-aminobenzóico e ácido o-iodobenzóico (pág. 130, fig. 12).

Em todos êsses casos só encontramos simples eutéticos, e já podemos concluir que o ácido o-aminobenzóico nunca pode formar cristais mixtos, nem com o ácido benzóico nem com os ácidos o-halogenobenzóicos.

Continuando, determinamos o diagrama de estado do sistema binário:

Ácido o-aminobenzóico e ácido o-hidroxibenzóico (pág. 131, fig. 13) e pudemos constatar aqui a formação de um composto equimolar e de fusão congruente entre os componentes.

Êste é um daqueles exemplos que concordam com a hipótese de J. Kendall, pois neste caso as constantes de dissociação eletro-

lítica destes dois compostos são de fato bastante diferentes, como podemos ver pela tabela IV.

Estudamos em seguida o sistema binário:

Ácido o-aminobenzóico e ácido o-metilbenzóico (pág. 132, fig. 14) e verificamos que os componentes só podem formar entre si um simples conglomerado.

Podemos dizer, para concluir, que o aminogrupo como substituinte na posição orto, na molécula do ácido benzóico, nunca pode formar cristais mixtos nem com os ácidos halogenobenzóicos, nem com os ácidos o-pseudohalogenobenzóicos.

A determinação do diagrama de estado do sistema binário:

Ácido o-hidroxibenzóico e ácido o-metilbenzóico (pág. 133 fig. 15), levada a cabo por H. Lettré e colabs.⁸, foi por nós repetida, e o resultado que obtivemos concorda com as determinações feitas por êsses autores, que indicam a formação de um conglomerado entre os componentes. Os autores acharam o ponto eutético a cerca de 92° e 74% de ácido o-metilbenzóico, enquanto que do nosso estudo resultam 90° e 73% de ácido o-metilbenzóico.

Por fim estudamos o sistema binário:

Ácido benzóico e ácido o-metilbenzóico (pág. 134, fig. 16).

O diagrama de estado do sistema em questão fôra também anteriormente estabelecido por H. Lettré e colabs.²

Os autores encontraram aqui a formação de um simples conglomerado entre os componentes. Em nossas determinações pudemos constatar uma pequena miscibilidade dos componentes no estado sólido, pois o diagrama de estado por nós determinado pertence provàvelmente ao tipo V da classificação de Roozeboom, com uma muito grande lacuna de miscibilidade, lacuna essa que se estende de cerca de 0 (zero) até 86% do ácido o-metilbenzóico. Tem pois praticamente só o ácido o-metilbenzóico a propriedade de dissolver até 14% do ácido benzóico em forma de solução sólida. H. Lettré e colabs. acharam para o eutético a composição de cerca de 57% do ácido o-metilbenzóico e o P. F. a 72°. Das nossas determinações resultam 55% e 71,2°. Os autores publicam só um pequeno gráfico desse sistema, sem indicação dos pontos determinados, de modo que não se pode saber se êles pesquisaram a região de 86 a 100% do ácido o-metilbenzóico desse sistema.

Ficamos assim conhecendo todos os sistemas binários possíveis entre ácido benzóico, ácidos o-halogenobenzóicos e ácidos o-pseu-

dohalogenobenzóicos, e em conclusão podemos dizer que não existe uma regra geral que possa prever a substituição isomorfa dos halogênios e pseudohalogênios na posição orto da molécula do ácido benzóico.

* * *

Passamos em seguida a estudar alguns sistemas binários entre ácido p-fluorobenzóico e ácido benzóico, como também ácidos p-pseudohalogenobenzóicos.

Estudamos, em primeiro lugar, o sistema binário:

Ácido p-fluorobenzóico e ácido benzóico (pág. 135, fig. 17), e constatamos que os componentes podem formar entre si uma série contínua de cristais mixtos, pertencendo, o sistema, ao tipo I da classificação de Roozeboom.

Este sistema binário foi primitivamente estudado por S. A. Koopal¹, o qual constatou, como tivemos também oportunidade de fazê-lo que entre os componentes se formam cristais mixtos. Por não termos em mãos a literatura original, não podemos comparar os resultados desse autor com os por nós obtidos. O sistema não vem registrado nas tabelas do manual de Landolt — Börnstein. J. Timmermans, no seu livro "Lés solution concentrés", caracteriza o sistema como "cristais mixtos com lacuna". Os "International Critical Tables", vol. IV, pág. 145, n.º 1.300, indicam a formação de cristais mixtos com ponto de transição a 160,0º e trazem os dados da curva "liquidus" para 8 misturas dos componentes em moles por cento. Construindo-se desses dados o gráfico, que é reproduzido na figura 1, vê-se realmente, a 66,5 mol % do ácido p-fluorobenzóico um vértice fracamente pronunciado. O "Chemisches Zentralblatt" 1915, II, 334 indica que o autor determinou a "curva de solidificação" e achou a formação de cristais mixtos entre os dois ácidos. Dessa indicação resulta que o autor provavelmente só determinou a curva "liquidus" e o fraco desvio dessa curva do traçado regular pode ser explicado, por um leve super-resfriamento na cristalização primária. O traçado da curva "solidus" por nós determinado torna muito provável pertença nosso sistema ao tipo I, sem lacuna de miscibilidade. Trata-se pois, mais uma vez de comportamento totalmente diferente do flúor em relação aos outros halogênios, pois os ácidos p-cloro-, p-bromo- e p-iodobenzóico só formam simples eutéticos com o ácido benzóico. Lem-

bramos porém que o ácido o-fluorobenzóico dá, com ácido benzóico, só uma limitada formação de cristais mixtos do tipo V.

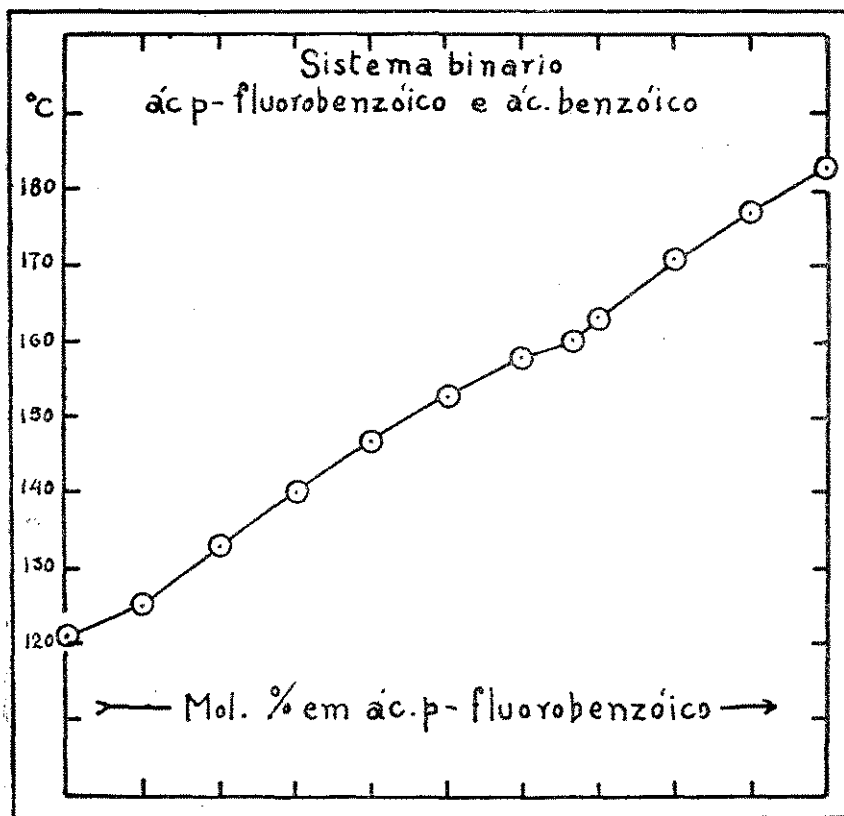


FIG. I

Estudamos em seguida o sistema binário:

Ácido p-fluorobenzóico e ácido p-hidroxibenzóico (pág. 136, fig. 18), e constatamos que os componentes formam entre si um simples eutético. Trata-se aqui de comportamento idêntico aos ácidos p-cloro-, p-bromo- e p-iodobenzóico, que também formam só simples eutéticos com o ácido p-hidroxibenzóico. O comportamento do ácido p-fluorobenzóico é pois bem diferente do do ácido o-fluorobenzóico.

Continuando em nossos estudos, examinamos o sistema binário:

Ácido p-fluorobenzóico e ácido p-metilbenzóico (pág. 137, fig. 19). Os componentes formam um simples eutético.

Trata-se aqui de comportamento bem diferente do flúor em relação aos halogênios cloro e bromo, pois os ácidos p-cloro- e p-bromobenzóicos formam com ácido p-metilbenzóico séries contínuas de cristais mixtos, pertencentes ao tipo I da classificação de Roozeboom² e ³. O ácido p-iodobenzóico, no entretanto, também forma com o ácido p-metilbenzóico um simples eutético. Lembramos o comportamento totalmente diferente dos orto-compostos, pois que, conforme já relatamos, os ácidos o-fluorobenzóico e o-metilbenzóico formam um composto molecular. Se confrontarmos agora o resultado obtido nos quatro sistemas acima descritos, podemos dizer: o volume do grupo metilo, que deve ser bastante diferente do volume atômico do flúor, como substituinte na posição para do ácido benzóico, está-se aproximando ou igulando aos volumes atômicos do cloro e do bromo, para se diferenciar bastante novamente do do iôdo.

Continuando, estudamos o sistema binário:

Ácido p-fluorobenzóico e ácido p-aminobenzóico (pág. 138, fig. 20), e verificamos a formação de um simples eutético entre os componentes, comportando-se os compostos da mesma maneira como os ortoderivados correspondentes.

Finalizando, estudamos os três sistemas binários seguintes:

Ácido benzóico e ácido p-aminobenzóico (pág. 139, fig. 21).

Ácido p-hidroxibenzóico e ácido p-aminobenzóico (pág. 140, fig. 22).

Ácido p-metilbenzóico e ácido p-aminobenzóico (pág. 141, fig. 23).

Pelo fato de termos encontrado somente eutéticos entre os componentes desses três sistemas binários, podemos concluir que o aminogruppo, como substituinte na posição para do ácido benzóico, não pode formar cristais mixtos, quer com o ácido benzóico, quer com os ácidos p-pseudohalogenobenzóicos, mostrando, pois, comportamento idêntico ao dos ortocompostos.

LITERATURA

- 1 — KOOPAL, S.A. — 1911 — These, Univ. LEIDEN — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.* 34: 152 — Beilst. 9: ERG. 56 e 137.
- 2 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK, W. FUHST e F. HARDT — 1937 — *Ber.* 70: 1410-1416.
- 3 — BORNWATER, J.T. e A.F. HOLLEMAN — 1912 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.*: 244 *Chem. Zent.* 1912, II: 915.

- 4 — LETTRÉ, H. e P. LEHMANN — 1938 — *Ber.* 71: 416-417.
- 5 — JAEGER, F.M. — 1907 — *Z. Kryst.* 42: 236.
- 6 — HRYNAKOWSKY, K. — 1934 — *Zeitschr physik. Chem.* 171: A: 99.
- 7 — VITALE, E. — 1939 — *Atti Xº Congr. Intern. Chem.* 3: 380-390 — *Chem. Abstr.* 1940: 87.
- 8 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK, e W. LEGE — 1936 — *Ber.* 69: 1151-1154.
- 9 — ROOZEBOOM, H.W.B. — 1899 — *Zeitschr physik. Chem.* 30: 385 — *Jahresber. Chem.* 1899: 100 — *Chem. Zent.* 1900, I: 7.
- 10 — KLEMM, L., W. KLEMM e G. SCHIEMANN — 1933 — *Zeitschr. physik. Chem...* (A) 165: 379 — *Chem. Zent.* 1933, II: 1965.
- 11 — PASCAL, P. — 1913 — *Bull. Soc. Chim. France* [4] 13: 744 — *Chem. Zent.* 1913, II: 1219.
- 12 — HASSELBLATT, H. — 1913 — *Zeitschr. physik. Chem.* 83: 1.
- 13 — PAULING, L. e M.L. HUGGINS — 1934 — *Z. Kryst.* 87: 218.
- 14 — GRIMM, H.G. — 1925 — *Z. Elektrochemie* 31: 474; *Naturw.* 17: 557 — *Chem. Zent.* 1926, I: 294.
- 15 — KENDALL, J. — 1914 — *J. Am. Chem. Soc.* 36: 1722.
- 16 — LETTRÉ, H. — 1940 — *Ber.* 73: 386.
- 17 — SLOTHOUWER, J.H. — 1914 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 33: 326 — *Beilst.* 9: supl. 137.
- 18 — WHITE, G.F. e H.C. JONES — 1910 — *Am. Chem. Journ.* 44: 197 — *Chem. Zent.* 1910, II: 1451.
- 19 — KENDALL, J. — 1912 — *J. Chem. Soc. London* 101: 1287 — *Chem. Zent.* 1912, II: 1513.
- 20 — SMITH, L.D. e H.C. JONES — 1913 — *Am. Chem. Journ.* 50: 29 — *Beilst.* 9: supl. 142.
- 21 — SCHALLER — 1898 — *Zeitschr. physik. Chem.* 25: 522 — *Beilst.* 9: 363.
- 22 — WHITE, G.F. e H.C. JONES — 1910 — *Am. Chem. Journ.* 44: 184 — *Chem. Zent.* 1910, II: 1451.
- 23 — WHITE, G.F. e H.C. JONES — 1910 — *Am. Chem. Journ.* 44: 186 — *Chem. Zent.* 1910, II: 1451.
- 24 — HOLMBERG, B. — 1908 — *Zeitschr. physik. Chem.* 62: 728 — *Chem. Zent.* 1908, II: 567.

PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental dêste trabalho consta da descrição dos métodos de preparação dos ácidos orto- p-fluorobenzóico, o-clorobenzóico, o-bromobenzóico, o-iodobenzóico, o-metilbenzóico e p-metilbenzóico. Segue depois a indicação dos métodos de purificação por nós usados nos produtos comerciais dos ácidos benzóico, o-hidroxibenzóico, p-hidroxibenzóico e p-aminobenzóico, e por fim os dados e os gráficos dos sistemas estudados.

I) PREPARAÇÃO E PURIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

1) *Preparação do ácido o-fluorobenzóico*

O ácido o-fluorobenzóico foi preparado a partir do éster etílico do ácido antranílico, pelo método de G. Balz e G. Schiemann¹. Diazotou-se o o-aminobenzoato de etilo, juntou-se ao sal de diazônio resultante ácido fluorobórico, e por fim decompôs-se, tèrmicamente, o sal de diazônio resultante. Assim se obteve o o-fluorobenzoato de etilo que, saponificado, conduziu ao ácido o-fluorobenzóico. (*)

A receita seguida nesta preparação é uma adaptação da que vem descrita em "Organic Synthesis"².

a) *Esterificação do ácido antranílico.* — 50g de ácido antranílico foram adicionadas a 260cm³ de álcool saturado com cloridreto (**) e a mistura refluxada durante 24 horas. A mistura, depois de fria, diluída com água e neutralizada com hidróxido de sódio, foi posta em geladeira, com o que se precipitou o o-aminobenzoato de etilo, que foi filtrado.

b) *Diazotação do o-aminobenzoato de etilo.* — 40g de o-aminobenzoato de etilo foram dissolvidas em uma solução de 45cm³ de ácido clorídrico concentrado e 85cm³ de água; resfriou-se, então, a zero grau, por meio da mistura refrigerante gelo-sal. A essa

(*) Não usamos diretamente o ácido antranílico devido não só ao fato da decomposição térmica do fluoroborato resultante ser por demais violenta, como também por se formar, ao lado, ácido salicílico, que é dificilmente separável do ácido o-fluorobenzóico.

(**) Para a saturação do álcool com cloridreto deixou-se gotejar ácido sulfúrico concentrado sobre uma mistura de ácido clorídrico concentrado e cloreto de sódio. O cloridreto resultante, depois de atravessar um frasco lavador contendo ácido sulfúrico concentrado, foi introduzido no álcool.

solução, sob agitação, adicionou-se uma solução de 22g de nitrito de sódio. A diazotação completou-se em 15 minutos, tendo-se mantido a temperatura até ao máximo de 5°.

c) *Preparação do ácido fluorobórico e condensação com o cloreto de o-carbetoxibenzenadiazônio.* — Enquanto se processava a diazotação do o-aminobenzoato de etilo, dissolveram-se em um copo de chumbo, 20,5g de ácido bórico em 60cm³ de ácido fluorídrico a 40%. O ácido fluorobórico assim preparado foi adicionado à solução do cloreto de o-carbetoxibenzenadiazônio sob agitação mecânica constante. Depois de alguns minutos separou-se uma pasta de fluoroborato de o-carbetoxibenzenadiazônio, a qual impossibilitou a continuação da agitação. Filtrou-se em um funil de Büchner e lavou-se o precipitado primeiro com água, depois com álcool, e finalmente com éter. Com isso, o o-aminobenzoato de etilo que não reagiu foi eliminado. O precipitado branco de fluoroborato de o-carbetoxibenzenadiazônio foi secado em um dessecador a vácuo sobre ácido sulfúrico concentrado. Rendimento: 47% do teórico.

d) *Decomposição térmica do fluoroborato de o-carbetoxibenzenadiazônio.* — O sal seco foi colocado em um balão de fundo redondo, munido de um refrigerante de bolas, que estava ligado a um frasco lavador e este a um Kitasato mergulhado em gelo.

Procedeu-se então ao aquecimento cuidadoso do fluoroborato de o-carbetoxibenzenadiazônio até à temperatura de 70°, temperatura essa na qual se iniciou a decomposição, que durou cerca de 30 minutos. O trifluoreto de boro resultante da decomposição arrastou consigo uma boa parte do o-fluorobenzoato de etilo.

O o-fluorobenzoato de etílio remanescente no balão foi dissolvido em éter e lavado muitas vezes com uma solução aquosa de hidróxido de sódio, até prova negativa de ácido salicílico com cloreto de ferro-III. Em seguida secou-se a solução etérea com cloreto de cálcio e separou-se o éter por destilação no banho-maria.

e) *Saponificação do o-fluorobenzoato de etilo.* — Ao o-fluorobenzoato de etilo assim preparado, adicionou-se uma solução de 9,5g de hidróxido de potássio em 25cm³ de água e 15cm³ de álcool, e refluxou-se durante 60 minutos. A solução ainda quente foi tratada com carvão ativado e filtrada, precipitando-se em seguida o ácido o-fluorobenzóico por meio de ácido clorídrico. Rendimento: 16 gramas.

Para purificar, recristalizou-se o produto bruto muitas vezes de água em presença de carvão ativado, obtendo-se por fim agulhinhas brancas que apresentaram:

P.D. = 123,0°

P.F. = 124,0°

Pontos de fusão indicados na literatura para o ácido o-fluorobenzóico:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
117-118°	E. Paterno e V. Oliveri	1882	3
119-120°	M. Holleman	1905	4
120°	A. F. Holleman	1906	5
122°	H. Meyer e A. Hub	1910	6
123°	J. H. Slothouwer	1913	7
123°	A. F. Holleman e J. H. Slothouwer	1910	8
123°	F. Govaert	1929	9
123,4-123,6°	M. E. Hobbs e A. J. Weith Jr.	1943	10
124°	J. B. Cohen	1911	11
125,5°	R. Kuhn e A. Wassermann	1928	12
125-126°	G. Schiemann	1934	13
126°	A. Kailan e W. Antropp	1929	14
126°	A. Wassermann	1930	15
126°	G. Schiemann e H. G. Baumgarten	1937	16
122°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28.ª ed.	1944	

Os pontos de fusão indicados na literatura têm a variação de 9°. O ponto de fusão do nosso produto está entre os valores médios. Precisamos porém observar que os autores que empregaram o método da decomposição térmica do fluoroborato obtiveram o ácido de ponto mais elevado. O composto por nós preparado mostrou, como se viu, um intervalo de somente 1° entre degêlo e fusão, de modo que nos pareceu bastante puro para a elaboração dos sistemas binários.

2) *Preparação do ácido p-fluorobenzóico*

Para a preparação deste composto seguimos o método de G. Balz e G. Schiemann¹⁷, partindo do p-aminobenzoato de etilo.

a) *Diazotação do p-aminobenzoato de etilo.* — Seguindo as indicações de "Organic Synthesis"¹⁸, 15g de p-aminobenzoato de etilo foram colocadas em um balão de fundo redondo e dissolvidas a quente, sob leve agitação, numa mistura de 19cm³ de ácido clorídico concentrado e 27 cm³ de água. A solução foi, em seguida, resfriada a zero gráu, empregando-se, para êsse fim, a mistura refrigerante gelo-sal e, agitando-se mecânicamente, procedeu-se à diazotação com uma solução concentrada de 6,5g de nitrito de sódio, tendo-se tido o cuidado de conservar a temperatura até ao máximo de 5º.

b) *Preparação do ácido fluorobórico.* — Dissolveram-se, em um copo de chumbo, 6g de ácido bórico finamente pulverizado em 12g de ácido fluorídrico (30cm³ de uma solução a 40%), agitando-se com um bastão de chumbo.

c) *Preparação do fluoroborato de p-carbetoxibenzenadiazônio.* — A solução do ácido fluorobórico, obtida como descrito acima, foi resfriada a zero gráu e adicionada rapidamente à solução do sal de diazônio, agitando-se mecânica e continuamente. Passados alguns minutos o fluoroborato de p-carbetoxibenzenadiazônio precipitou-se na forma de uma massa branco-amarelada, tendo-se a reação completado em 30 minutos. O fluoroborato de p-carbetoxibenzenadiazônio foi então filtrado, lavado com água gelada, álcool, e, por fim, com éter.

d) *Decomposição térmica do fluoroborato de p-carbetoxibenzenadiazônio.* — O produto acima obtido, depois de sêco em um dessecador a vácuo, sôbre ácido sulfúrico concentrado, foi colocado em um balão de fundo redondo, munido de um refrigerante. O refrigerante terminava dentro de um Kitasato, cuja tubuladura lateral estava provida de um segundo refrigerante. (O aparelho foi montado dentro de uma capela). Procedeu-se em seguida ao aquecimento, lenta e cuidadosamente, em um único ponto do balão, até ter início a reação. Esta, uma vez iniciada, continuou por si. Quando tôda a massa já estava decomposta, aqueceu-se de novo o balão, agora fortemente, durante mais 30 minutos. Elimina-

ram-se, com isto, os últimos traços de fluoreto de boro, ficando como resíduo o p-fluorobenzoato de etilo. Rendimento: 9g.

e) *Saponificação do p-fluorobenzoato de etilo.* — O resíduo da reação anterior foi refluxado durante uma hora, com uma solução alcoólico-aquosa de 1,5g de hidróxido de potássio. Filtrou-se ainda quente e precipitou-se o ácido p-fluorobenzóico pela adição de ácido clorídrico concentrado. Depois de frio, filtrou-se e procedeu-se à purificação pela dissolução em uma solução quente de carbonato de sódio. A solução assim obtida, depois de tratada com carvão ativado, foi filtrada, após o que o ácido p-fluorobenzóico foi de novo reprecipitado, como anteriormente, pela adição de ácido clorídrico concentrado. Depois de repetir algumas vezes êsse tratamento, a substância sêca apresentou:

P.D. = 182,4°
P.F. = 183,4°

A literatura indica para o ácido p-fluorobenzóico, os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	
180,5-180,7°	M. E. Hobbs e A. J. Weith Jr.	1943	19
180-181°	E. Paterno e V. Oliveri	1882	20
181-182°	O. Wallach	1886	21
182°	Schmitt e von Gehben	1870	22
182°	A. F. Holleman e J. H. Slothouwer	1911	23
182°	H. Meyer e A. Hub	1910	24
182°	Theo van Hove	1922	25
182°	A. F. Holleman	1906	26
182°	F. M. Jaeger	1907	27
182°	J. H. Slothouwer	1914	28
182,6°	S. A. Koopal	1915	29
186°	R. Kuhn e A. Wassermann	1923	30
186°	A. Wassermann	1930	31
186°	C. Schiemann e W. Winkermüller	1933	32
182° (184-6°)	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28. ^a ed.	1944	

O ponto de fusão desta substância varia pois, como podemos constatar pelo exame da tabela acima, de 5°. Nosso produto funde

à temperatura de 1,5° mais elevada do que 182°, que é o valor encontrado com maior frequência pelos diversos autores.

3) *Preparação do ácido o-clorobenzóico*

Para a preparação deste composto seguimos em parte as indicações de C. Graebe³³. O desvio do método usado está na preparação do cloreto de cobre-I e no ponto de partida, pois enquanto que o autor diazota o próprio ácido antranílico, preferimos fazer antes o éster etílico, para em seguida diazotá-lo.

a) *Diazotação do o-aminobenzoato de etilo.* — 40g de o-aminobenzoato de etilo foram dissolvidas em uma solução de 80cm³ de ácido clorídrico concentrado em 200cm³ de água a zero grau, por meio da mistura refrigerante gelo-sal.

Mantendo-se a temperatura até ao máximo de 5°, procedeu-se à diazotação pela adição lenta de uma solução de 25g de nitrito de sódio em 100cm³ de água. Depois de 30 minutos deu-se a reação por terminada.

b) *Preparação do cloreto de cobre-I.* — Seguindo as indicações de "Organic Synthesis"³⁴, a uma solução quente de 92,86g de sulfato de cobre cristalizado e 24,14g de cloreto de sódio em 300cm³ de água, adicionou-se, sob agitação, uma solução de 19,66g de bissulfito de sódio e 12,98g de hidróxido de sódio em 150 cm³ de água. Depois de 15 minutos deu-se a redução por terminada.

c) *Reação do cloreto de o-carbetoxibenzenadiazônio com o cloreto de cobre-I.* — À solução fria do cloreto de o-carbetoxibenzenadiazônio adicionou-se a solução de cloreto de cobre-I, agitando-se mecânicamente. Em seguida aqueceu-se a mistura em banho-maria a 70° durante uma hora, após o que deu-se a reação por completada. O o-clorobenzoato de etilo resultante foi extraído com éter, e o extrato obtido lavado com uma solução de hidróxido de sódio até prova negativa de ácido salicílico com cloreto de ferro-III. Em seguida evaporou-se o éter, e o óleo resultante foi saponificado.

d) *Saponificação do o-clorobenzoato de etilo.* — 60g de o-clorobenzoato de etilo foram adicionadas a uma solução alcoólico-aquosa de 20g de hidróxido de potássio e refluxadas durante uma hora. Depois de fria, a solução foi neutralizada com ácido clorídrico, com o que se precipitou o ácido o-clorobenzóico na forma

de uma massa branco-amarelada, que foi filtrada em um funil de Büchner. Rendimento: 48 gramas, correspondentes a 94,4% do teórico.

Para purificar o produto acima obtido, foi ele recristalizado muitas vezes de água com junção de carvão ativado, dando por fim agulhinhas brancas, que depois de sêcas em dessecador a vácuo sôbre ácido sulfúrico concentrado apresentaram:

P.D. = 139,5°
P.F. = 140,5°

A literatura indica para o ácido o-clorobenzóico os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
137°	A. Kekulé	1861	35
138°	T. L. Kelly e H. W. Howard	1932	36
139°	R. Kuhn e A. Wassermann	1928	37
139°	H. Lettré, H. Barnbeck e W. Lege	1936	38
139,8-140°	M. E. Hobbs e A. J. Weith Jr.	1943	39
139,5-140°	A. M. Kellas	1897	40
133-140°	E. R. Atkinson, D. H. Hansen, A. D. Nevers e S. A. Marino	1943	41
140°	E. J. Montagne	1900	42
140,2°	D. H. Andrews, G. Lynn e J. Johnston	1926	43
140,6°	J. F. Norris e W. H. Stein	1935	44
140,65°	J. Th. Bornwater e A. F. Hollenax	1912	45
142°	G. Fels	1903	46
142°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physics", 28. ^a ed.	1944	

Os pontos de fusão indicados na literatura mostram uma variação de 5°. O nosso produto, que funde a 140,5°, está de acôrdo como se pode observar, com o indicado pela maioria dos autores.

4) Preparação do ácido o-bromobenzóico

a) *Diazotação do ácido antranílico.* — Seguindo as indicações de C. Graebe⁴⁷ 40g de ácido antranílico foram dissolvidas em uma solução de 30g de ácido sulfúrico concentrado em 200 cm³ de água sob agitação. Resfriou-se a mistura assim obtida a zero grau,

pelo emprêgo da mistura refrigerante gelo-sal, e, mantendo-se a temperatura até ao máximo de 5°, adicionou-se lentamente uma solução de 22g de nitrito de sódio em água. A diazotação completou-se em 10 minutos.

b) *Preparação do brometo de cobre-I.* — Enquanto se processava a diazotação, uma mistura de 35g de sulfato de cobre cristalizado, 100g de brometo de sódio, 30g de cobre metálico em pó, e 35g de ácido sulfúrico concentrado dissolvidos em 300cm³ de água, era aquecida à ebulição. Depois de uma hora separou-se o brometo de cobre-I, o qual foi diluído com água e separado, por decantação, do cobre metálico que não reagiu.

c) *Reação do brometo de cobre-I com o cloreto de diazônio do ácido antranílico.* — A solução do sal de diazônio do ácido antranílico foi adicionada, sob agitação, à solução de brometo de cobre-I, aquecendo-se em banho-maria, durante uma hora, a 60°.

Ao resfriar, o ácido o-bromobenzóico precipitou-se na forma de agulhas branco-amareladas, que foram filtradas e recristalizadas muitas vezes de água quente junto com carvão ativado.

Obtiveram-se, por fim, bonitas agulhinhas brancas que, depois de sécas em um dessecador a vácuo sôbre ácido sulfúrico concentrado, apresentaram:

P.D. = 148,0°
P.F. = 149,0°

Pontos de fusão do ácido o-bromobenzóico encontrados na literatura:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
146°	H. Lettré, H. Barnbeck, W. Fuhst e F. Hardt	1925	48
		1923	49
146-147°	A. E. Goçdard	1922	50
146-147°	L. A. Bigelow	1932	51
147°	T. L. Kelly e H. W. Howard	1874	52
147-148°	Th. Zincke	1897	53
148°	A. M. Kellas	1923	54
148°	R. Kuhn e A. Wassermann	1935	55
148°	J. F. Norris e W. H. Stein	1943	56
148,5-148,7°	M. E. Hobbs e A. J. Weith Jr.	1901	57
149°	A. F. Holleman e B. R. de Bryn	1879	58
150°	M. Rhalis		
147° (50)	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 23.ª ed.	1944	

A variação no ponto de fusão desta substância, indicada pela literatura, é de 4°. O ponto de fusão do nosso preparado está de acôrdo com os valores mais altos.

5) *Preparação do ácido o-iodobenzoico*

Para a preparação dêste composto seguimos as indicações de W. Wachter⁵⁹, com a única diferença que diazotamos o o-aminobenzoato de etilo, em vez do próprio ácido antranílico, como fez o autor.

a) *Diazotação do o-aminobenzoato de etilo.* — 50g de o-aminobenzoato de etilo foram dissolvidas em 350cm³ de ácido sulfúrico a 10%, resfriando-se a mistura a zero grau. Empregou-se para êste fim, como das vezes anteriores, a mistura refrigerante gêlo-sal. Mantendo-se a temperatura até ao máximo de 10° procedeu-se à diazotação pela adição de uma solução de 30g de nitrito de sódio em 40cm³ de água. A diazotação completou-se em 15 minutos.

b) *Reação do sulfato de o-carbetoxibenzenadiazônio com iodeto de potássio.* — A solução de sulfato de o-carbetoxibenzenadiazônio acima preparada foi adicionada lentamente a uma solução de 90g de iodeto de potássio em 90cm³ de ácido sulfúrico a 10%, tendo-se verificado, inicialmente, uma ligeira separação de iôdo elementar. A mistura assim obtida foi aquecida em banho-maria durante uma hora, com o que o o-iodobenzoato de etilo se separou na forma de uma pasta amarelo-alaranjada; esta pasta foi filtrada em um funil de Büchner, e em seguida dissolvida em éter. A solução assim obtida foi lavada muitas vezes com uma solução de hidróxido de sódio até prova negativa de ácido salicílico com cloreto de ferro-III. Em seguida destilou-se o éter e o resíduo foi saponificado.

c) *Saponificação do o-iodobenzoato de etilo.* — O resíduo da reação acima foi adicionado a uma solução alcoólico-aquosa de hidróxido de potássio e refluxado durante uma hora. Filtrou-se ainda quente e neutralizou-se com ácido clorídico concentrado. Com o resfriamento, o ácido o-iodobenzoico separou-se na fórmula de agulhas amareias.

Rendimento: 85g (cêrca de 90% do rendimento teórico).

Para a purificação do produto procedeu-se a diversas recristalizações de água adicionada de carvão ativado. Assim pura e sêca a substância apresentou:

P.D. = 161,2°
P.F. = 162,2°

Para o ácido o-iodobenzóico a literatura indica os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
161,6-162°	H. P. Klug	1933	60
162°	W. Wachter	1893	59
162°	F. Cattelain	1927	61
162°	T. L. Kelly e H. W. Howard	1932	62
162°	Fr. Fichter e P. Lotter	1925	63
162°	H. Lettré e P. Lehmann	1938	64
162°	H. Lettré	1940	65
164°	A. Kailan e A. Irresberger	1930	66
162°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28.ª ed.	1944	

Com exceção de um único, todos os outros autores encontraram para o ácido o-iodobenzóico o ponto de fusão a 162°, o que está de acôrdo com o nosso preparado.

6) *Preparação do ácido o-metilbenzóico*

a) *Preparação de o-tolunitrilo.* — Para a preparação de o-tolunitrilo seguimos as indicações de L. F. Fieser⁶⁷, L. Orthner e L. Reichel⁶⁸: — 43g de o-toluidina foram dissolvidas em uma solução de 90cm³ de ácido clorídrico concentrado em 100cm³ de água; resfriou-se então a zero grau, por meio de uma mistura refrigerante de gelo-sal. Mantendo-se a temperatura até ao máximo de 5°, e sob agitação, adicionaram-se 32g de nitrito de sódio dissolvidas em 60cm³ de água. A adição do nitrito de sódio durou cêrca de 15 minutos, após o que, deu-se por terminada a diazotação.

O cloreto de diazônio assim formado, foi adicionado a uma solução de 34g de cianeto de cobre-I em 200cm³ de água, sob agitação. Aqueceu-se em seguida a mistura em banho-maria, a

70°, até não haver mais desenvolvimento de nitrogênio. O o-tolunitrilo assim formado foi destilado com vapor d'água e, em seguida, extraído com éter. Secou-se a solução etérica com cloreto de cálcio, após o que destilou-se o éter. O o-tolunitrilo restante foi destilado no vácuo. Rendimento: 43g.

b) *Saponificação do o-tolunitrilo.* — Para a saponificação do o-tolunitrilo seguimos as indicações de "Organic Synthesis"⁶⁹.

A uma mistura de 100cm³ de ácido acético glacial, 120cm³ de ácido sulfúrico concentrado e 80cm³ de água, aquecida a 150° e sob agitação, adicionaram-se lentamente, 40g de o-tolunitrilo. Depois de completa a adição, aqueceu-se a mistura até cerca de 190° durante 15 minutos. O ácido o-metilbenzóico formado foi diluído com água, filtrado e lavado. O produto bruto foi dissolvido em hidróxido de sódio, tratado com carvão ativado e reprecipitado com ácido clorídrico. Em seguida recristalizou-se diversas vezes de benzena.

P.D. = 103,8°
P.F. = 104,6°

Para o ácido o-metilbenzóico a literatura indica os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
102,0°	R. Fittig e J. Bieber	1870	70
102,4	W. V. Sidgwick, W. J. Spurrell e T. E. Davies	1915	71
102,5-103°	L. Van. Scherpenzeel	1901	72
103°	J. Salkind e A. Schmidt	1914	73
102-103,5°	C. H. Fisher e M. Grant	1935	74
103,7°	D. H. Andrews, G. Lynn e J. Johnston	1926	75
103,5-104°	A. M. Kellas	1897	76
104°	O. Jacobsen	1877	77
104°	H. Lettré	1940	78
104°	O. Flaschner e I. G. Rankin	1910	79
104°	L. Marchlewiski e J. Mayer	1929	80
104,8	J. F. Norris e W. H. Stein	1935	81
105°	Kalle e Co.		82
105°	P. Friedlander e H. Rudt	1896	83
105°	H. Lettré, H. Barnbeck, W. Fuhst e F. Hardt	1937	84
105,5	K. Auwers e W. A. Roth	1910	85
107-108°	G. Ciamician e P. Silber	1912	86
103,7-104,5°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28.ª ed.	1944	

Os muitos pontos de fusão da literatura variam de 102 até 105,5°, com exceção da única indicação com 108°.

O ponto de fusão do nosso produto está de acôrdo com os valores mais altos.

7) *Preparação do ácido p-metilbenzóico*

a) *Preparação do cianeto de cobre-I.* — De acôrdo com as indicações de H. J. Barber⁸⁷, 55g de sulfato de cobre técnico foram dissolvidas em 180cm³ de água e a solução assim obtida aquecida a 60°. A esta solução quente e acidulada até virar vermelho congo em azul, foram adicionadas uma solução de 15,5g de bissulfito de sódio em 50cm³ de água e uma outra de 17g de cianeto de sódio em 70cm³ de água. Como o líquido ainda continuasse acentuadamente esverdeado, procedeu-se à adição de mais 3g de cianeto de sódio, dissolvidas em 10cm³ de água. Depois de 10 minutos, ainda quente, portanto, filtrou-se e o precipitado foi lavado, primeiro com água quente e, em seguida, com álcool, secando-se então durante 40 horas a 50°. Obteve-se assim pó cinzento claro. Rendimento: 19,9g (100%). O cianeto de cobre-I assim preparado conserva-se durante muito tempo.

b) *Preparação do p-tolunitrilo.* — Seguindo as indicações de L. Gattermann e H. Wieland⁸⁸, dissolveram-se, a quente, 20g de p-toluidina (P. F. = 38-42°) em uma mistura de 12cm³ de ácido clorídrico concentrado (D= 1,19) e 150 cm³ de água. Em seguida resfriou-se a zero grau, por meio da mistura refrigerante gelo-sal e procedeu-se à diazotação pela adição de uma solução de 16g de nitrito de sódio em 80cm³ de água agitando-se mecânicamente. A solução do sal de diazônio resultante foi adicionada a uma outra de 18g de cianeto de cobre-I e 30g de cianeto de sódio em 300cm³ de água aquecida a 60°; tal adição se fez sob agitação mecânica. Conservou-se a mistura a 60° durante mais 30 minutos, findos os quais, deu-se a reação por terminada. O p-tolunitrilo resultante foi destilado com vapor d'água, o qual, no balão de recepção, passou para o estado sólido; o p-tolunitrilo assim solidificado filtrou-se e, a seguir, purificou-se, o que se conseguiu fundindo-se o composto e lavando-se com uma solução binormal de hidróxido de sódio, e agitando-se em seguida com uma solução clorídrica de cloreto de estanho-II. A água resultante da destilação foi extraída com éter e este lavado com uma solução binormal de hidróxido de sódio. Secou-se o éter com cloreto de cálcio, destilando-se em seguida. O

óleo resultante foi purificado, como se acabou de descrever. O produto proveniente das duas frações foi destilado a 130-140°, no vácuo (140mm de mercúrio de pressão). Rendimento: 10,6g (P. F. = 26-29,0°) (literatura: 27-29,5°).

c) *Saponificação do p-tolunitrilo*. — L. Gattermann e H. Wieland⁸⁸. A uma mistura de 40 cm³ de ácido sulfúrico concentrado (D=1,84) e 20cm³ de água aquecida a 150° em um banho de parafina, juntaram-se, enquanto se agitava mecânicamente, 10,6g de p-tolunitrilo, conservando-se a mistura, depois de terminada a adição do tolunitrilo, à mesma temperatura (150°) por mais 7 horas. Com o resfriamento, que se verificou a seguir, o ácido p-metilbenzóico separou-se em forma de agulhas amareladas, que foram filtradas (12,2g). Para purificar, recristalizou-se de álcool fervente, tratado com carvão ativado e, por fim, de uma mistura álcool-água (1:3). Obtiveram-se por fim agulhas brancas que, depois de sêcas em dessecador a vácuo, sôbre ácido sulfúrico concentrado, apresentaram:

P.D. = 178,8°
P. F. = 180,0°

Temos abaixo os pontos de fusão que vêm indicados na literatura para o ácido p-metilbenzóico:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
171-175°	A. M. Van Arendonk e M. E. Cupery (partindo de p-metilacetofenona)	1931	89
176°	G. Hirzel	1866	90
176,8°	W. V. Sidgwick, W. J. Spurrell e T. E. Davies	1915	91
176-177°	Yssel de Schepper Beilstein	1866	92
176-177°	C. F. H. Allen, W. L. Ball e D. M. Young	1933	93
176-177°	A. M. Kenzie e J. R. Myles	1932	94
177-178°	C. E. Ador e J. Crafts	1877	95
178-178,5°	A. M. Kellas	1897	96
178,5°	L. Lehmann e W. Paasche	1935	97
179°	L. Van Scherpenzeel	1901	98
179°	L. Marchlewski e J. Mayer	1929	99
179°	F. Kronhnke	1933	100
179°	F. Krohnke	1936	101
179,4°	O. Flaschner e I. G. Rankin	1910	102
179,6°	D. H. Andrews, G. Lynn e J. Johnston	1926	103
180°	H. Fischle	1879	104
180,2°	J. Kendall e Carpenter	1906	105
179-181°	H. Suida	1914	106
181°	G. Ciamician e P. Silber	1912	107
183°	H. Lettré	1940	108
179,5°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physics", 28.ª ed.	1944	

Os pontos de fusão desta substância variam, pois, como se vê do exame da tabela acima, de 8°. O ponto de fusão do produto por nós preparado está de acôrdo com os valores mais elevados.

8) *Purificação do ácido benzóico*

Para purificar o ácido benzóico, produto da "Merck do Brasil", fizemos duas recristalizações de álcool e água (1:2), após o que obtivemos um produto que se apresentou com os pontos de degêlo e de fusão seguintes:

P.D. = 121,4°
P.F. = 122,0°

Das numerosas indicações da literatura sôbre o ponto de fusão do ácido benzóico citamos os seguintes, com os quais concorda o do nosso produto:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
121°	R. Kremann, O. Mavermann e V. Oswald	1923	109
121,25°	A. Reissert	1890	110
121,4°	F. M. Jaeger	1907	111
121,4°	H. Kopp	1855	112
121,5°	J. F. Norris e W. H. Stein	1926	113
121,5°	A. M. Kellas	1897	114
121,7°	J. Th. Bornwater e A. F. Holleman	1912	115
121,8°	D. H. Andrews, G. Lynn e J. Johnston	1926	116
121,8-121,9°	C. S. Brooks e M. E. Hobbs	1940	117
122°	C. J. Wilson e H. H. Wenzke	1935	118
122°	H. Lettré e colabs.	1937	119
122,45°	W. A. Roth e A. E. Lamprecht	1938	120
122,5°	A. Bernoulli e A. Saras'n	1930	121
122°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28.ª ed.	1944	

9) *Purificação do ácido o-hidroxibenzóico*

O ácido o-hidroxibenzóico, "Merck" puríssimo, foi recristalizado de uma mistura alcoólico-aquosa, apresentando:

P.D. = 158,0°
P.F. = 159,0°

Pontos de fusão do ácido o-hidróxibenzóico indicados na literatura:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
155-156°	A. M. Kellas	1897	122
155-156°	H. Hübner	1872	123
155-156°	P. P. Pillay	1935	124
156°	Fr. Hoffmann e K. Langbek	1905	125
156,6°	K. Hrynakowsky e M. Szmyt	1935	126
157°	H. Lettré, H. Barnbeck e W. Lege	1940	127
157°	H. Lettré	1940	128
158°	Piria	1844	129
158°	A. Bernoulli e A. Sarasin	1930	130
158,3°	H. D. Crockford e F. W. Zurburg	1930	131
158,8°	J. F. Norris e W. H. Stein	1935	132
159°	A. Kolbe e E. Lautemann	1860	133
159°	C. J. Wilson e H. H. Wenzke	1935	134
159,05°	A. Reissert	1890	135
159° (155-157°)	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physics", 28. ^a ed.	1944	

Os pontos de fusão, registrados na literatura, variam de 156 até 159,05°. O ponto de fusão do nosso produto concorda, como se vê, com os valores mais altos encontrados na literatura.

10) *Purificação do ácido p-hidroxibenzóico*

O produto a nós cedido pelo Dr. Fco. Berti (*) foi dissolvido em hidróxido de sódio diluído, tratado com carvão ativado, filtrado e reprecipitado com ácido sulfúrico diluído. Depois de repetir-se por duas vezes êste processo de purificação, e depois de seco em um dessecador a vácuo sôbre ácido sulfúrico concentrado, o produto apresentou:

P.D. = 212,0°
P.F. = 213,0°

(*) Ao Dr. Francisco Berti, pela gentileza de nos ceder esta, como outras substâncias, os nossos agradecimentos.

Na literatura achamos indicados para o ácido p-hidroxiben-zóico os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
210°	Salzew	1863	136
210°	G. Fischer	1863	137
210°	G. Lock	1929	138
210°	P. Pfeiffer e W. Loewe	1937	139
210,5°	H. Ost	1878	140
211°	T. L. Kelly e H. W. Howard	1932	141
210-212°	F. F. Blicke, F. D. Smith e S. L. Powers	1932	142
212°	F. V. Hemmelmayer	1904	143
213°	H. Lettré e colabs	1937	144
213°	F. Stohmann, C. Kleber e H. Langbein	1889	145
213°	H. Lettré	1940	146
213°	O. Flaschner e I. G. Rankin	1910	147
213-214°	G. Fels	1900	148
213-214°	Walters	1917	149
214°	I. Bellucci e L. Grassi	1913	150
214°	H. Lettré, H. Barnbeck e W. Lege	1936	151
214-215°	R. Willstätter e W. Mieg	1915	152
215°	C. J. Wilson e H. H. Wenzke	1935	153
213°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28. ^a ed.	1944	

O ponto de fusão do produto por nós purificado encontra-se entre os valores médios registrados na literatura.

11) *Purificação do ácido o-aminobenzóico*

Um produto comercial "técnico" foi recristalizado muitas vezes de água com adição de carvão ativado, obtendo-se por fim agulhas brancas que, depois de sêcas em dessecador a vácuo, sôbre ácido sulfúrico concentrado, apresentaram:

P.D. = 145,6°
P.F. = 146,6°

Pontos de fusão que vêm indicados na literatura para o ácido o-aminobenzóico:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
144º	T. L. Kelly e H. W. Howard	1932	154
144,1-144,3º	H. Lunden	1906	155
144,6º	O. Flaschner e I. G. Rankin	1910	156
144,5-145º	D. H. Andrews, G. Lynn e J. Johnston	1926	157
145º	Hayduck	1874	158
145º	L. Marchlewski e J. Mayer	1929	159
145º	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28.ª ed.	1944	

Os pontos de fusão da literatura variam de só 1º. O produto por nos purificado fundiu como se vê, a uma temperatura de 1,6º mais elevada do que a mais alta acima registrada.

12) *Purificação do ácido p-aminobenzóico*

Um produto "Merck" foi por nós recristalizado três vezes de uma mistura álcool-água (1:2) e, depois de sêco em um dessecador a vácuo, sôbre ácido sulfúrico concentrado, apresentou:

P.D. = 187,0º

P.F. = 187,8º

A literatura indica, para o ácido p-aminobenzóico, os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
184-185º	W. H. Hunter e M. M. Spring	1931	160
186º	W. L. Lewis e H. C. Cheetham	1921	161
186-187º	J. Wilbrand e F. Beilstein	1863	162
186-187º	E. Widmann	1878	163
187º	T. L. Kelly e H. W. Howard	1932	164
187º	C. L. Lazzell e J. Johnston	1923	165
188-188,5º	D. H. Andrews, G. Lynn e J. Johnston	1926	166
187º	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28.ª ed.	1944	

Os pontos de fusão desta substância variam, como se vê, de 3,5°. O ponto de fusão do nosso produto concorda com os valores mais elevados.

II — ANÁLISE TÉRMICA DOS SISTEMAS BINÁRIOS

O método que empregamos na análise térmica de todos os sistemas estudados foi o de "degêlo-fusão" (Auftau-Schmelzmethod), criado por H. Rheinboldt (*). Os pontos de degêlo e de fusão das misturas dos componentes foram, em geral, determinados em capilares de vidro, e só na determinação dos respectivos dados de concentrações extremas recorreu-se, às vezes, ao controle, com auxílio do microscópio de aquecimento. Acêrca da execução prática do método, veja-se a descrição na tése de doutoramento de P. Senise (**).

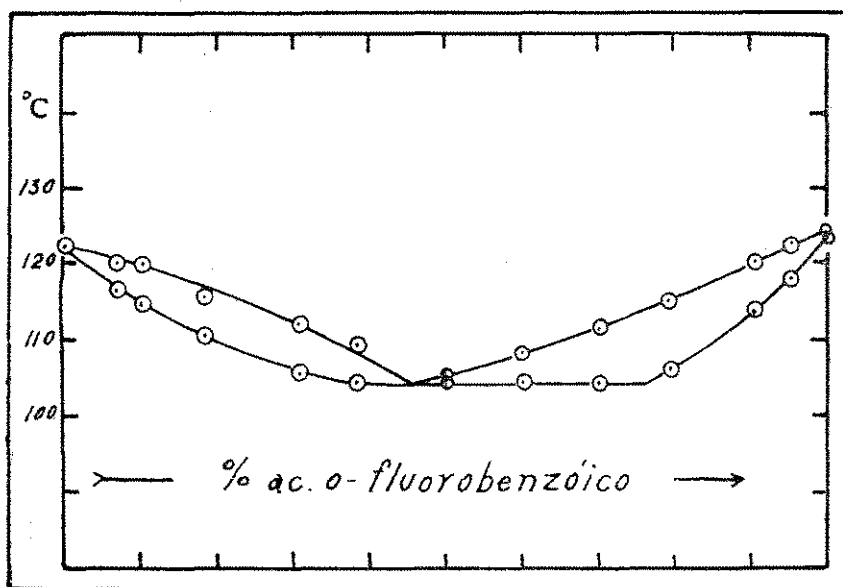
Êste trabalho consta do estudo de 22 sistemas binários. Tôdas as misturas dos componenets foram preparadas pela fusão completa das substâncias. Os pontos de degêlo (P. D.) e fusão (P. F.), salvo poucas exceções, foram observadas em provas separadas, para evitar eventuais decomposições no aquecimento prolongado. A porcentagem indicada para as diferentes misturas entende-se sempre por cento em pêso.

(*) H. Rheinboldt, M. Ktrcheisen e K. Hennig, *J. prakt. Chem.* [2] 111, 242 (1925); 112, 187 (1926); 113, 199 e 348 (1926); *Ber.* 74, 756 (1941); *Chem. Abstr.* 35, 6503 (1941).

(**) P. Senise, *Bol. Fac. Fil. Cienc. e Letras, Univ. S. Paulo, Vol. Química* N.º 1 (1942), 49-52.

1) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO BENZÓICO

FIG. N. 2



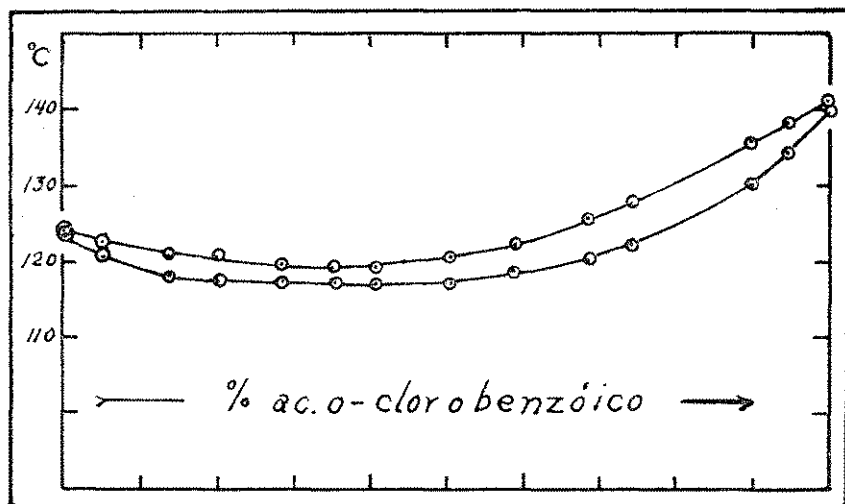
% de ác. <i>o</i> -fluoro- benzôico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	121,4	122,0
7,00	116,2	120,2
10,13	114,6	119,6
18,60	110,5	115,5
31,00	105,8	112,0
38,40	104,0	109,2
50,00	104,0	105,0
60,23	104,2	108,2
70,45	104,0	111,0
79,45	106,0	115,0
90,79	113,4	120,2
95,46	118,0	122,6
100,00	123,0	124,0

O diagrama de estado sólido-líquido deste sistema, mostra uma miscibilidade parcial dos componentes no estado sólido, pertencendo ao tipo V da classificação de Roozeboom. A lacuna de miscibilidade vai de 34 a 76% de ácido *o*-fluorobenzoico.

Ao ponto eutético correspondem a temperatura de 104,0° e 45% de ácido *o*-fluorobenzoico.

2) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *o*-CLOROBENZÓICO

FIG. N. 3

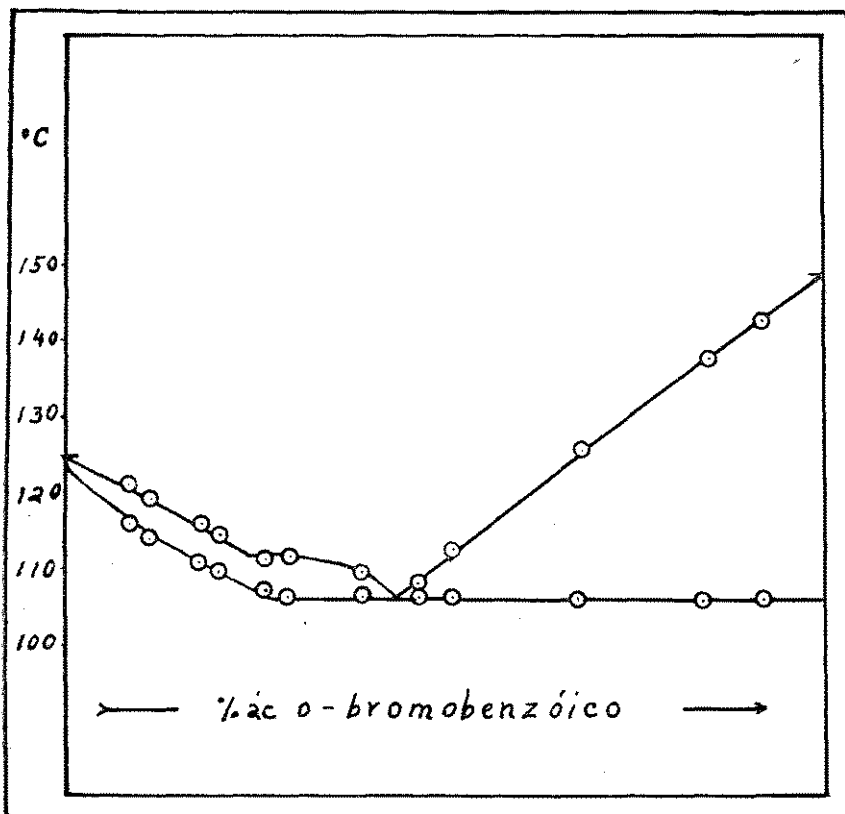


% de ac. <i>o</i> -cloro-benzóico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	123,0	124,0
5,05	120,6	122,6
13,66	118,0	120,8
20,00	117,6	120,2
28,45	117,5	119,4
35,08	117,2	119,0
40,90	117,2	119,0
50,90	117,5	120,2
59,01	118,3	122,0
68,98	120,0	125,5
74,15	122,0	127,6
89,77	130,0	135,8
94,80	134,4	138,0
100,00	139,5	140,5

Os componentes do sistema formam uma série contínua de cristais mixtos do tipo III segundo a classificação de Roozeboom. O mínimo das curvas "liquidus" e "solidus" encontra-se à temperatura de 118°, correspondendo-lhe uma composição aproximada de cerca de 37% em ácido *o*-clorobenzóico.

3) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *o*-BROMOBENZÓICO

Fig. N. 4



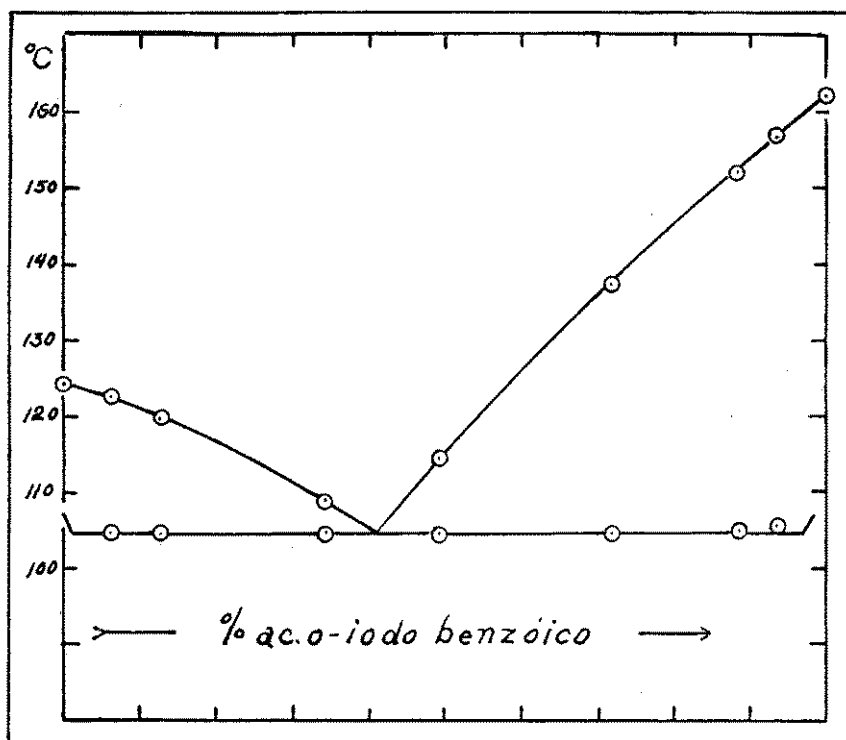
% de ác. <i>o</i> -bromo- benzólico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	123,0	124,0
8,90	115,2	120,2
11,90	113,8	118,6
18,60	110,6	115,6
21,00	109,8	114,8
27,00	107,0	111,0
30,40	106,0	111,0
39,50	106,0	109,6
47,30	106,0	107,7
52,10	106,0	112,0
68,46	106,0	125,3
85,40	106,0	138,2
92,03	106,0	143,8
100,00	148,0	149,0

O diagrama de estado d'êste sistema mostra uma miscibilidade parcial dos componentes no estado sólido, com um ponto de transição na curva de fusão. Pertence êste sistema ao tipo V na classificação de Roozeboom. A lacuna de miscibilidade vai de 18 a 100% de ácido *o*-bromobenzóico. O ponto de transição da curva

"liquidus" acha-se à temperatura de 111°, correspondendo-lhe uma composição aproximada de 25% em ácido *o*-bromobenzóico.

4) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *o*-IODOBENZÓICO

FIG. N. 5

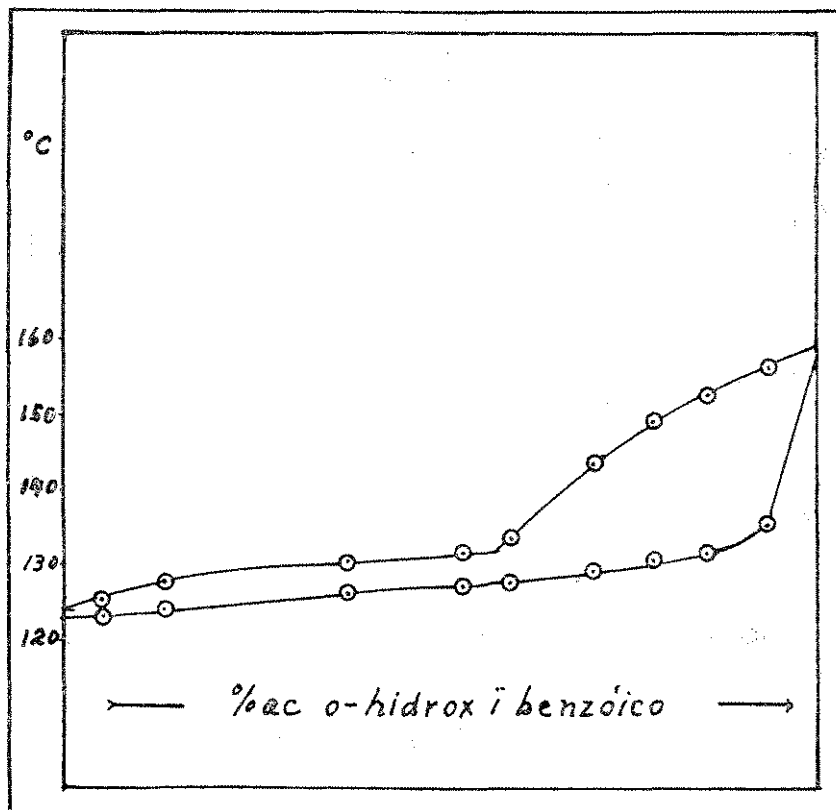


% de ác. <i>o</i> -iodo- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	123,0	124,0
6,22	104,6	122,5
12,74	104,6	119,8
34,18	104,6	109,0
49,15	104,6	114,0
71,88	104,6	137,1
88,51	104,8	152,0
93,92	105,5	156,7
100,00	161,2	162,2

O diagrama de estado dêste sistema mostra que os componentes formam, entre si, um simples conglomerado. Ao ponto eutético correspondem a temperatura de 104,6° e 41% de ácido *o*-iodobenzóico.

5) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *o*-HIDROXIBENZÓICO

Fig. N. 6



% de ác. <i>o</i> -hidroxí- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	123,0	124,0
5,10	123,0	125,4
12,90	124,0	127,6
37,50	125,8	130,2
53,60	126,8	131,0
58,00	127,2	133,0
69,94	128,8	143,0
78,20	130,0	148,5
85,20	131,0	152,2
93,20	134,8	155,8
100,00	158,0	159,0

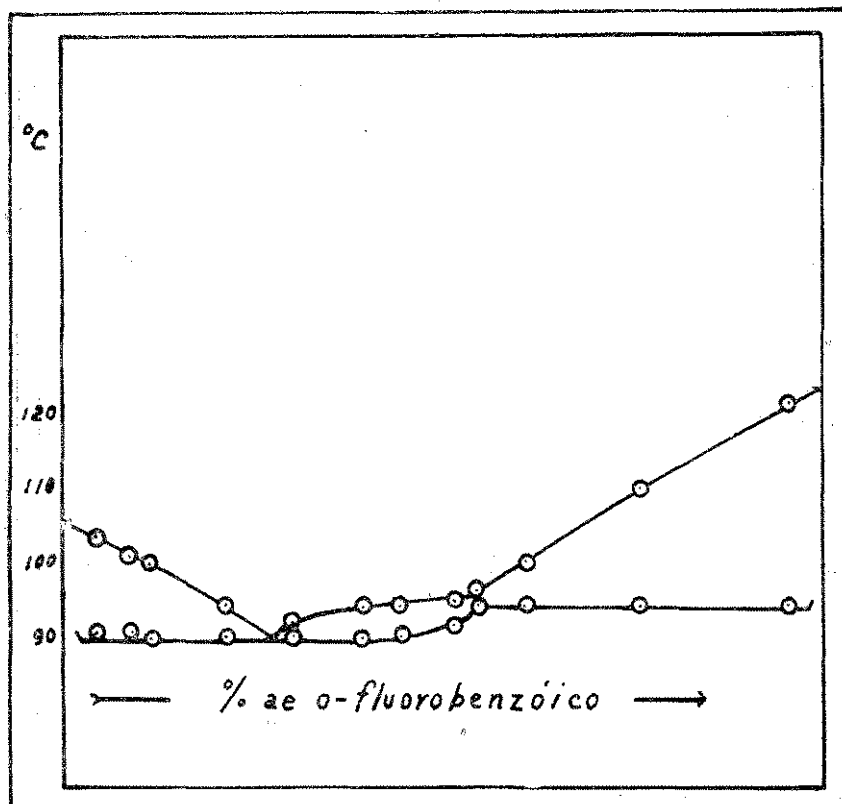
O diagrama de estado d'êste sistema mostra uma miscibilidade dos componentes no estado sólido, com um ponto de transição na curva de fusão. Pertence êste sistema ao tipo IV da classificação de Roozeboom.

O ponto de transição da curva "liquidus" acha-se a uma temperatura de

131,0° correspondendo-lhe uma composição aproximada de 53% em ácido *o*-hidroxibenzóico.

6) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *o*-METILBENZÓICO

FIG. N. 7



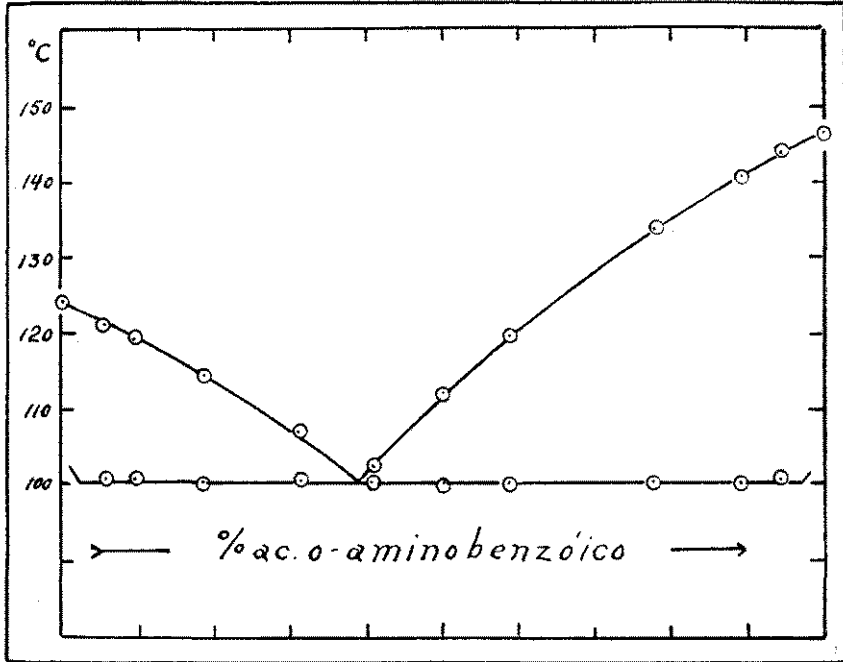
% de ác. <i>o</i> -fluoro- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	103,8	104,0
4,80	90,6	103,4
8,04	90,8	100,8
10,91	90,2	99,8
20,98	90,2	94,2
29,65	90,2	91,8
38,90	90,2	94,0
43,68	90,2	94,2
50,69	91,4	94,4
53,50	94,0	95,6
60,20	94,0	99,7
75,40	94,0	109,8
95,20	94,0	121,2
100,00	123,0	124,0

O diagrama de estado dêste sistema mostra que os componentes formam entre si um composto, cuja composição é de 1:1, com 50,7% em ácido *o*-fluorobenzóico. O ponto de transição da curva de fusão encontra-se à temperatura de 94,6° e 50%.

Ao ponto eutético correspondem a temperatura de 90,2° e 26% em ácido *o*-fluorobenzóico.

7) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *o*-AMINO-BENZÓICO

FIG. N. 8

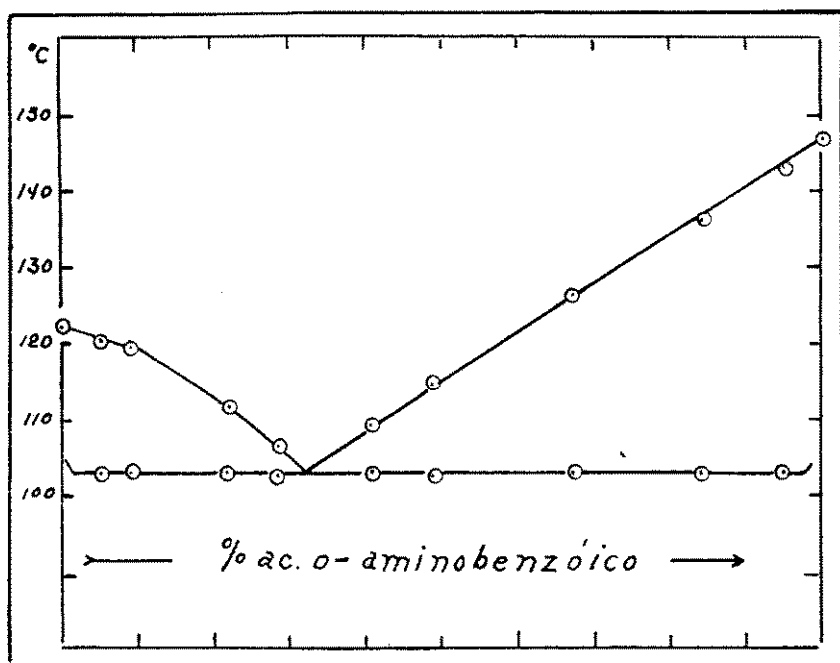


% de ác. <i>o</i> -amino- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	123,0	124,0
5,77	100,5	121,2
9,75	100,4	119,0
18,84	100,2	114,5
31,31	100,2	107,0
40,87	100,2	102,2
50,32	100,2	112,0
58,91	100,2	119,6
77,90	100,2	133,4
89,39	100,4	140,8
94,46	100,5	143,8
100,00	145,6	146,6

Os componentes deste sistema formam um conglomerado. Ao ponto eutético correspondem a temperatura de 100,2° e 39% em ácido *o*-aminobenzóico.

8) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO BENZÓICO ÁCIDO
o-AMINO BENZÓICO

FIG. N. 9



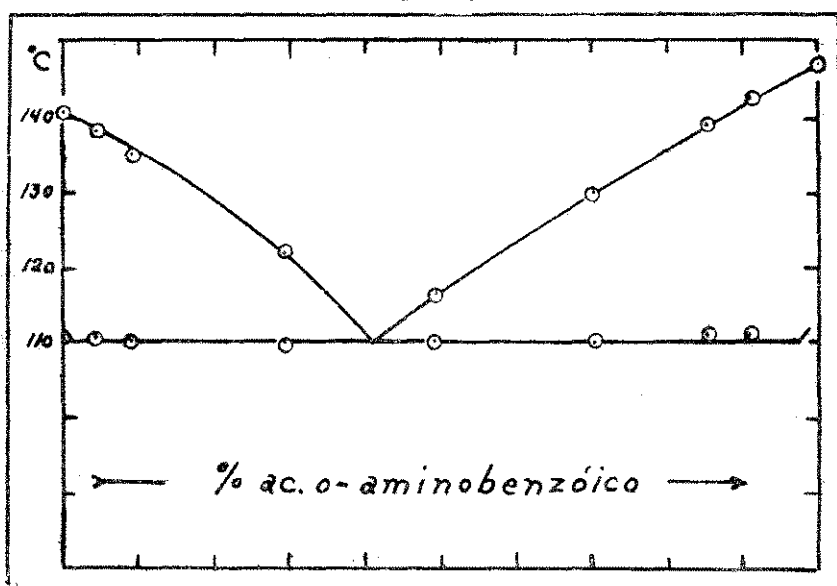
% de ác. o-amino- benzôico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	121,4	122,0
5,21	103,0	120,8
9,09	103,0	119,4
21,77	103,0	111,6
28,22	102,8	106,4
40,60	103,0	109,0
48,97	102,8	114,5
67,03	103,0	126,2
84,19	103,0	136,0
95,11	103,0	143,6
100,00	146,0	146,6

O diagrama de estado d'êste sistema mostra a formação de um simples conglomerado entre os componentes.

O ponto eutético encontra-se a 103°, correspondendo-lhe a composição de ca. 32% em ácido o-aminobenzoico.

9) SISTEMA BINARIO: ACIDO *o*-CLOROBENZÓICO E ACIDO *o*-AMINOENZÓICO

FIG. N. 10



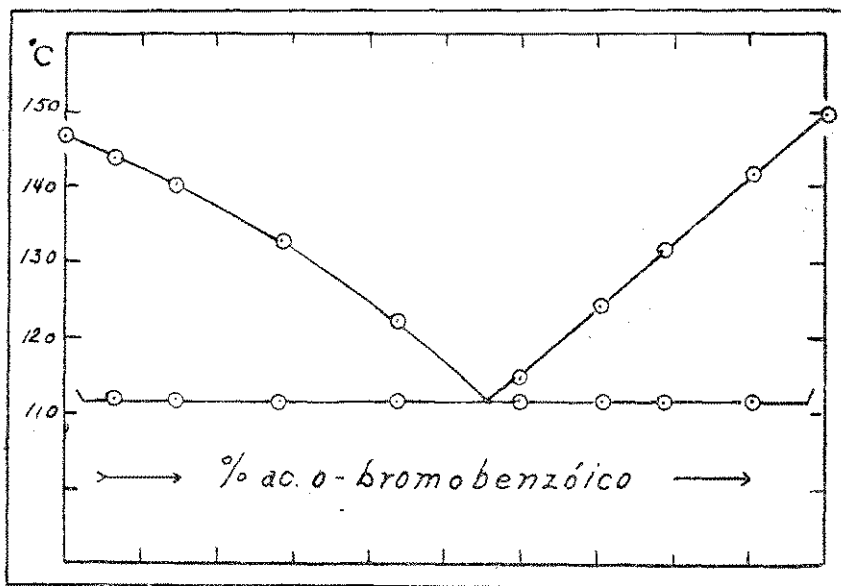
% de ác. <i>o</i> -amino- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	139,5	140,5
4,38	110,5	138,3
9,10	110,0	135,7
29,47	110,0	121,8
49,57	110,0	116,1
70,49	110,0	130,2
85,57	111,0	139,0
91,46	111,0	142,6
100,00	145,6	146,6

Os componentes formam entre si um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 41% de ácido *o*-aminobenzóico e a temperatura de 110,0°.

10) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-BROMOBENZÓICO E ÁCIDO *o*-AMINOENZÓICO

FIG. N. 11



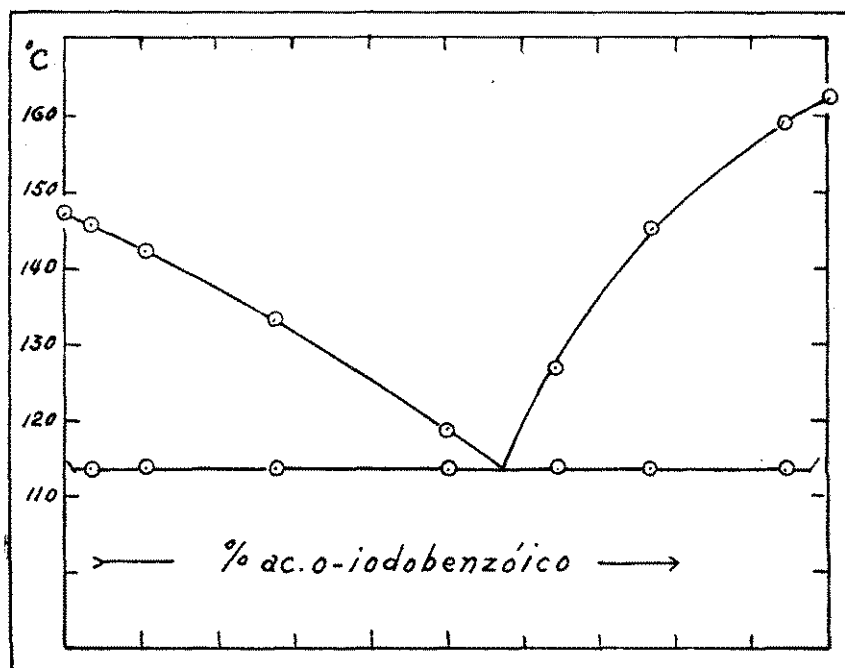
% de ác. <i>o</i> -bromo- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	145,6	146,6
6,50	111,5	143,5
14,41	111,5	140,2
28,28	111,5	132,8
43,80	111,5	122,2
59,70	111,5	114,5
70,48	111,5	124,0
78,71	111,5	131,7
90,44	111,5	141,4
100,00	148,0	149,0

Os componentes formam entre si um conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 111,5° e 55% de ácido *o*-bromobenzoico.

11) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-IODOBENZÓICO E ÁCIDO
o-AMINOENZÓICO

FIG. N. 12



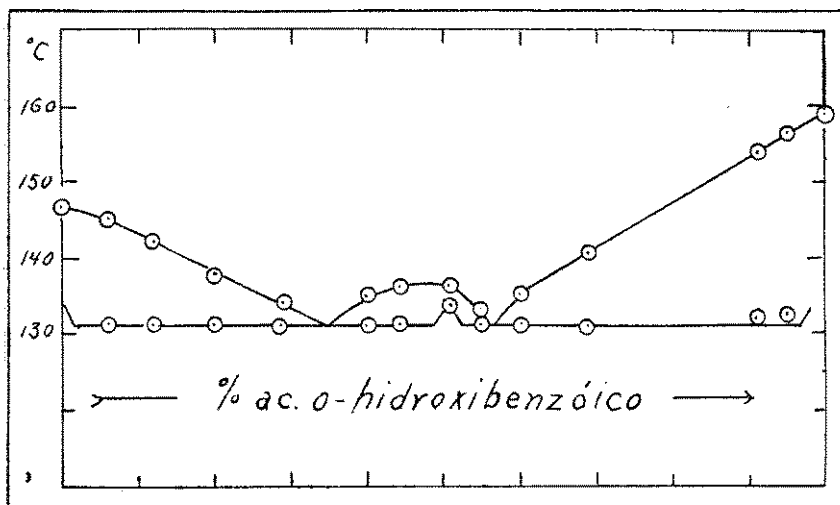
% de ác. <i>o</i> -iodo- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	145,6	146,6
3,49	113,5	145,5
10,67	113,5	142,1
27,40	113,5	133,0
50,31	113,5	118,8
64,54	113,5	126,3
76,76	113,5	146,0
94,36	113,5	159,0
100,00	161,2	162,2

Os componentes formam entre si um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem a temperatura de 113,5° e 58% em ácido *o*-iodobenzóico.

12) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-HIDROXIBENZÓICO E ÁCIDO *o*-AMINOBENZÓICO

FIG. N. 13



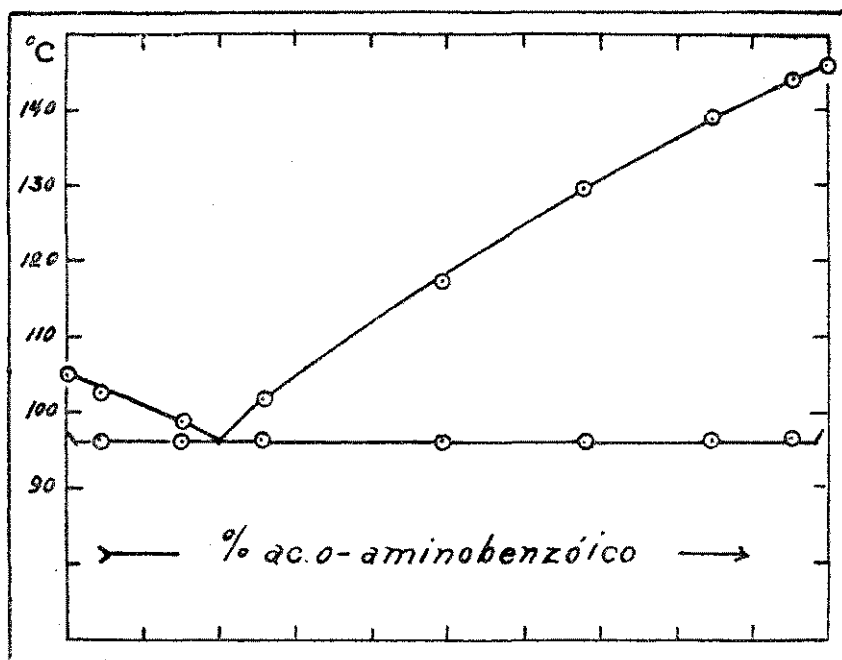
% de ác. <i>o</i> -hidroxibenzóico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	145,6	146,6
6,07	131,2	145,2
11,85	131,2	142,2
19,78	131,2	137,8
28,50	131,2	134,2
39,55	131,2	134,8
44,14	131,2	136,0
50,49	133,8	136,2
54,76	131,2	133,2
59,89	131,2	135,2
68,78	131,2	140,8
91,02	132,2	154,2
94,95	132,5	156,4
100,00	158,0	159,0

O diagrama de estado d'êste sistema mostra que os componentes formam entre si um composto de fusão congruente, cuja composição é de 1:1 (calculado: 50,6% de ácido *o*-hidroxibenzóico).

Aos pontos eutéticos correspondem 131,2°, 34% e 131,2°, 57% em ácido *o*-hidroxibenzóico.

13) SISTEMA BINARIO: ÁCIDO *o*-METILBENZÓICO E ÁCIDO *o*-AMINO-BENZÓICO

FIG. N. 14



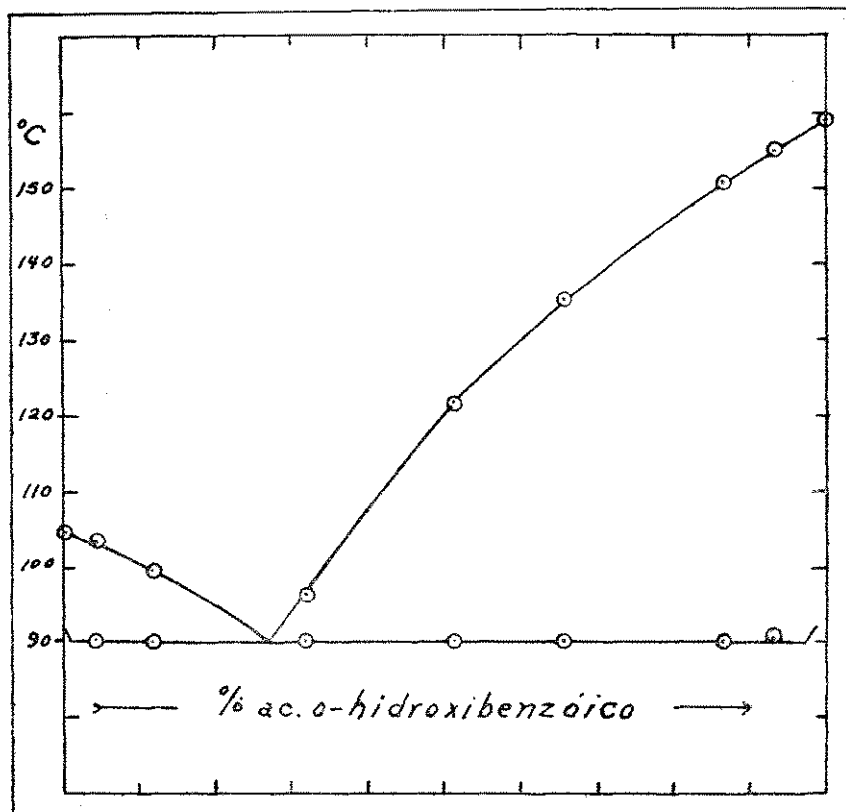
% de ác. <i>o</i> -amino-benzóico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	103,8	104,6
4,98	96,2	102,5
15,21	96,2	98,5
25,76	96,2	101,3
49,18	96,2	117,2
67,92	96,2	129,5
84,76	96,2	138,9
95,10	96,5	144,2
100,00	144,6	145,6

Os componentes formam entre si um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 96,2° e 20% em ácido *o*-metilbenzóico.

14) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *o*-METILBENZÓICO E ÁCIDO *o*-HIDROXIBENZÓICO

Fig. N. 15



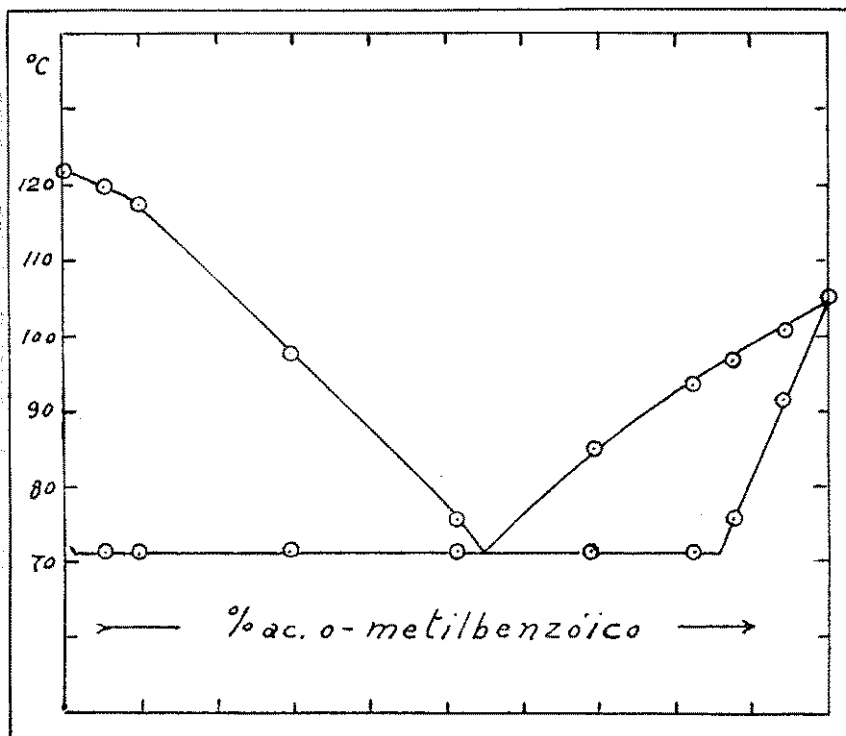
% de ác. <i>o</i> -hidroxibenzóico	P. P. ° C	P. F. ° C
0,00	103,8	104,6
4,36	90,2	103,2
11,75	90,0	99,8
31,85	90,0	96,2
51,38	90,0	121,5
65,80	90,2	135,8
86,86	90,2	150,8
93,23	90,4	155,0
100,00	158,0	159,0

Os componentes formam entre si um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 90,0° e 27% em ácido *o*-hidroxibenzóico.

15) SISTEMA BINARIO: ÁCIDO BENZÓICO E ÁCIDO
o-METILBENZÓICO

FIG. N. 16



% de ác. o-metil- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	121,4	122,0
5,23	71,5	119,6
9,57	71,2	117,0
29,45	71,2	97,8
51,53	71,2	75,6
69,29	71,2	84,7
82,56	71,2	93,2
87,62	75,6	96,8
94,33	91,6	100,9
100,00	103,8	104,6

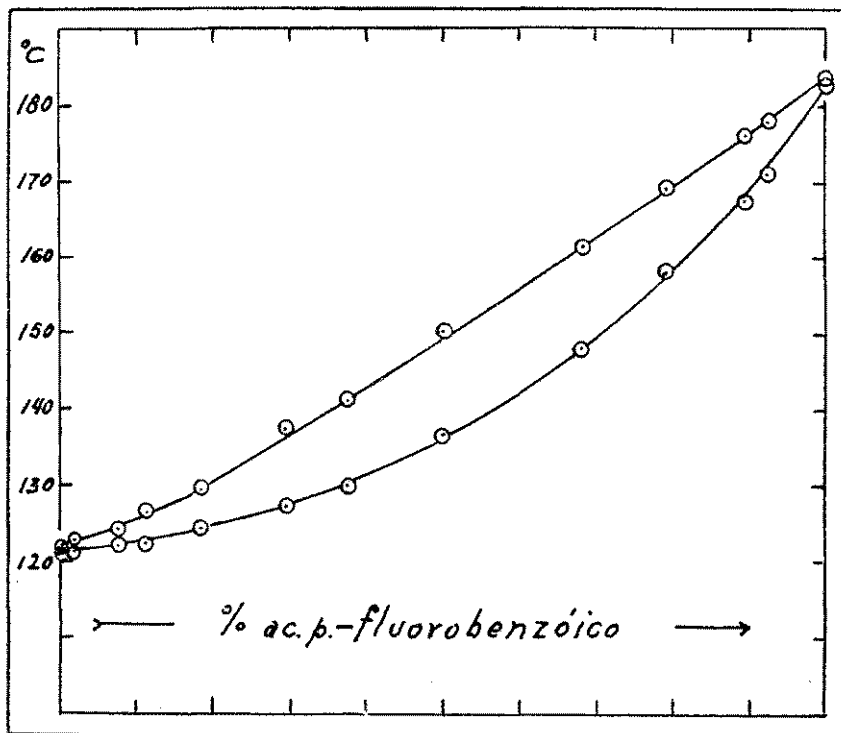
O diagrama de estado d'êste sistema mostra que os componentes são só parcialmente miscíveis no estado sólido; pertence, pois, tal sistema provavelmente ao tipo V da classificação de Roozeboom.

A lacuna de miscibilidade vai de cêrca de zero a 86% em pêso de ácido

o-metilbenzóico, de modo que é praticamente só o ácido o-metilbenzóico que tem a facultade de dissolver até cêrca de 14% de ácido benzóico. O ponto eutético tem as coordenadas: 55% de ácido o-metilbenzóico e 71,2°.

16) SISTEMA BINÁRIO: ACIDO BENZÓICO E ACIDO
p-FLUOROBENZÓICO

FIG. N. 17

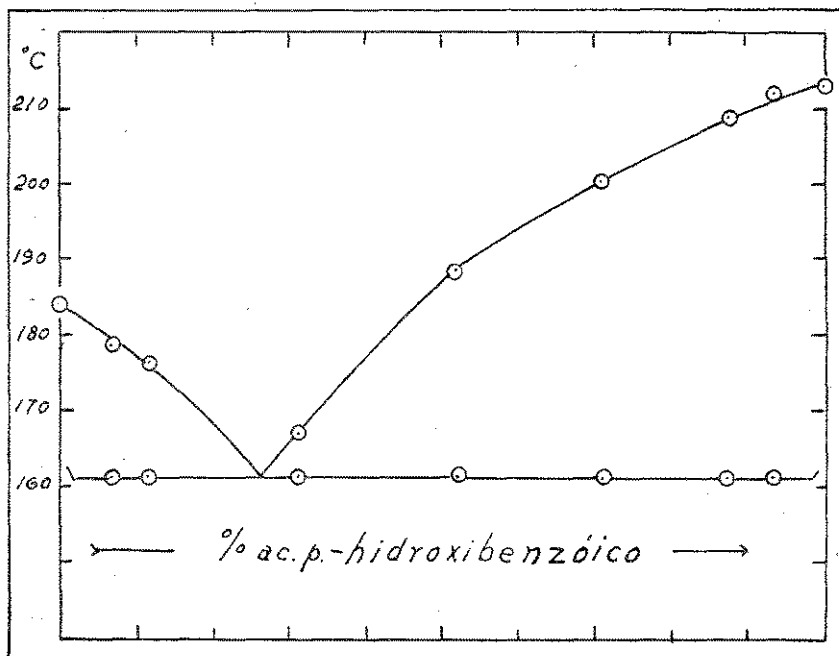


% de ác. p-fluoro- benzôico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	121,4	122,0
2,00	121,8	122,6
7,60	122,2	124,3
11,32	122,5	126,0
18,13	124,0	129,6
29,80	127,0	137,4
37,64	130,2	141,8
50,00	136,5	149,9
68,26	148,0	161,2
79,06	158,0	169,0
89,74	167,5	176,2
92,49	171,0	178,0
100,00	182,4	183,4

O diagrama de estado d'êste sistema mostra que os componentes formam uma série contínua de cristais mixtos, pertencente ao tipo I da classificação de Roozeboom.

17) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *p*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *p*-HIDROXIBENZÓICO

FIG. N. 18



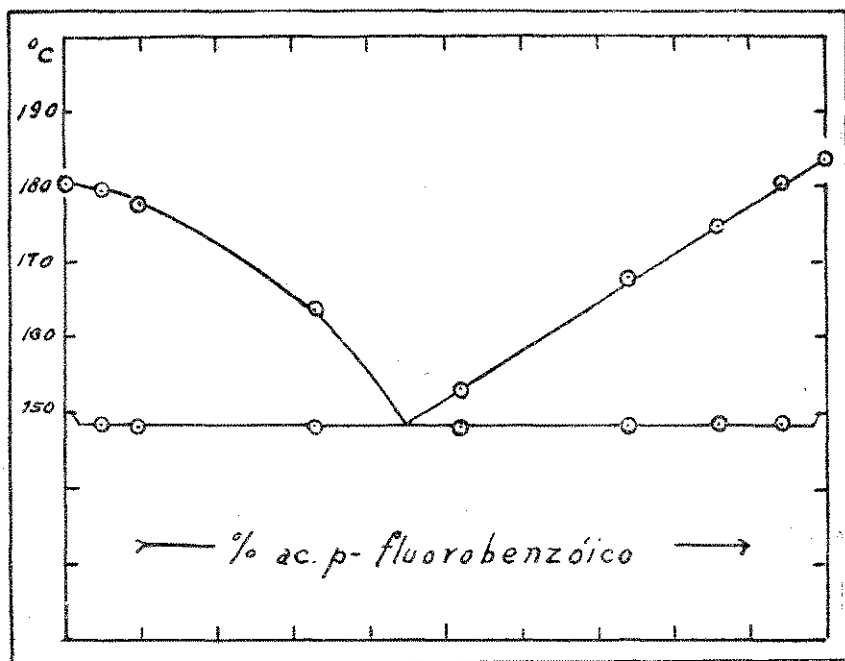
% de ác. <i>p</i> -hidroxibenzóico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	182,4	183,4
6,73	161,0	178,8
11,64	161,0	176,0
31,13	161,0	167,0
52,00	161,0	188,5
71,00	161,0	200,8
87,52	161,0	208,6
93,52	161,5	211,5
100,00	212,0	213,0

O diagrama de estado deste sistema mostra que os componentes formam um simples conglomerado.

O ponto eutético encontra-se a 161,0° e 26% de ácido *p*-hidroxibenzoico.

18) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *p*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *p*-METILBENZÓICO

FIG. N. 19



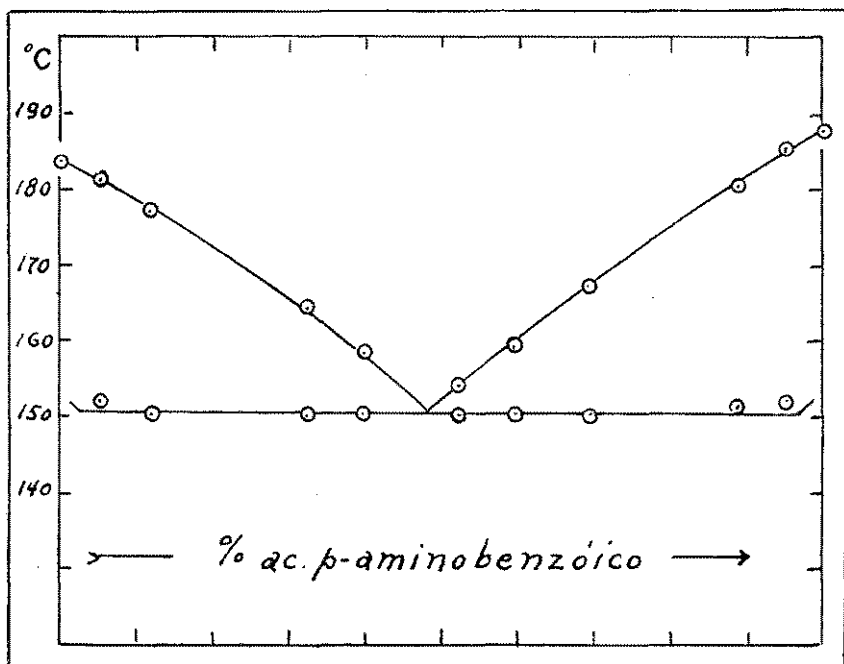
% de ác. p-fluoro- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	178,8	180,0
5,16	148,5	179,0
9,87	148,0	177,4
33,08	148,0	183,5
51,95	148,0	153,2
73,98	148,2	167,4
86,12	148,5	174,6
94,38	148,5	180,2
100,00	182,4	183,4

O diagrama de estado dêste sistema mostra que os componentes formam um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 148,0° e 45% de ácido p-fluorobenzóico.

19) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *p*-FLUOROBENZÓICO E ÁCIDO *p*-AMINOENZÓICO

Fig. n. 20



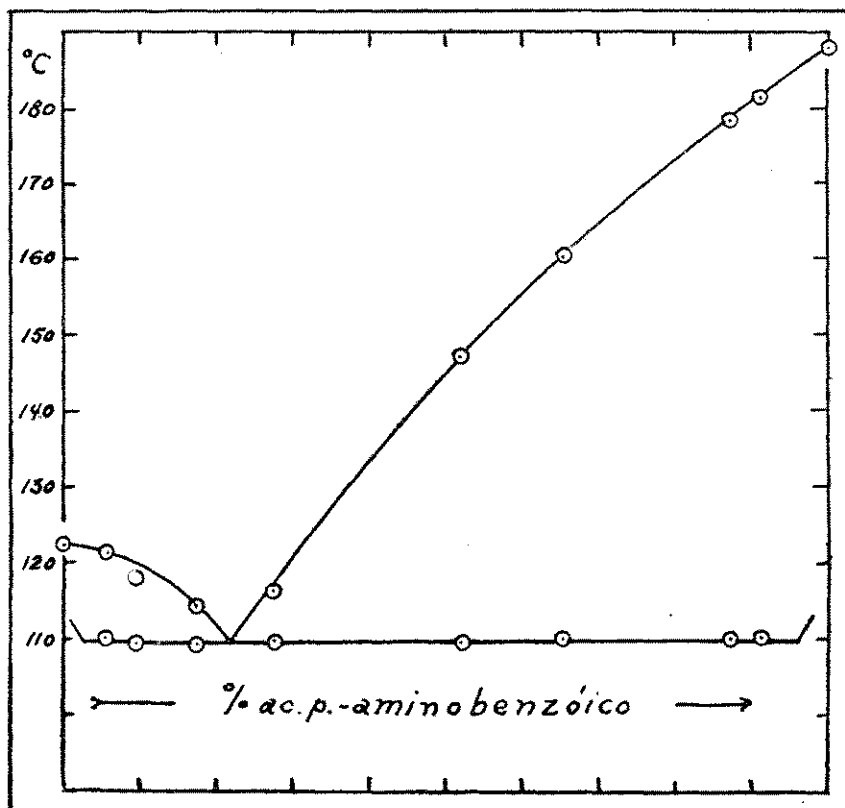
% de ác. <i>p</i> -amino- benzóico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	182,4	183,4
5,01	152,0	181,0
11,92	150,5	177,0
32,15	150,5	164,4
39,40	150,5	158,0
52,30	150,5	154,0
59,68	150,5	159,5
69,23	150,5	167,0
88,75	151,5	180,2
95,27	152,5	185,0
100,00	187,0	187,8

Os componentes formam um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 150,5° e 48% de ácido *p*-aminobenzóico.

20) SISTEMA BINARIO: ACIDO BENZOICO E ACIDO
p-AMINO BENZOICO

FIG. N. 21



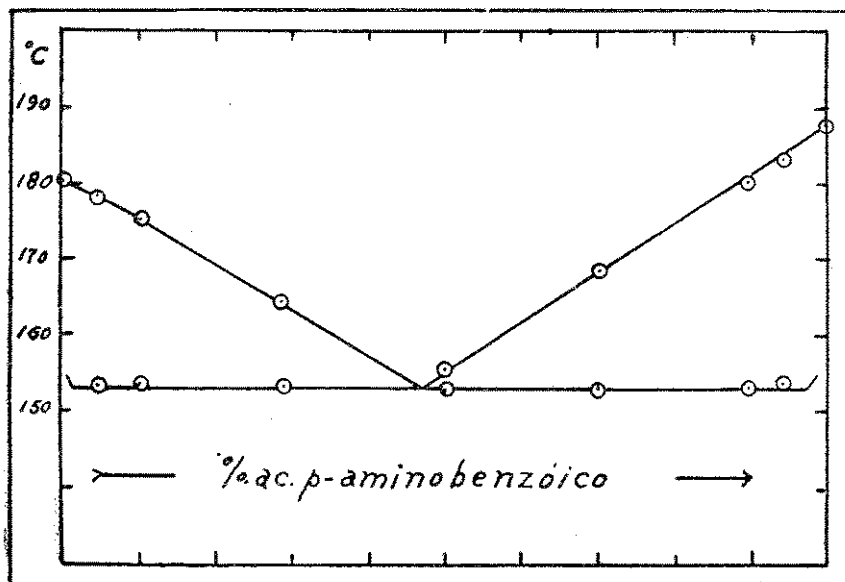
% de ác. <i>p</i> -amino- benzôico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	121,4	122,0
5,68	110,0	121,2
9,64	109,5	118,6
17,29	109,5	114,4
27,31	109,5	116,6
52,01	109,5	147,0
65,53	110,0	160,0
87,22	110,0	178,0
91,60	110,0	181,8
100,00	187,0	187,8

O diagrama de estado d'êste sistema mostra que os componentes formam um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 109,5° e 22% em ácido *p*-aminobenzoico.

21) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *p*-METILBENZÓICO E ÁCIDO
p-AMINOBENZÓICO

FIG. N. 22



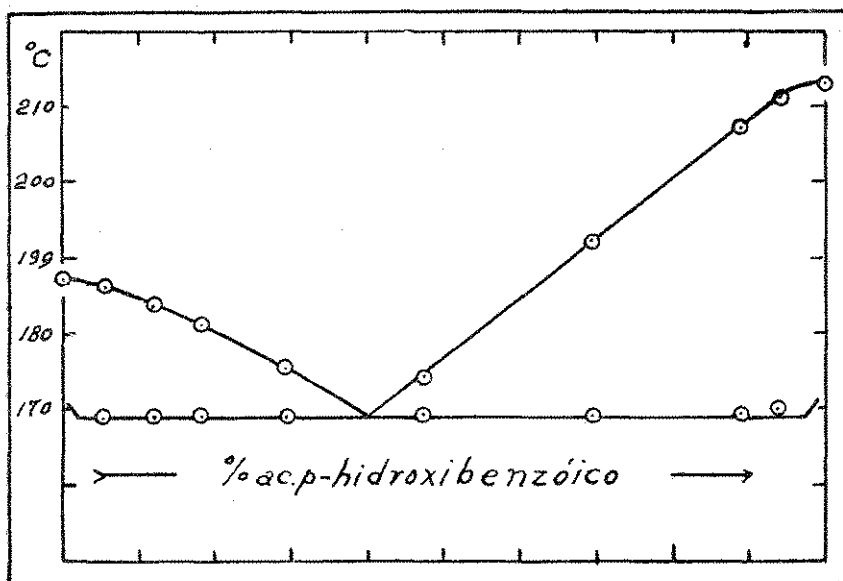
% de ác. <i>p</i> -amino- benzóico	P. D. ° C	P. F. ° C
0,00	178,8	180,0
4,86	153,2	178,0
10,00	153,2	175,0
28,96	153,0	164,4
50,34	152,8	155,0
70,23	153,0	168,5
89,84	153,5	180,5
94,11	154,0	183,5
100,00	187,0	187,8

O diagrama de estado dêste sistema mostra que os componentes formam um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 153,0° e 47% em ácido *p*-aminobenzóico.

22) SISTEMA BINÁRIO: ÁCIDO *p*-HIDROXIBENZÓICO E ÁCIDO *p*-AMINOENZÓICO

FIG. N. 23



% de ác. <i>p</i> -hidroxi- benzóico	P. D. °C	P. F. °C
0,00	187,0	187,8
5,07	169,0	186,4
11,90	169,0	183,8
18,25	169,0	81,0
29,49	169,4	175,4
47,08	169,2	174,8
69,07	169,4	192,0
88,91	169,6	207,0
93,99	170,0	211,2
100,00	212,0	213,0

O diagrama de estado d'êste sistema mostra que os componentes formam um simples conglomerado.

Ao ponto eutético correspondem 169,0° e 40% em ácido *p*-hidroxi-benzóico.

RESUMO

O presente trabalho contém a elaboração da análise térmica de 22 sistemas binários, entre ácidos benzóico, halogenobenzóicos e pseudohalogenobenzóicos, que foram todos determinados pelo método de "degêlo-fusão".

Sistemas binários estudados

- 1) Ac. o-fluorobenzóico e ac. benzóico. Cristais mixtos V
- 2) Ac. o-fluorobenzóico e ac. o-clorobenzóico. Cristais mixtos III
- 3) Ac. o-fluorobenzóico e ac. o-bromobenzóico. Cristais mixtos V
- 4) Ac. o-fluorobenzóico e ac. o-iodobenzóico. Eutético
- 5) Ac. o-fluorobenzóico e ac. o-hidroxibenzóico. Cristais mixtos IV
- 6) Ac. o-fluorobenzóico e ac. o-metilbenzóico. Composto
- 7) Ac. o-fluorobenzóico e ac. o-aminobenzóico. Eutético
- 8) Ac. benzóico e ac. o-aminobenzóico. Eutético
- 9) Ac. o-clorobenzóico e ac. o-aminobenzóico. Eutético
- 10) Ac. o-bromobenzóico e ac. o-aminobenzóico. Eutético
- 11) Ac. o-iodobenzóico e ac. o-aminobenzóico. Eutético
- 12) Ac. o-hidroxibenzóico e ac. o-aminobenzóico. Composto 1:1
- 13) Ac. o-metilbenzóico e ac. o-aminobenzóico. Eutético
- 14) Ac. o-metilbenzóico e ac. o-hidroxibenzóico. Eutético
- 15) Ac. benzóico e ac. o-metilbenzóico. Eutético
- 16) Ac. benzóico e ac. p-fluorobenzóico. Cristais mixtos I
- 17) Ac. p-fluorobenzóico e ac. p-hidroxibenzóico. Eutético
- 18) Ac. p-fluorobenzóico e ac. p-metilbenzóico. Eutético
- 19) Ac. p-fluorobenzóico e ac. p-aminobenzóico. Eutético
- 20) Ac. benzóico e ac. p-aminobenzóico. Eutético
- 21) Ac. p-hidroxibenzóico e ac. p-aminobenzóico. Eutético
- 22) Ac. p-metilbenzóico e ac. p-aminobenzóico. Eutético

SUMMARY

The present paper contains the elaboration of the thermic analysis of 22 binary systems, between benzoic, halogenbenzoic and pseudohalogenbenzoic acids which were all determined by the "thaw-melting" method.

Binary systems studied

- 1) o-fluorobenzoic ac. + benzoic ac. Mixed crystals V
- 2) o-chlorobenzoic ac. + o-fluorobenzoic ac. Mixed crystals III
- 3) o-fluorobenzoic ac. + o-bromobenzoic ac. Mixed Crystals V
- 4) o-fluorobenzoic ac. + o-iodobenzoic ac. Eutetic
- 5) o-fluorobenzoic ac. + o-hydroxybenzoic ac. Mixed crystals IV
- 6) o-fluorobenzoic ac. + o-methylbenzoic ac. Compound 1:1
- 7) o-fluorobenzoic ac. + o-aminobenzoic ac. Eutetic
- 8) benzoic ac. + o-aminobenzoic ac. Eutetic
- 9) o-chlorobenzoic ac. + o-aminobenzoic ac. Eutetic
- 10) o-bromobenzoic ac. + o-aminobenzoic ac. Eutetic
- 11) o-iodobenzoic ac. + o-aminobenzoic ac. Eutetic
- 12) o-hydroxybenzoic ac. + o-aminobenzoic ac. Compound 1:1
- 13) o-methylbenzoic ac. + o-aminobenzoic ac. Eutetic
- 14) o-methylbenzoic ac. + o-hydroxybenzoic ac. Eutetic
- 15) benzoic ac. + o-methylbenzoic ac. Mixed crystals V
- 16) benzoic ac. + p-fluorobenzoic ac. Mixed crystals I
- 17) p-fluorobenzoic ac. + p-hydroxybenzoic ac. Eutetic
- 18) p-fluorobenzoic ac. + p-methylbenzoic ac. Eutetic
- 19) p-fluorobenzoic ac. + p-aminobenzoic ac. Eutetic
- 20) benzoic ac. + p-aminobenzoic ac. Eutetic
- 21) p-hydroxybenzoic ac. + p-aminobenzoic ac. Eutetic
- 22) p-methylbenzoic ac. + p-aminobenzoic ac. Eutetic

LITERATURA DA PARTE EXPERIMENTAL

- 1 — BALZ, G. e G. SCHIEMANN — 1927- *Ber.*, 60: 1186.
SCHIEMANN, G. — 1934 — *J. prakt. Chem.* [2] 140: 97 — *Chem. Zent.* 1934, II: 1116.
- 2 — ORGANIC SYNTHESIS — 1933, 13:52.
- 3 — PATERNO, E. e V. OLIVERI — 1882 — *Gazz. Chim. Ital.*, 12: 91 — *Jahresber. Chem.* 1882: 901.
- 4 — HOLLEMAN, M. — 1905 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 24: 32 — *Chem. Zent.* 1905, I: 1230
- 5 — HOLLEMAN, A. F. — 1906 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 25: 332 — *Beilst.* 9: 333.
- 6 — MEYER, H. e A. HUB — 1910 — *Monatsh. Chem.*, 31: 934 — *Beilst.* 9 suppl.: 136.
- 7 — SLOTHOUWER, J. H. — 1914 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 33: 326 — *Chem. Zent.* 1915, I: 252.
- 8 — HOLLEMAN, A. F. e J. H. SLOTHOUWER — 1910 — *Koninkl. Akad. van Wetensch. Amsterdam, Wiscken Natk., Afd* — 19: 497-500 — *Chem. Zent.* 1911, I: 74.

- 9 — GOVAERT, F. — 1929 — *Bull. Acad. Roy Belg. Sci.* [5] 15: 761-72; *Chem. Zent.* 1930, I, 973.
- 10 — HOBBS, M. E. e A. J. WEITH JR. — 1943 — *J. Am. Chem. Soc.*, 65: 968.
- 11 — COHEN, J. B. — 1911 — *J. Chem. Soc. London*, 99: 1063 — *Chem. Zent.* 1911, II: 279.
- 12 — KUHN, R. e A. WASSERMANN — 1928 — *Helv. Chim. Acta.*, 11: 33 — *Chem. Zent.* 1928, I: 1625.
- 13 — SCHIEMANN, G. — 1934 — *J. prakt. Chem.*, 140: 97 — *Chem. Zent.* 1934, II: 1117.
- 14 — KAILAN, A. e W. ANTROPP — 1929 — *Monatsh. Chem.*, 52: 297-388 — *Chem. Zent.* 1929, II: 2442.
- 15 — WASSERMANN, A. — 1930 — *Ber.*, 63: 56.
- 16 — SCHIEMANN, G. e H. G. BAUMGARTEN — 1937 — *Ber.*, 70: 1416-22 — *Chem. Zent.* 1937, II: 568.
- 17 — BALZ, G. e G. SCHIEMANN — 1927 — *Ber.*, 60: 1186.
SCHIEMANN, G. — 1934 — *J. prakt. Chem.* [2] 140: 97 — *Chem. Zent.* 1934, II: 1116.
- 18 — ORGANIC SYNTHESIS — 1933 — 18: 52.
- 19 — HOBBS, M. E. e A. J. WEITH JR. — 1943 — *J. Am. Chem. Soc.*, 65: 968.
- 20 — PATERNO, E. e V. OLIVERI — 1882 — *Gazz. Chim. Ital.*, 12: 87; *Jahresber. Chem.* 1882: 901.
- 21 — WALLACH, O. — 1886 — *Ann.* 235: 263 — *Beilst.* 9: 333.
- 22 — SCHMITT e VON GEHLEN — 1870 — *J. prakt. Chem.* [2] 1. 394; *Beilst.* 9: 333.
- 23 — HOLLEMAN, A. F. e J. H. SLOTHOUWER — 1910 — *Koninkl. Akad van Wetensch. Amsterdam, Wiscken Natk Afd.*, 19: 497-500 — *Chem. Zent.* 1911, I; 74.
- 24 — MEYER, H. e A. HUB — 1910 — *Monatsh. Chem.* 31: 934 — *Beilst.* 9: supl. 137.
- 25 — VAN HOVE, THEO — 1922 — *Bull. Acad. Roy Belg. classe de sciences* [5] 8: 505-530 — *Chem. Zent.* 1923, I: 312.
- 26 — HOLLEMAN, A. F. — 1906 — *Rec. Trav. Chim. Pay-Bas* 25: 332 — *Chem. Zent.* 1906, II: 1830.
- 27 — JAEGER, F. M. — 1907 — *Z. Kryst.* 42: 24.
- 28 — SLOTHOUWER, J. H. — 1914 — *Rec. Trav. Chim. Pay-Bas* 33: 326 — *Chem. Zent.* 1915, I: 252.
- 29 — KOOPAL, S. A. — 1915 — *Rec. Trav. Chim. Pay-Bas* 34: 176 — *Beilst. supl.* 9: 137.
- 30 — KUHN, R. e A. WASSERMANN — 1928 — *Helv. Chim. Acta* 11: 33 — *Chem. Zent.* 1928, I: 1625.
- 31 — WASSERMANN, A. — 1930 — *Ber.* 63: 561.
- 32 — SCHIEMANN, G. e W. WINKERMULLER — 1933 — *Organic Synthesis* 13: 55 — *Chem. Zent.* 1935, I: 1367.

- 33 — GRAEBE, C. — 1893 — *Ann.* 276: 55 — Beilst. 9: 334.
34 — ORGANIC SYNTHESIS — 1941 — Coll. Vol. 1: 170.
35 — KEKULÉ, A. 1861 — *Am* 117: 157 — Beilst. 9: 334.
36 — KELLY, T. L. e H. W. HOWARD — 1932 — *J. Am. Chem. Soc.* 54: 4384.
37 — KUHN, R. e A. WASSERMANN — 1928 — *Helv. Chim. Acta* 11: 34 —
Chem. Zent. 1928, I: 1625.
38 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK e W. LEGE — 1936 — *Ber* 69: 1151.
39 — HOBBS, M. E. e A. J. WEITH Jr. — 1943 — *J. Am. Chem. Soc.* 65: 968.
40 — KELLAS, A. M. 1897 — *Zeitschr physik Chem.* 24: 221 — *Chem. Zent.*
1897, II: 1070.
41 — ATKINSON, E. R., D. H. HANSEN, A. D. Neveers e S. A. Marino —
1943 — *J. Am. Chem. Soc.* 65: 476.
42 — MONTAGNE, E. J. 1900 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 19: 50 —
Jahresber. Chem. 1900: 1145.
43 — ANDREWS, D. H., G. LYNN e J. JOHNSTON — 1926 — *J. Am. Chem.*
Soc. 48: 1282.
44 — NORRIS, J. F. e W. H. STEIN — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.* 57: 191.
45 — BORNWATER, J. TH. e A. F. HOLLEMAN — 1912 — *Rec. Trav. Chim.*
Pays-Bas 31: 223 — *Chem. Zent.* 1912, II: 915.
46 — FELS, G. — 1903 — *Z. Kryst.* 37: 485 — *Chem. Zent.* 1903, II: 550.
47 — GRAEBE, C. — 1893 — *Ann.* 276: 56 — *Chem. Zent.* 1893, II: 476.
48 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK, W. FUHST e F. HARDT — 1937 — *Ber.*
70: 1410.
49 — GODDARD, A. E. — 1923 — *J. Chem. Soc. London* 123: 1165.
50 — BIGELOW, L. A. — 1922 — *J. Am. Chem. Soc.* 44: 2015.
51 — KELLY, T. L. e H. W. HOWARD — 1932 — *J. Am. Chem. Soc.* 54: 4384.
52 — ZINCKE, TH. — 1874 — *Ber.* 7: 1502 — *Jahresber. Chem.* 1874: 632.
53 — KELLAS, A. M. — 1897 — *Zeitschr. physik. Chem.* 24: 221 — *Chem.*
Zent. 1897, II: 1070.
54 — KUHN, R. e A. WASSERMANN — 1928 — *Helv. Chim. Acta* 11: 34 —
Chem. Zent. 1928, I: 1625.
55 — NORRIS, J. F. e W. H. STEIN — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.* 57: 191.
56 — HOBBS, M. E. e A. J. WEITH Jr. — 1943 — *J. Am. Chem. Soc.* 65: 968.
57 — HOLLEMAN, A. F. e B. R. de BRYN — 1901 — *Rec. Trav. Chim.*
Pays-Bas 20: 210 — *Chem. Zent.* 1901, II: 287.
58 — RHALIS, M. — 1879 — *Ann* 198: 102 — *Chem. Zent.* 1879: 708.
59 — WACHTER, W. 1893 — *Ber.* 26: 1744 — *Chem. Zent.* 1893, II: 260.
60 — KLUG, H. P. — 1933 — *J. Am. Chem. Soc.* 55: 1430.
61 — CATTELAIN, F. — 1927 — *Bull. Soc. Chim. France* [4] 41: 1547 —
Chem. Zent. 1928, I: 683.
62 — KELLY, T. L. e H. W. HOWARD, — 1932 — *J. Am. Chem. Soc.* 54: 4384.
63 — FICHTER, FR. e P. LOTTER — 1925 — *Helv. Chim. Acta* 8: 441.
64 — LETTRÉ, H. e P. LEHMANN — 1938 — *Ber.* 71: 416.

- 65 — LETTRÉ, H. — 1940 — *Ber.* 73: 386.
- 66 — KAILAN, A. e A. IRRESBERGER — 1930 — *Monatsh Chem.* 56: 406-427 — *Chem. Zent.* 1931, I: 772.
- 67 — FIESER, L. F. “*Experiments in Organic Chemistry*” pag. 215.
- 68 — ORTHNER, L. e L. REICHEL — 1934 — “*Práticas de Química Orgânica*” trad. Hesp. pag. 147.
- 69 — ORGANIC SYNTHESIS — 1943 — *Coll. Vol.* 2: 588.
- 70 — FITTIG, R. e J. BIEBER — 1870 — *Ann.* 156: 242 — *Beilst.* 9: 462.
- 71 — SIDGWICK, W. V., W. J. SPURRELL e T. E. DAVIES — 1915 — *J. Chem. Soc. London* 107: 1208 — *Chem. Zent.* 1915, II: 1099.
- 72 — SCHERPENZEEL, L. VAN — 1901 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 20: 169 — *Chem. Zent.* 1901, II: 291.
- 73 — SALKIND, J. e A. SCHIMDT — 1914 — *Journ. russ. physical-chem. Ges.* 46: 683 — *Chem. Zent.* 1915, I: 833.
- 74 — FISHER, C. H. e M. GRANT — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.* 57: 719 — *Chem. Zent.* 1935, II: 358.
- 75 — ANDREWS, D. H., G. LYNN e J. JOHNSTON — 1926 — *J. Am. Chem. Soc.* 48: 1281.
- 76 — KELLAS, A. M. — 1897 — *Zeitschr. physik. Chem.* 24: 221 — *Chem. Zent.* 1897, II: 1070.
- 77 — JACOBSEN, O. — 1877 — *Ber.* 10: 1013.
- 78 — LETTRÉ, H. — 1940 — *Ber.* 73: 386.
- 79 — FLASCHNER, O. e I. G. RANKIN — 1910 — *Monatsh. Chem.* 31,42 — *Chem. Zent.* 1910, I: 1971.
- 80 — MARCHLEWISKI, L. e J. MAYER — *Bull. Inst. Acad. Polon-Sciences Lettres Serie A.* 1929: 169-202 — *Chem. Zent.* 1929, II: 2152.
- 81 — NORRIS, J. F. e W. H. STEIN — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.* 57: 191.
- 82 — KALLE & Co. — D. R. P. — 79.028 — *Beilst.* 9: 462.
- 83 — FRIEDLANDER, P. e H. REIDT — 1896 — *Ber.* 29: 1611.
- 84 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK, W. FUHST e F. HARDT — 1937 — *Ber.* 70: 1410.
- 85 — AUWERS, K. e W. A. ROTH — 1910 — *Ann.* 373: 245; *Beilst.* 9: supl., 186.
- 86 — CIAMICIAN, G. e P. SILBER — 1912 — *Ber.* 45: 41 — *Chem. Zent.* 1912, I: 718.
- 87 — BARBER, H. J. — 1943 — *J. Chem. Soc. London* 1943: 79.
- 88 — GATTERMANN, L. e H. WIELAND — 1941 — “*Laboratory Methods of Organic Chemistry*” p. 291.
- 89 — ARENDONK, A. M. VAN e M. E. CUPERY — 1931 — *J. Am. Chem. Soc.* 53: 3185.
- 90 — HIRZEL, G. — 1866 — *Zeitschr. physik. Chem.* 1866: 205 — *Beilst.* 9: 483.
- 91 — SIDGWICK, W. V., W. J. SPURRELL e T. E. DAVIES — 1915 — *J. Chem. Soc. London* 107: 1207 — *Chem. Zent.* 1915, II: 1099.

- 92 — BEILSTEIN, YSSEL DE SCHEPPER — 1866 — *Ann.* 137: 302 — Beilst. 9: 483.
- 93 — ALLEN, C. F. H., W. L. BALL e D. M. YOUNG — 1933 — *Canad. J. Res.* 9: 169-174 — *Chem. Zent.* 1934, I: 1480.
- 94 — KENZIE, A. M. e J. R. MYLES — 1932 — *Ber.* 65: 209-219 — *Chem. Zent.* 1932, I: 1370.
- 95 — ADOR, C. E. e J. CRAFTS. — 1877 — *Ber.* 10:2176.
- 96 — KELLAS, A. M. — 1897 — *Zeitschr physik. Chem.* 24: 222 — *Chem. Zent.* 1897; II: 1070.
- 97 — LEHMANN, L. e W. PAASCKE — 1935 — *Ber.* 68: 1068-1072 — *Chem. Zent.* 1935, II: 1169.
- 98 — SCHERPENZEEL, L. VAN — 1901 — *Rev. Trav. Chim. Pays-Bas.* 20: 156 — *Chem. Zent.* 1901, II: 290.
- 99 — MARCHLEWSKI, L. e J. MAYER — *Bull. Inst. Acad. Polon. Sciences Lettres Serie A.* 1929: 169-202 — *Chem. Zent.* 1929, II: 2152.
- 100 — KROHNKE, F. — 1933 — *Ber.* 66: 604-610 — *Chem. Zent.* 1933, I: 3197.
- 101 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK e W. Lege — 1936 — *Ber.* 69: 1151.
- 102 — FLASCHNER, O. e I. G. RANKIN — 1910 — *Monatsh Chem.* 31: 43 — *Chem. Zent.* 1910, I: 1971.
- 103 — ANDREWS, D. H., G. LYNN e J. JOHNSTON — 1926 — *J. Am. Chem. Soc.* 48: 1281.
- 104 — FISCHLE, H. 1879 — *Ber.* 12: 615 — *Jahresber, Chem.* 1879: 685 — *Chem. Zent.* 1879: 389.
- 105 — KENDALL e CARPENTER — 1906 — *J. Am. Chem. Soc.* 36: 2503.
- 106 — SUIDA, H. 1914 — *Ber.* 47: 469.
- 107 — CIAMICIAN, G. e P. SILBER — 1912 — *Ber.* 45: 40 — *Chem. Zent.* 1912, I: 718.
- 108 — LETTRÉ, H. 1940 — *Ber.* 73: 386.
- 109 — KREMANN, A., O. MAUERMANN e V OSWALD — *Chem. Zent.* 1923, II: 911.
- 110 — REISSERT, A. — 1890 — *Ber.* 23: 2244.
- 111 — JAEGER, F. M. — 1907 — *Z. Kryst.* 42: 236.
- 112 — KOPP, H. — 1855 — *Ann.* 94: 303 — Beilst. 9: 96.
- 113 — NORRIS, J. F. e W. H. STEIN — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.* 57: 191.
- 114 — KELLAS, A. M. — 1897 — *Zeitscher. physik. Chem.* 24: 222 — *Chem. Zent.* 1897, II, 1070.
- 115 — BORNWATER, J. TH. e A. F. HOLLEMAN — 1912 — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 31: 226; *Chem. Zent.* 1912, II: 915.
- 116 — ANDREWS, D. H., G. LYNN e J. JOHNSTON — 1926 — *J. Am. Chem. Soc.* 48: 1283
- 117 — BROOKS, C. S. e M. E. HOBBS — 1940 — *J. Am. Chem. Soc.* 62: 2851.
- 118 — WILSON, C. J. e H. H. WENZKE — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.* 57: 1266.
- 119 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK, W. Fuhst e F. Hardt — 1937 — *Ber.* 70: 1410.

- 120 — ROTH, e LAMPRECHT — 1938 — *Roczniki Chem.* 18: 474.
- 121 — BERNOULLI, A. e A. SARASIN — 1930 — *Helv. Chim. Acta.* 13: 525.
- 122 — KELLAS, A. M. — 1897 — *Zeitschr. physik. Chem.* 24: 223; *Chem. Zent.* 1897, II: 1070.
- 123 — HUBNER, H. — 1872 — *Ann.* 162: 74; *Jahresber. Chem.* 1872: 538.
- 124 — PILLAY, P. P. — 1935 — *J. Indian. Chem. Soc.* 12: 231-236 — *Chem. Zent.* 1935, II: 2681.
- 125 — HOFFMANN, Fr. e K. LANGBECK — 1905 — *Zeitschr. physik. Chem.* 51: 400 — *Beilst.* 10: 47
- 126 — HRYNAKOWSKI, K. e M. SZMYT — 1935 — *Ber. dtsh. pharmaz. Ges.* 273: 418-427 — *Chem. Zent.* 1935. II: 3755.
- 127 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK e W. LEGE — 1936 — *Ber.* 69: 1151.
- 128 — LETTRÉ, H. — 1940 — *Ber.* 73: 386.
- 129 — PIRIA — 1844 — *Ann.* 52: 334 — *Beilst.* 9: 47.
- 130 — BERNOULLI, A. e A. SARASIN — 1930 — *Helv. Chim. Acta.* 13: 525.
- 131 — CROCKFORD, H. D. e F. W. ZURBURG — 1930 — *Journ. russ. physical chem.*, 34: 216-26 — *Chem. Zent.* 1930, I: 1617.
- 132 — NORRIS, J. F. e W. H. STEIN — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.*, 57: 191.
- 133 — KOLBE, A. e E. LAUTEMANN — 1860 — *Ann.* 115: 202 — *Jahresber. Chem.* 1860: 292.
- 134 — WILSON, C. J. e H. H. WENZKE — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.* 57: 1266.
- 135 — REISSERT, A. — 1890 — *Ber.*, 23: 2.244.
- 136 — SAIZEW 1863 — *Ann.*, 127: 129 — *Beilst.* 10: 151.
- 137 — FISCHER, G. — 1863 — *Ann.*, 127: 147 — *Beilst.*, 10: 151.
- 138 — LOCK, G. — 1929 — *Ber.*, 62: 1177-88 — *Chem. Zent.* 1929, I: 2976.
- 139 — PFEIFFER, P. e W. LOEWE — 1937 — *J. prakt. Chem.* [2] 147: 293-310 — *Chem. Zent.* 1937, I: 3138.
- 140 — OST, H. — 1878 — *J. prakt. Chem.* [2] 17: 232 — *Beilst.* 10: 151.
- 141 — KELLY, T. L. e H. W. HOWARD — 1932 — *J. Am. Chem. Soc.* 54: 4384.
- 142 — BLICKE, F. F., F. D. SMITH e S. L. POWERS — 1932 — *J. Am. Chem. Soc.*, 54: 1468 — *Chem. Zent.* 1932, I: 3176.
- 143 — HEMMELMAYER, F. V. — 1904 — *Monatsh. Chem.*, 25: 570, — *Beilst.*, 10: 151.
- 144 — LETTRÉ, H., H. BARNEECK, W. FUHST e F. HARDT — 1937- — *Ber.*, 70: 1410.
- 145 — STOHMANN, F., C. KLEBER e H. LANGBEIN — 1889 — *J. prakt. Chem.* [2] 40: 130 — *Beilst.*, 10: 151.
- 146 — LETTRÉ, H. — 1940 — *Ber.*, 73: 1150.
- 147 — FLASCHNER, O. e I. G. RANKIN — 1910 — *Monatsh. Chem.* 31: 37 — *Chem. Zent.* 1910, I: 1971.
- 148 — FELS, G. — 1900 — *Z. Kryst.*, 32: 391 — *Chem. Zent.* 1900, I: 953.
- 149 — WALTERS — 1917 — *J. Am. Chem. Soc.*, 39: 1179.

- 150 — BELLUCI, I. e L. GRASSI — 1913 — *Gazz. Chim. Ital.* 43, II: 729 — Beilst. 10, supl.: 68.
- 151 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK e W. LEGE — 1936 — *Ber.*, 69: 1151.
- 152 — WILLSTÄTTER, R. e W. MIEG — 1915 — *Ann.*, 408: 76 — Beilst., 10, supl.: 68.
- 153 — WILSON, C. J. e H. H. WENZKE — 1935 — *J. Am. Chem. Soc.*, 57: 1266.
- 154 — KELLY, T. L. e H. W. HOWARD — 1932 — *J. Am. Chem. Soc.*, 54: 4384.
- 155 — LUNDEN, H. — 1906 — *Zeitscher physik. Chem.* 54: 537, — Beilst. 14: 311.
- 156 — FLASCHNER, O. e I. G. RANKIN — 1910 — *Monatsh. Chem.*, 31: 40 — *Chem. Zent.* 1910, I: 1971.
- 157 — ANDREWS, D. H., G. LYNN e J. JOHNSTON — 1926 — *J. Am. Chem. Soc.* 48: 1283.
- 158 — HAYDUCK — 1874 — *Ann.*, 172: 208; Beilst. 14: 311.
- 159 — MARCHLEWSKI, L. e J. MAYER — *Bull. Inst. Acad. Polon. Sciences Lettres Serie A*, 1929: 169-202 — *Chem. Zent.* 1929, II: 2152.
- 160 — HUNTER, W. H. e M. M. SPRING — 1931 — *J. Am. Chem. Soc.*, 53: 1442.
- 161 — LEWIS, W. L. e H. C. CHEETHAN — 1921 — *J. Am. Chem. Soc.*, 43: 2119.
- 162 — WILBRAND, J. e F. BEILSTEIN — 1863 — *Ann.*, 128: 265 — Beilst., 14: 419.
- 163 — WIDNMANN, E. — 1878 — *Ann.*, 193: 234 — Beilst., 14: 419.
- 164 — KELLY, T. L. e H. W. HOWARD — 1932 — *J. Am. Chem. Soc.*, 54: 4384.
- 165 — LAZZELL, C. L. e J. JOHNSTON — 1928 — *J. physical Chem.*, 32: 1331-41; *Chem. Zent.*, 1929, I: 719.
- 166 — ANDREWS, D. H., G. LYNN e J. JOHNSTON — 1926 — *J. Ann. Chem. Soc.* 48: 1282.