

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

VOL. 8 • 1948 • NUM. ÚNICO



CAIXA POSTAL, 27-A
SÃO PAULO • BRASIL

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

VOL. 8 • 1948 • NUM. ÚNICO



CAIXA POSTAL, 27-A
SÃO PAULO • BRASIL

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Fundador:

DR. J. P. DE CARVALHO LIMA
(Diretor: 1941-1948)

Diretor:

DR. LUÍS DE SALLES GOMES

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 à Revista deve ser dirigida ao Diretor do Instituto Adolfo Lutz.

DR. LUÍS DE SALLES GOMES

Avenida Dr. Arnaldo, 3

Caixa Postal, 27-A

São Paulo — Brasil

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA

VOL. 8

1948

NUMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL
CAIXA POSTAL, 27-A

SUMÁRIO

Homenagem ao Prof. Dr. José Pedro de Carvalho Lima	7
AUGUSTO DE E. TAUNAY, SYLVIO SOARES DE ALMEIDA e JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES — Sorologia da <i>Sh.</i> <i>paradysenteriae</i>	31
JOSÉ LOPES NETTO, SYLVIO SOARES DE ALMEIDA e LÚCIO PENNA DE CARVALHO LIMA — Mielograma do rato normal	41
DÉCIO DE OLIVEIRA PENNA, HASSIB ASHCAR e MURILLO R. VIOTTI — Penicilina G — Procaína: níveis sanguíneos e ação terapêutica	48
SYLVIO SOARES DE ALMEIDA, JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES e JOSÉ LOPES NETTO — Ação dos extratos de cortex suprarrenal sobre o quadro leucocitário e sobre o teor de anti- corpos do sangue periférico do coelho	78
MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA — Considerações em torno da ocorrência de ovos de helmintos da família <i>Trichostrongylidae</i> (Leiper, 1912) em fezes humanas	87
JUAN PADRON G. e J. B. FERRAZ DE MENEZES JUNIOR — Con- tribuição ao estudo e à aplicação do método de Howard nas contagens de cogumelos dos produtos de tomate	99
GERMÍNIO NAZÁRIO — Sobre alguns sistemas binários de béta deri- vados da naftalena	137
WALDOMIRO PREGNOLATTO — Sistemas binários de compostos orgânicos homólogos	168

HOMENAGEM



PROF. DR. JOSÉ PEDRO DE CARVALHÓ LIMA
1923 — 1940: Diretor do Instituto Bacteriológico de S. Paulo
1940 — 1948: Diretor do Instituto Adolfo Lutz

HOMENAGEM

AO

PROF. DR. JOSÉ PEDRO DE CARVALHO LIMA

Por decreto de 27/4/48, do Govêrno do Estado, foi aposentado a pedido, no alto cargo de Diretor do "Instituto Adolfo Lutz", o ilustre Snr. Prof. Dr. J. P. de Carvalho Lima.

Diretor do antigo "Instituto Bacteriológico" de São Paulo, desde 1923, passou o Prof. Carvalho Lima, em 1940, para a direção do novo Instituto então fundado e resultante da fusão do Bacteriológico e do Bromatológico — o "Instituto Adolfo Lutz".

Não quizeram, porém, os discípulos, colegas e amigos do Diretor recém-aposentado, que seu afastamento se efetivasse sem uma demonstração coletiva de sincero afeto e de reconhecimento aos altos méritos de administrador e de cientista, demonstrados pelo ex-diretor, nos 25 anos em que esteve à frente dos destinos do Instituto.

E, dest'arte, reuniram-se em sessão em sua homenagem, a qual realizou-se a 5 de outubro último, na sala de conferências do "Instituto Adolfo Lutz".

Presentes, entre outras autoridades, o representante do Snr. Dr. Secretário da Saúde e Assistência Social, o Snr. Dr. Diretor Geral do Departamento de Saúde e numerosos colegas, amigos e discípulos do homenageado, o Dr. Luís de Salles Gomes, atual diretor do Instituto, disse, em rápido improviso, das razões daquela encantadora festa, em que todos, em perfeita comunhão de ideias e de sentimentos, se achavam ali reunidos para prestar as homenagens a que fazia jús o ilustre diretor recém-aposentado, pelos relevantíssimos serviços que, com extrema dedicação e superior orientação científica, prestára durante mais de 30 anos, à causa de sua terra e de sua gente. Continuando, fez uma síntese das atividades científicas do homenageado, desde o seu doutoramento pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro até o momento em que se aposentava no cargo de Diretor do Instituto Adolfo Lutz, ressaltando a sua

passagem pelos laboratórios de saúde pública de Washington, Harward e Albany, nos Estados Unidos, e pelo Instituto Pasteur de Paris, que lhe serviram de base para, posteriormente, fundar em São Paulo, o notável Laboratório de Saúde Pública que é hoje o Instituto Adolfo Lutz.

Disse, ainda, da grande satisfação que sentia em passar a palavra a dois dos seus mais dedicados e destacados auxiliares — os Drs. Bruno Rangel Pestana e Alberto França Martins, os quais se refeririam, respectivamente, aos aspectos científico e administrativo da obra do ilustre Director.

Finalizando sua oração, ofereceu o novo diretor, em nome dos funcionários do Instituto, uma cesta de flores à Exma. Senhora Prof. Carvalho Lima, presente à cerimônia, solicitando-lhe a gentileza de descerrar o quadro com o retrato do seu digno esposo, quadro este que iria figurar na galeria de antigos e ilustres diretores, existente na sala da Diretoria do Instituto.

DISCURSO DO

DR. BRUNO RANGEL PESTANA

Não teria eu credenciais para vos falar se não fosse o mais velho e o mais antigo desta Casa, com uma convivência diária de trinta anos; e essas razões, por certo, me absolverão perante o vosso julgamento, do sacrifício generoso de me ouvirdes, e dos demais presentes a esta sessão, de usar de uma linguagem íntima.

LIMA:

Tive oportunidade de conhecê-lo, quando Bayma entusiasmado com a vacina de Kraus, foi por você procurado para orientá-lo na feitura da sua tese de doutoramento, cujo tema era a *Vacínoterapia da Coqueluche* — assunto de atualidade que nessa época preocupava os bacteriologistas e pediatras. Foi essa tese aprovada, com distinção, pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, onde recebeu você o título de doutor em Medicina.

No entanto não deixou de continuar os seus estudos sobre essa moléstia, apresentando em 1931 um trabalho sobre o *Diagnóstico e Vacínoterapia da Coqueluche*, na Semana do Laboratório realizada nesta Capital.

Continuando ainda os seus estudos sôbre esse mal que tanto martiriza as crianças, e que como bem salienta em seu trabalho publicado na Revista do Instituto em 1943, faz mais vítimas que o sarampo, a febre tifoide, a difteria e outras moléstias, chama a atenção para o fato de que, no entanto, pouco ou nada se tem feito pela sua profilaxia.

Estudou a vacina de Sauer e a precipitada com alumínio, segundo o processo de Harrison, Franklin e Bell.

Nesse importante trabalho, feito em colaboração com Maria Arantes, concluíram ambos que a vacina, segundo a técnica de Harrison, Franklin e Bell é a preferida não só por poder ser empregada no tratamento como também preventivamente.

Ingressando no Departamento de Saúde, como inspetor sanitário em 1919, por concurso, onde já trabalhava desde 1918, prestando serviços de profilaxia contra a ancilostomose em Tremembé, publica um trabalho ao lado de Otávio Gonzaga, com quem dá conta de suas observações e os resultados com o emprêgo de diversos tratamentos.

Relata nesse trabalho a frequência de diversos parasitas, despertando a sua atenção o gênero *Hymenolepis*, notadamente a espécie *diminuta*, que lhe parece mais frequente que o *nana*.

Continuando seus estudos sôbre o gênero *Hymenolepis*, publica um trabalho que apresentou à Sociedade de Medicina e Cirurgia, da qual é membro, sôbre a *Infestação humana pelos Hymenolepis*, onde se encontra farta contribuição pessoal não só quanto à frequência das espécies *diminuta* e *nana* como do emprêgo feito pela primeira vez do óleo de sementes de abóbora no tratamento do mal produzido por esse parasita.

Inclina-se para o estudo dos protozoários, fazendo um curso de especialização no Instituto Oswaldo Cruz, sob a direção do mestre ilustre Henrique Aragão.

Em 1919, é nomeado assistente efetivo do Instituto Bacteriológico, onde retoma os seus estudos sôbre bacteriologia, assunto para o qual já vinha mostrando preferência desde os bancos acadêmicos, pois trabalhara com Bruno Lobo, como auxiliar acadêmico da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro.

Logo de início no Instituto Bacteriológico, fazendo estudos para identificação de um paratifo B, isolado da água do Colégio São Joaquim, de Lorena, onde ocorria um surto, apanha você a infecção paratífica.

Retornando ao serviço em 1921 publica um trabalho sôbre a reação de ouro coloidal, para exame do líquido céfalo-raquidiano (reação de Lange).

Preocupou-se com as *endocardites lentas, malignas*, consideradas por Schottmüller como o tipo mais comum de endocardites infectuosas.

Foram feitos entre nós diagnósticos clínicos, porém nunca se obtinha a confirmação do laboratório. Voltando dos Estados Unidos e adotando as técnicas por eles usadas lá, conseguiu você isolar e identificar pela hemocultura de doentes o "*Streptococcus viridans*". Esse trabalho apresentado à Sociedade de Medicina de S. Paulo em 1926, mereceu elogios, tendo mesmo o Prof. Almeida Prado dito que era um "trabalho valioso pelo fato de pela primeira vez entre nós, ter-se conseguido isolar o "*Streptococcus viridans*" obtido de hemocultura, tendo ainda o valor de focalizar a questão da endocardite chamada maligna, familiarizando os clínicos com o conhecimento desta entidade mórbida".

Continuando os seus estudos sôbre esse mal, apresenta um trabalho na 4.^a Conferência Sul Americana de Microbiologia, em 1929, onde estuda o *Streptococcus viridans* e dá a técnica para a hemocultura.

Estuda os bacilos disentéricos e verifica que o *Bacilo ambigua* (Bacilo de Schmitz) fermenta a ramnose e produz H₂S, enquanto que essas provas são negativas para o bacilo Shiga. Publica com Lúcia Q. Telles, trabalhos a respeito nos Anais Paulista de Medicina e Cirurgia e na Revista do Instituto "Adolfo Lutz".

Isola das fezes de doentes do tifo exantemático uma raça de *Proteus* aglutinada fortemente pelos sôros dos doentes, a qual enviada a Felix, verificou esse cientista ser o tipo *Proteus* que corresponde antigenicamente ao tipo de São Paulo e lhe dá a denominação de *Proteus XL* (raça Lima) em sua homenagem.

Publicou ainda outros trabalhos sobre as *Meningites Bacterianas* de São Paulo; a *Espermocultura*; *Dosagem de Antitoxina in vitro*; a *Vacina anti-tífica*; *Cultura de Lepra*, com Maria Arantes; *Vírus da Paralisia infantil*, *Soro aglutinação da Febre Tifoide*; *Demonstração de cápsulas bacteriais*, com Lúcia de Q. Telles, e sobre o emprêgo do Liquoid na hemocultura, o qual veio melhorar bastante a técnica das hemoculturas, principalmente para os *Streptococcus*.

Nomeado professor catedrático de Microbiologia da Faculdade de Farmácia de S. Paulo, em 1932, compreendeu logo a necessidade da publicação de um tratado, onde os seus discípulos pudessem aprender as lições do mestre.

Em 1933 publica então a 1.^a edição do Tratado de Bacteriologia, o qual já está na 4.^a edição, bem melhorada e acompanhando o progresso científico.

Essa importante obra contém literatura estrangeira e a nacional não esquecida, facilitando assim aos estudiosos o seu conhecimento.

Há também uma parte que deve ser apreciada — a da história da microbiologia no Brasil, onde você salienta a ação de Lutz e da sua escola, no Instituto Bacteriológico de São Paulo, a qual foi a primeira criada no Brasil.

Em consequência dos dispositivos da Constituição de 1937, renuncia o elevado cargo do professor catedrático da Universidade, preferindo a diretoria do Instituto Adolfo Lutz, dando assim uma demonstração pública de sua dedicação a este Instituto.

Em outubro de 1922 foi nomeado diretor em comissão do Instituto Bacteriológico, sendo efetivado em março de 1923.

Bem precária era a situação do nosso Instituto, pois sem casa, material, biblioteca e pessoal, como bem dizia você em seu primeiro relatório, eramos somente dois para todos os trabalhos.

Dias depois da sua nomeação foi comissionado para ir aos Estados Unidos, a fim de estudar a organização dos Laboratórios estrangeiros, com o fim de vir organizar o Laboratório Central do Serviço Sanitário. Em trabalho apresentado ao Primeiro Congresso Brasileiro de Higiene, em 1923, achava o então diretor do Serviço Sanitário, que fazendo-se a reunião do Instituto Bacteriológico e do Laboratório de Análises, criando-se o Laboratório Central, "contribuir-se-ia deste modo para que fácil se tornasse entre nós a fundação de um grande centro médico sanitário".

Estagiou na Universidade de Harward, no Laboratório do Estado de Nova York, no Laboratório de Higiene de Washington, Universidade da Pensilvânia, Instituto Pasteur de Paris e Laboratórios da Alemanha.

Regressando em agosto de 1924, encontrou o ambiente modificado e não quiz você concordar com a reforma planejada pelo diretor do Serviço Sanitário, que o havia enviado ao estrangeiro,

na qual se fechava o Instituto Bacteriológico, transformando-o em um posto bacteriológico do Instituto Butantã.

Feita a reforma pelo decreto 3.876, de 1925, foi o Instituto Bacteriológico transformado em posto do Instituto Butantã e o Laboratório de Análises Químicas e Bromatológica do Estado anexado à Inspetoria do Policiamento da Alimentação Pública, mudando assim o diretor do Serviço Sanitário a orientação que havia planejado em 1923. Por esse decreto foi você adido à Diretoria Geral do Serviço Sanitário.

Nessa ocasião a biblioteca do Instituto Bacteriológico foi dispersada; o seu material precioso, coleções de peças anatômicas de doentes de febre amarela e de outras moléstias, estudadas por Lutz e seus discípulos, bem como a coleção de insetos que era ali guardada com carinho, foi perdida. E se o mesmo não aconteceu ao seu arquivo, foi porque você o guardou com carinho.

Não desanimamos e tínhamos a esperança que tal situação não poderia continuar, pois graves eram os prejuízos para a saúde pública com a desorganização dos seus serviços. Por isso, em 1928, quando então diretor do Serviço Sanitário Waldomiro de Oliveira, voltou o Instituto a funcionar no velho prédio ao lado do Hospital de Isolamento, aumentando-se o seu pessoal e suas instalações, dando-se material e fazendo voltar à sua preciosa biblioteca, a qual pudemos refazer reunindo os livros esparsos nos diversos Institutos que os haviam recebido.

Debaixo de sua orientação, com os conhecimentos que você adquiriu no estrangeiro e com novas técnicas, começamos a trabalhar e já nesse ano o número de exames ascendia a 40.000.

Já não satisfazia porém, o prédio, não só porque o seu pessoal fôra aumentado, como pelo estado precário em que se encontrava, tornando-se necessária a construção de um edifício, digno do progresso do Estado de São Paulo.

Em 1934 deu-se início à construção de um prédio, devido às suas insistentes reclamações, o qual não logrou ir adiante. Pouco depois de ter sido iniciada a sua construção foi ele demolido para dar lugar a um novo jardim.

As esperanças não se desfizeram e continuamos a trabalhar. Por indicação de Calazans, nomeou o Governo de então, uma comissão para estudar o plano de reorganização dos Laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo.

Essa comissão, de que você fez parte com Pascale e Rossetti, depois de estudar a organização dos Laboratórios, propôs a criação do Laboratório Central de Saúde Pública.

Essa ideia da reunião dos Laboratórios, já lembrada por Ficker, Borges Vieira, Calazans, Salles Gomes e outros, tornou-se realidade no governo do dr. Cardoso de Mello Neto, o qual autorizou a construção do edifício.

Estudou-se a planta e começou-se a construção, mas, nova tentativa para sua destruição foi feita quando o edifício se achava na fase de concreto armado. Quizeram paralizar sua construção, alegando a necessidade de alí passar uma avenida de acesso ao Hospital das Clínicas.

Assumindo a interventoria de São Paulo o Dr. Adhemar de Barros, não permitiu que se consumasse o fato, determinando ele que continuasse a construção do edifício fazendo melhoramentos, tornando assim um prédio digno de São Paulo.

A planta que havia sido idealizada com os seus companheiros, foi executada, acompanhando você com carinho, tôdas as fases da construção e da sua instalação, para que nada faltasse.

Em 27 de outubro de 1940, vimos a realização do ideal, com que tanto sonhávamos, a criação do Laboratório Central de Saúde Pública, em seu edifício magestoso e sua organização efetuada pelo decreto 11.522, o qual creou o Instituto "Adolfo Lutz", sendo interventor Adhemar de Barros, Secretário Mário Lins e Diretor do Departamento de Saúde, Humberto Pascale.

Foi dada a chefia a você e outro não poderia ser o escolhido, pois para ser chefe como diz Nicolle em suas lições dadas no Colégio de França, é preciso que uma só consideração deva intervir: o interêsse do estabelecimento. E este interêsse é inseparável daquele da ciência.

Em um instituto científico há um programa a ser executado e esse só pode ser realizado por um chefe escolhido entre os que trabalham no estabelecimento, pois torna-se necessário que conviva com o seu pessoal para que ele adquira as qualidades de chefe: ciência, administração e prestígio.

Não se trata de um cargo de confiança ou cuja experiência se adquire em pouco tempo, porque como bem salienta Nicolle: "nunca deverá ele se emiscuir públicamente nas lutas políticas e sociais".

Educado na escola de Lutz só os seus discípulos poderiam continuar a sua obra, transmitindo aos mais novos, o acervo científico que receberam de seus mestres.

A orientação seguida na escolha de seus diretores e a sua efetividade foram por certo o motivo de, durante 50 anos, apesar de passarem pelo Instituto diversos diretores, todos discípulos desta Casa, terem sempre mantido a mesma orientação científica e administrativa traçada pelos seus fundadores. Não descuidou o Instituto dos problemas referentes à saúde pública e estudos foram feitos sobre febre tifoide, meningite cérebro-espinhal, difteria, lepra, tuberculose, leishmaniose, febre amarela, tifo exantemático, coqueluche, sífilis, rinoscleroma, amebiose, disenteria, moléstia de Weil, brucelose e outras moléstias que foram estudadas pelos seus assistentes. Numerosos exames foram executados pelo pessoal dirigido por você, estando sempre atentos, trabalhando a qualquer hora do dia ou da noite para que pudesse ser feito com presteza o diagnóstico e consequentemente o tratamento dos doentes do Hospital de Isolamento e, de pronto, tomadas as medidas pelos diversos serviços do Departamento de Saúde.

Os sete números da nossa revista trazem 123 trabalhos sobre diferentes assuntos além das publicações feitas em outras revistas e apresentadas a congressos científicos.

Já falou o amigo impertinente, porém leal, companheiro de lutas, de convívio em dias alegres e tristes, mas sempre sonhando pelo mesmo ideal — o Laboratório Central de Saúde Pública, concretizado em grande parte por você no Instituto "Adolfo Lutz".

Quero aqui consignar os meus agradecimentos ao apoio que sempre me deu para que pudesse desempenhar as minhas funções de chefe da Subdivisão de Bromatologia e Química.

Não podia o chefe desta Subdivisão deixar de dizer hoje que aqui estamos reunidos para lhe prestar as nossas homenagens, o quanto essa Subdivisão lhe deve e se alguma coisa de bom foi feito, grande parte foi devido à sua ação, facilitando todos os meios para que nada faltasse àqueles que nos auxiliam.

Creado o Laboratório Central de Saúde Pública, o Instituto Adolfo Lutz, com a reunião do Instituto Bacteriológico e do Laboratório da Análises, recebeu deste o material e pessoal que formaram a Subdivisão de Bromatologia e Química.

Como dissemos em nosso relatório de 1940, esse material além de ser bem deficiente era na sua grande maioria antigo, velho e defeituoso, não permitindo que fossem iniciados os nossos trabalhos.

Devido à sua valiosa ação, rápida e pronta, autorizando o concerto do material aproveitável, a compra de aparelhos modernos, vidrarias, drogas e tudo que se tornava necessário, pudemos começar a fazer as análises prévias e fiscais.

Estudaram-se métodos mais rigorosos e de acôrdo com o progresso da ciência. O primeiro volume do livro de técnicas, contendo os exames físicos e químicos da Secção de Bromatologia já se acha em impressão e logo deverá ser distribuído, trabalho esse que devemos a você.

As nossas técnicas já vão sendo adotadas pelos Laboratórios Oficiais, sendo mesmo oficializada pelo Govêrno Federal a que se refere à dosagem de taninos em vinhos.

Temos colaborado na confecção de leis sôbre bebidas e gêneros alimentícios, tendo você presidido a Comissão que fez o regulamento, aprovado pelo decreto-lei 15.642 de 9/2/46.

Essa colaboração foi dada também pelos técnicos do Instituto, no que diz respeito à regulamentação dos artigos de cirurgia (algodão, gaze e catgut) e na parte referente a sôros.

Dentre o pessoal vindo do antigo laboratório contávamos com gente competente que queria trabalhar. Aumentou-se o quadro com novos químicos, biólogos e técnicos e dando todos os elementos de trabalho, coisa que você nunca regateou, começou-se a produzir, e o número de nossos exames e as publicações feitas atestam o que afirmamos.

Reorganizou você a nossa biblioteca, enriquecendo-a com revistas e livros especializados, pois sabia que sem esses elementos não poderíamos progredir.

A nossa revista e as reuniões científicas criadas e mantidas, graças à sua tenacidade, demonstram o interesse dos que trabalham nesta Casa, pela ciência. Não se pode compreender a ciência pura divorciada da prática, pois uma completa a outra.

É com prazer que podemos dizer que a Subdivisão de Bromatologia e Química, durante os sete anos de sua administração, publicou quasi uma centena de trabalhos. Cincoenta e dois publicados na nossa revista e trinta e quatro apresentados à Congressos Científicos.

Foram creados os Laboratórios Regionais, fazendo você tudo para que eles ficassem bem aparelhados. Estão funcionando os de Campinas, Ribeirão Preto e Santos, sendo que este em prédio próprio. Controem-se os edifícios de Guaratinguetá e Taubaté e assim vai se estendendo a ação do Instituto por todo o Estado.

Conseguiu você manter nesta Casa o mesmo ambiente de cordialidade e simplicidade de sempre e que é uma de suas tradições. Aquí trabalham médicos, farmaceuticos, químicos, engenheiros, veterinários, dentistas e diplomados pela Faculdade de Filosofia, pois na reforma que criou o Instituto trabalhou você para que fossem instituidas as carreiras de biologists, e químicos, somente exigindo-se o diploma de curso superior para os químicos e biologists e o de curso secundário, para a carreira de técnicos de laboratório.

O ambiente nesta Casa é o mesmo que o do Instituto Biológico que, como bem diz o Professor Rocha Lima: "consegue-se apagar bastante as diferenças de estima entre as atividades de pesquisa e o trabalho técnico da aplicação, assim como também entre os diplomas profissionais de diversas proveniências e várias faculdades, dos quais absolutamente não dependem a capacidade, a produtividade, a dedicação e o valor, enfim, do indivíduo como elemento de trabalho do Instituto".

Aquí também você fez uma escola, pois como diz ainda o ilustre mestre e prof. Rocha Lima: "no campo da ciência, fazer escola não é dar aulas ou ensinar técnica, mas sim transmitir aos mais novos, sobretudo pelo exemplo em longo convívio no trabalho, ao lado dos conhecimentos e da experiência, os princípios da ética, as exigências de rigor, a maneira de pensar, estudar, criticar, utilizar as fontes e de formular perguntas à natureza, planejando, de acôrdo com o material e as possibilidades de trabalho, as experiências e observações capazes de dar a estas perguntas uma resposta útil".

Continuou você nesta Casa a escola de Lutz ampliada por Ficker e Bayma em todos os ramos da Saúde Pública, pois defender a saúde do povo não é só combater epidemias e endemias, é também zelar pela fiscalização dos meios empregados em sua defêsa como as vacinas, os sôros, medicamentos e alimentos. Não é só necessário ensinarmos o nosso povo a saber se alimentar, é também importante zelar pela qualidade do alimento que é consumido. E este tem sido o lema desta Casa.

Não devemos nos limitar à repressão da fraude, mas também educar, pois as más condições sanitárias do alimento poderão produzir surtos epidêmicos. A criação da Secção de Controles Biológicos já vem demonstrando os seus resultados não só quanto ao controle de medicamentos, artigos cirúrgicos, como de alimentos e bebidas.

Quando foram feitas as primeiras publicações dos resultados dos exames de medicamentos foi feita uma campanha contra o Instituto. Exames de contra-prova foram então requeridos, mas todos eles foram favoráveis a nós como atestam as atas que figuram no nosso primeiro livro já encerrado, sendo este o melhor documento de como se trabalha nesta Casa e do seu rigor científico.

Os resultados já se vão fazendo sentir e os novos exames demonstram os resultados colhidos nas técnicas do preparo de catgut, sôros, vacinas, vitaminas e especialidades farmaceuticas.

Criticaram os nossos exames bacteriológicos de alimentos, porque demonstravam eles as más condições sanitárias em que eram preparados diversos produtos alimentícios. Não tardou, no entanto, que fossem eles confirmados pela inspecção de algumas fábricas, como havíamos sugerido, tendo-se verificado quão precárias eram as condições sanitárias da grande maioria das organizações, onde se fabricavam os alimentos.

Não tem faltado quem critique a organização do Instituto Adolfo Lutz, não havendo para isso no entanto fundamentos, quer de ordem administrativa, quer científica. Essa organização foi defendida por você em trabalho apresentado ao Congresso Brasileiro dos Problemas Médicos-Sociais de Após Guerra, realizado na Baía, em 1945, tendo sido aprovado e recomendado pelo mesmo Congresso a fim de ser adotado pelo Governo Federal.

E porque, em função de seu cargo de diretor, defendeu você o nome científico do Instituto de uma acusação pública, moveram-lhe campanha pessoal. Mas a justiça não tardou em demonstrar que quem estava com a razão era você e que outro não podia ser o seu procedimento como diretor, na defesa do precioso patrimônio científico desta Casa, cuja guarda lhe foi confiada. Devotou você ao engrandecimento e progresso do Instituto toda a sua fé e bem sei quanto isso custou de sacrifícios, fadigas, contrariedades e abnegação, mas quando o resultado é alcançado a satisfação íntima é a melhor e maior paga que se recebe do dever cumprido.

Diversas Comissões foram a você confiadas, cumprindo destacar a chefia dos serviços de Laboratórios de Saúde Pública e a diretoria do Departamento de Saúde do Estado.

Tem pois você o direito do descanso da burocracia administrativa que a lei lhe concede, porém bem moço ainda, esperamos que continue a trabalhar nesta Casa, presidindo as nossas reuniões e ajudando a enriquecer o seu patrimônio científico, agora sob a guarda de Luís de Salles Gomes, indicado naturalmente para a sua substituição e auxiliado por essa gente moça que aqui trabalha com amor e entusiasmo, seguindo o exemplo de seus antecessores que não esmorecem para não desmerecer da confiança do povo, cuja saúde tem por obrigação defender e para renome cada vez maior do Instituto "Adolfo Lutz".

DISCURSO DO DR. A. FRANCIA MARTINS

Dr. Carvalho Lima:

Trago-vos hoje aqui o abraço de amizade dessa pleiade de amigos e colaboradores, numa justa homenagem aos atributos especiais de vosso coração, e às qualidades intrínsecas de vosso espírito, temperado no caminho da honestidade e de probidade.

Todos nós somos submetidos à inexorabilidade das leis biológicas que regem os destinos da sociedade.

Estamos sentindo agora, mais de perto, as conseqüências dessas leis gerais, leis que nos fazem meditar sobre a própria evolução da Humanidade, e que trazem no seu conceito, o espírito de renovação e de aperfeiçoamento, tão necessários para aproximar o homem do papel ideal que lhe foi destinado no mundo.

O princípio filosófico de que os vivos são cada vez mais conduzidos pelos mortos, merece ponderado respeito de todos que prezam a universalidade dos direitos humanos e encaram sua própria vida, como um elo na cadeia interminável das conquistas da ciência, para o bem do futuro coletivo.

Não fosse o espírito predominantemente altruista do indivíduo a sua razão de ser no meio em que vive, jamais teríamos alcançado o conforto e o bem estar que hoje usufruimos, não para o enriquecimento material, mas para o conforto do próprio homem, no sentido tão bem exposto por Carrel.

Que é a vida mais do que a oscilação contínua entre a contemplação e a ação dos fenomenos naturais?

A responsabilidade do homem para com os seus semelhantes, foge à sua própria vontade para ser condição obrigatória, dever inalienável, parte integrante da moral e de sua constituição espiritual.

Cada um pode ter sua maneira particular de pensar e agir, mas acima da sua forma de apreender e de proceder, está o interesse social e coletivo, que sobrepõe-se a tudo e sobre tudo.

A sociedade moderna, as condições atuais da civilização, impõe a comunhão de ações para conduzir os povos a uma vida mais amena.

Assim nos ensina a trajetória seguida pelo homem na evolução da Humanidade.

Constituindo família, formando agrupamentos, criando sociedades, sentiu o homem, desde os primórdios de sua existência, a necessidade do trabalho coletivo, onde os pendores altruísticos devem se sobrepor, como condição precípua, aos sentimentos egoístas.

Presenciamos neste momento, a luta desses fatores egoístas, e o mundo se agita na eminência de nova convulsão, para a satisfação de interesses subalternos.

Esquece-se os deveres e as responsabilidades comesinhas com que se deve dirigir os destinos dos povos. Aqui, também, se deve respeitar o direito alheio, também se deve contribuir para a felicidade e o bem estar de todos, esquecendo-se que existem raças, mas, lembrando-se que os seus componentes se nivelam, como membros da mesma família universal.

São efemerias as atitudes individualistas, não deixam raizes, e a posteridade na sua historia pregressa, destaca-as, apontando-as como exemplos que contribuíram para o retrocesso de uma época.

A historia do homem é um resumo rápido da historia da própria Humanidade. As fases de sua vida, representam também as fases pelas quais passou a civilização, fetichista no começo, metafísica no meio e positiva na época moderna.

Sem o querer, ou melhor, sem o julgar, o homem moderno estuda os fenomenos e as leis que regem suas variações, num entrosamento necessário à consecução de um fim, sem a preocupação inútil do desvendamento da causa primeira.

No seu caminho, encontra escolhos, muitas vezes, não de pequena monta, mas vence-os, e quando não o consegue, relega para a posteridade esse arduo trabalho, que só o acúmulo dos conhecimentos pode resolver.

Há-os também, que fraquejam a meio, jogando para o impossível e o sobrenatural, a sua própria falha de preparo.

Também aí a historia do homem explica a da Humanidade. Não temos ainda povos que tateiam no escuro, como nas eras primitivas? É para eles, como se o mundo tivesse nascido há pouco.

Eis o papel do homem no meio civilizado. Sua formação pura de intellecto, depende de sua constituição cerebral, dos exemplos que seguiu, das conquistas espirituais que pode aperfeiçoar, contribuindo dessa forma, para o cumprimento do mister que lhe foi destinado.

Foi dessa maneira que dirigistes vossa vida, meu caro amigo Carvalho Lima.

Permiti-me que assim vos trate, pois a singeleza da frase íntima, nada mais representa que a cristalização de profundo respeito.

Quizeram os fados, que eu tivesse a ventura de partilhar convosco no último decênio de vossas atividades públicas.

Lembro-me bem da primeira vez que nos encontrámos. O ambiente, era o vosso antigo laboratório à Rua do Arouche. Vinha eu da honesta Inspeção do Leite buscar luzes no vasto cabedal técnico que possuíeis.

Depois, ingressei para o tradicional Instituto Bacteriológico, cujo prédio velho inspirava respeito pelos trabalhos que ali se realizaram e pelos sábios que por ali passaram.

Tive a sensação da magnitude das responsabilidades que todos ali labutavam, sentiam para o cumprimento do seu dever. Era a tradição honesta e construtiva que influenciava as gerações novas, sem fugir ao determinismo das cousas.

Ereis vós, era um Luís de Salles Gomes, um Bruno Rangel Pestana, um Joaquim Pires Fleury, um João Montenegro, um Augusto Taunay e uma pleiade de auxiliares cômicos de seu trabalho.

A disciplina era imposta de maneira singela, todos, dentro-dela, sentiam-se bem, pois de vossa pessoa vinha o exemplo, a emanar como um fluido tenue, o sentido correto do cumprimento do dever.

É bem verdade que o Instituto Bacteriológico possuía uma tradição. Seu prestígio científico, vinha de longa data, de Le Dantec, de Lutz e de tantos outros. Convosco, não houve solução de continuidade e o pesado encargo que recebestes, foi prolificamente engrandecido e tornado inestimável.

Quando da vossa viagem à America do Norte e à Europa, pudestes aprimorar o plano de organização do laboratório de saúde pública, observando lá o que de melhor se fazia, para adaptar às nossas condições de trabalho.

A viagem foi sobremaneira proveitosa e dela nasceu a célula, que logo se multiplicou, do vosso estupendo e didático compendio de Bacteriologia.

Mas, aguardava uma surpresa ao vosso retorno, surpresa decorrente dum vício de administração que jamais se conseguiu cicatrizar no Brasil — a discontinuidade dos programas administrativos.

Extinguira-se o Instituto Bacteriológico e seu acervo passou a integrar secções de outras repartições.

Imutável e coerente com o ponto de vista técnico, aguardastes no ostracismo o reconhecimento do erro, e pouco depois, novamente se reorganizava o Instituto que tantos serviços prestara à São Paulo.

As vicissitudes ainda mais aguçaram o vosso ideal, até que um dia ele veio a concretizar-se, sob a proteção do nome respeitável que encima o pórtico deste monumento — Adolfo Lutz.

A instalação do novo Instituto, foi um acontecimento na vida sanitária de São Paulo. Estavamos em plena primavera, nos campos verdejantes, umedecidos pelas chuvas esparsas, refloresciam as plantas e os arbustos, numa apoteose espontânea à obra que ressurgia como fruto sazonado da verdadeira concepção do dever.

Dissestes, então, ao falar na manhã ensolarada do dia 26 de outubro de 1940: “Assistis a uma inauguração, eu, à realização de um sonho. Sonho acalentado há anos, desde o meu ingresso no Instituto Bacteriológico de São Paulo, o tradicional estabelecimento científico organizado por Felix Le Dantec e onde Adolfo Lutz fundou a primeira Escola de Medicina Experimental do Brasil. Sonho que entre esperanças e desilusões, muito mais desilusões que esperanças, vejo finalmente realizado”.

Bastava essa frase para dizer da emoção que dominava vossa alma. Ela exprimia, não a vaidade de uma realização, mas o sentimento sincero daqueles que fazem da vida a razão de ser da prática do bem.

Nesse dia, nascera uma nova casa para o serviço de todos, mas aumentaram de forma exponencial, as vossas responsabilidades.

Pouco se vos importava que os momentos de repouso fossem substituídos por noites de vigília. "Sou caboclo", dizíeis vós, "e cabocio de Mocóca!"

O ideal que se contempla no horizonte do pensamento, tal qual o cimo de um monte dourado pela luz chamejante do sol que vai morrendo no crepúsculo luxuriante da tarde, não é fácil de se atingir. Alcançado o espigão, o caminhar por sobre as escarpadas, é árdua tarefa que só aos fortes é dado vencer. De cada lado, lá está o abismo a atrair sob as menores vacilações. Não faltam vozes a ecoar pelos reconcavos das serras, numa atração perene ao retrocesso e à queda.

Só atingem a méta, incolume, os espíritos privilegiados, como a lenda dos contos que na infância embalam nossos ouvidos.

E, chegastes, de cabeça erguida, mãos sangrantes, e corpo exausto, mas de consciência tranquila e coração transbordante de alegria.

Aí está a obra imortal da qual fostes o arquiteto incomparável. As linhas sóbrias do gotico clássico, enfeicham no seu bojo uma história de técnica e de dever.

Encimando o edifício soberbo, logo abaixo da bandeira que exprime as cores e os ideais supremos de nossa Pátria, há um lema simbólico, que lá escrevestes, que é a continuação da tradição desse Departamento de Saúde — honra, trabalho e sobretudo, honestidade.

Tive, meu caríssimo Carvalho Lima, a suprema ventura de vos acompanhar nas diferentes fases dessa construção. Senti de perto a pujança de vossos gestos e a sinceridade de vossas ações.

Também na Diretoria Geral do Departamento de Saúde, vosso espírito de administrador, pode transparecer cristalino, na orientação que tomastes então. Incansável e persistente no vosso método de trabalho, jamais vi sobre vossa mesa pilhas de processos a aguardarem estudo. Dentro dum horário que seguíeis à risca, atendíeis a todos que a serviço buscavam vossa atenção.

Sob os esclarecimentos e os esforços de vossa gestão, empolgou-se o Governo com o plano de reorganização dos serviços de Tuberculose, e aí está a lei que servirá de base a uma ampla campanha sanitária, quer dentro do ponto de vista estático, criando leitos para albergar doentes, ou do ponto de vista dinâmico, no sentido moderno das organizações ambulatoriais.

Esse serviço levará consigo, indelével, gravado em letras de ouro, o nome de Carvalho Lima.

No II Congresso Brasileiro de Problemas Médico-Sociais de Após-Guerra, realizado em Salvador, divulgastes, com aprovação geral, o plano de estudos sobre laboratórios de saúde pública. Nele, estudastes desde as vantagens do órgão central até as suas ramificações regionais, não esquecendo de indicar a constituição dos quadros e sua estruturação técnica.

As sessões plenárias, sentiram de perto a disciplina imposta por vossas presidências, e obedecendo à vossa formação de espírito, impedistes sempre as transgressões regimentais.

As Jornadas Bromatológicas sentiram o protesto de vossa parte, quando pessoas menos avisadas, tentaram deturpar sua finalidade científica, para misturar comércio com saúde pública.

Pelo rápido retrospecto que acabo de fazer, depreende-se desde logo as teses que sempre defendestes nos domínios dos serviços públicos.

Possuidor de renome e prestígio inabalável, podíeis gosar desse privilégio para ampliar exclusivamente vossos interesses particulares. Mas, estes, sempre estiveram em segundo plano, graças à vossa formação moral e ao sentido elevado de concepção do dever público que possuíeis.

Tão longe foi essa concepção, que em defeza do patrimonio público, vos sentistes envolvido de maneira insidiosa. Longe estavam aqueles de imaginar o valor de um patrimonio adquirido a custa de trabalho honesto e reto.

E arrostastes com as consequências dessa atitude límpida, só, isolado, abandonado a si próprio, acusado de um crime que era, em última análise, a revolta em pról da honra e da defeza da moral pública.

Acompanhei de perto essa ação resultante do cumprimento do dever. Si trabalho provocou, teve o fim próprio dos julga-

mentos justos, e vosso espírito de integridade incontestado, mais ainda se purificou, firmando à luz meridiana, a retidão de conduta pela qual sempre pautastes vossa vida.

Não poderia um programa idealizado na mais pura concepção da técnica, deixar de sofrer investidas demolidoras. Mas, a luta, si constante, era compensadora e confortante, e aí estão hoje os benefícios a gritarem bem alto num alardeamento de resultados que só o tempo virá reconhecer.

É da luta que nasce o aperfeiçoamento. A vida rotineira, sem sacrifícios, que se locomove pachorrentamente, tal qual o ritmo cadenciado da música de Ravel, perde na obscuridade o seu estímulo de conquistas e reivindicações.

Agora, recebeis o repouso merecido. Vossa saúde, embora forte, foi abalada várias vezes, por infecções adquiridas em serviço. É o sacrifício próprio das profissões altruístas e que tem roubado aos vivos, personalidades que se imolaram na luta pelo desvendamento dos segredos da natureza.

Há muito vinheis proclamando o desejo desse repouso, mas o dever vos impedia de dispor de vossa própria vontade.

Os carinhos da família, o desvelo de uma esposa exemplar que vos acompanhou nos momentos de ventura e sofreu convosco as horas de amargura, solicitavam, como de justiça, a posse integral do seu chefe.

Ei-lo aí, minha senhora, todo devotado aos seus afazeres domésticos, mas, agora, de coração enternecido e satisfeito, por ter realizado uma obra imorredoura, que por si só concretiza a realização de um ideal.

Nós, amigos, relutamos egoisticamente por esse gesto. Hoje, o fato está consumado, inapelavelmente decidido, decretado e muito bem cimentado, e ainda mais, calcado num direito constitucional que vos assiste, como que querendo responder com isso aos companheiros de labuta: "é tarde, senhores, já entrei para a galeria dos retratos da sala da Diretoria, resta-me apenas desejar-vos boa sorte!"

Mas, não vos despedis desta casa, aqui sempre encontrareis o vosso canto e todos precisam de vossas luzes para elevar bem alto, e cada vez mais, o arcabouço que erigistes.

Aquela manhã ensolarada, jamais terá uma tarde, ela se perpetuará solenemente nas atividades crescentes dos serviços, ela fará, também, vibrar em cada pessoa as cordas sensíveis do espírito, e a vibração ressoará como uma chamada constante ao dever.

A austeridade de vosso semblante permanecerá inesquecível em nossas retinas e esta sala, que tanta ciência ouviu, guardará o lirismo desta homenagem como guardou o entusiasmo daquela manhã.

E esse abraço amigo, singelo e comovente, é o simbolo da amizade com a qual revestireis vosso coração, já tão engalanado das glórias que a vida vos conferiu.

* * *

Usou a seguir da palavra, em nome do Departamento de Saúde do Estado, o Dr. Maragliano Jr. que, em vibrante improviso, recordou a ação do homenageado à frente do Departamento durante quasi dois anos.

DISCURSO DE AGRADECIMENTO DO PROF. DR. J. P. DE CARVALHO LIMA

Quizestes, meus amigos, homenagear o diretor aposentado, aqui estou, profundamente sensibilizado e sem saber como agradecer. Ouvistes, entretanto, as palavras de Luís de Salles Gomes, Bruno Rangel Pestana, Frância Martins e Maragliano Jr. Diante dessas palavras, de excepcional bondade, fruto, não há dúvida, da nossa longa amizade, terei que volver a trinta anos atrás e recordar fatos, alguns apenas, da minha vida no Instituto e daí aquilatar o motivo desta manifestação de apreço e as razões de tão grande e carinhosa homenagem.

Defendi, em fins de 1917, minha tese de doutoramento, elaborada sob a orientação segura e amiga de Teodoro Bayma, diretor do antigo Instituto Bacteriológico de São Paulo, tradicional estabelecimento fundado por Felix Le Dantec e engrandecido pelo inconfundível saber de Adolfo Lutz. Nada mais razoável que eu desejasse e viesse a fazer parte do corpo de assistentes do Instituto. Infelizmente, quando isso aconteceu, quando essa imensa ventura

me foi concedida, Bayma já não vivia, tombado honrosamente no cumprimento do dever, dirigindo um Hospital na epidemia de gripe de 1918.

Eramos poucos, no Instituto, por esse tempo — o diretor Antonio de Ulhôa Cintra, Bruno Rangel Pestana, Calazans e eu. Um escriturário, Saverio o zelador, que vinha do tempo de Lutz, dois auxiliares de Laboratório, um preparador e dois serventes. Duas prateleiras formavam o que se chama almoxarifado. Oito cortos apenas, para gastar! Para aquela pequena família chegava. Trabalhava-se muito. Publicava-se. Zelava-se pelo prestígio da casa. A hora do café era aguardada com ansiedade. Aquela salinha, de poucos metros quadrados, engrandecia-se numa agremiação científica — Adolfo Lindenberg e Alexandrino Pedroso eram companheiros de todos os dias. José Augusto Arantes e José de Toledo Piza vinham sempre. Apareciam colegas do Butantan, e, não raro, os de Manguinhos. Engenheiros, professores da Faculdade de Medicina, sanitaristas e muitos outros. De quando em vez, honrava-nos a presença do grande Emílio Ribas, então preocupado com os mínimos problemas dos leprosos. Lembro-me como si fosse hoje, quando aludiu ao efeito dos vermífugos sobre os hansenianos e me pediu para arranjar óleo de semente de abóbora, de ação mais branda. Ali se conversava. Discutia-se. Ria-se muito, e, nós os moços, aprendíamos a ética rígida dos verdadeiros cientistas. Tezourava-se também, e porque não? Que bom tempo!

Mas Ulhôa Cintra foi para o Bacteriológico do Rio. Alexandrino Pedroso, antigo assistente, contraiu meningite cérebro-espinhal e faleceu. Após algumas experiências com gente de fora, um do Instituto deveria passar a Diretor.

Si tudo fiz para chegar a assistente muito mais fiz para não ser o diretor. Até à minha casa, onde solicitou a intervenção de minha jovem e querida esposa, foi o diretor do então Serviço Sanitário. E em Outubro de 1922, assumi o cargo em que permaneceria mais de 25 anos. Claro que não podia inspirar confiança a todos. Um menino! Sim, menino, mas a responsabilidade estava em minhas mãos. Tinha que encará-la, e nessa tarefa empreguei tôda a minha mocidade, o meu maior entusiasmo, trabalhando, estudando, sonhando com dias melhores para o Instituto.

Uma viagem aos Estados Unidos e Europa, foi para mim viagem de estudos e de sacrifícios, pois além de enfrentar inúmeras dificuldades tinha, muitas vezes, que deixar os livros para conter

as lágrimas que minha esposa derramava pelos dois pirralhos que haviam ficado. Voltei estufado de entusiasmo. Estudara na Harvard, trabalhara em Albany, no Laboratório Higiênico de Washington, frequentara o Instituto Pasteur de Paris e o Roberto Koch em Berlim. Conhecera cientistas da envergadura de Besredka, Sabouraud, Wassermann, Zinsser, Park, Ana Williams, Alice Evans. A minha cabeça era um movimentado Laboratório de Saúde Pública! Mas, ao invés de pô-lo em prática, o que vi? foi a extinção em 1925, do antigo Bacteriológico, do Instituto que eu dirigia. Foi nessa ocasião que os acontecimentos me conduziram a prestar imenso serviço ao Instituto e a Saúde Pública de São Paulo. Escutai bem essa história. Compellido a escolher entre outro cargo, de vencimentos tentadores, mas de classificação inferior, ou permanecer Diretor, mas adido, espezinhado e ridiculamente pago, preferi esta situação. Foi talvez o dia mais amargo de minha vida profissional. Na minha modesta residência, a esposa que participara com afeto, do meu entusiasmo, recebeu das mãos de um servente do Instituto, um caixote contendo as minhas cousas — umas lâminas, alguns cadernos de notas, tubos com cultura, miudezas e um mundo de desilusões. Depois chegou a cesta de flores (ainda me lembro que eram roxas), enviadas pelos amigos que ficaram e iriam para outro Instituto. Mais tarde, ao anoitecer, cabeça baixa, ferido a fundo, entrou o Diretor destituído, o Diretor sem diretoria, sem o seu Instituto! Não poderíeis jamais avaliar o que foi essa humilhação! Por outro lado, assim quizeram os bons fados, ninguém, nem mesmo eu, havia de supor o quanto significava para a causa do Instituto essa minha decisão. Sim, porque aquele diretor permaneceu a célula viva, a semente que esquecida germinaria. E em torno daquele diretor e do laboratório que continuou a funcionar sob o nome de Posto, cresceram a vontade e a necessidade de se restabelecer o Instituto. Muitos trabalharam para isso, pois defensores e amigos nunca faltaram ao Instituto. E conseguimos, officiosamente, primeiro, e em caráter definitivo em 1931.

Por esse tempo, três vezes minha vida havia corrido perigo em consequência de graves infecções contraídas no serviço. Como não morri, lutei com maior ardor. Primeiro foi a caça aos nossos livros e revistas, distribuídos pelos outros Institutos e Bibliotecas. Até nos chamados sebos fui encontrar e comprar volumes que nos pertenciam e desfalcavam nossas coleções. Depois, a escolha de elementos competentes e honestos para enriquecerem nosso corpo técnico.

Consegui, então, um pessoal maior, mais assistentes e até, que escandaloso! dez técnicas de laboratório a 700 cruzeiros por mês e um bibliotecário. Chegaram a me perguntar onde iria caber toda aquela gente. Veio, então, a ginástica do espaço. Puchados na frente do prédio velho, aumentos para traz, avanço nas dependências do Hospital de Isolamento, aproveitamento do porão. E quem não se lembra da sala do diretor, encravada lá em baixo, atrás do almoxarifado que nascia? Redigi, ouvindo sempre e em tudo os companheiros, as técnicas de laboratório de cada secção, aproveitando muita coisa que vinha dos tempos de Lutz e de Bayma, modernizando outras, introduzindo novos meios de cultura, novos métodos e sonhando sempre com o futuro Laboratório Central de Saúde Pública. Por causa desse sonho, quando tive de optar, em 1937, entre uma cátedra de Microbiologia na Universidade de São Paulo, e o cargo de Diretor do Instituto, mais uma vez este foi preferido, porque ao lado da responsabilidade contraída em 1922, e fortificada em 1931, eu tinha um dever a cumprir, um programa a realizar. Já antevia, então, essa glória imensa, a minha glória, a nossa grande glória, edificar este majestoso Instituto, batizá-lo com o nome inesquecível de Adolfo Lutz, enchê-lo de cientistas de renome, de técnicos dedicados e competentes, de equipá-lo com material abundante e confortável, dotá-lo dessa preciosa biblioteca, da Revista, de grande projecção e de difundir por todo o Estado os seus benefícios e ensinamentos, criando a rede dos Laboratórios Regionais. Tudo isso aí está e ninguém poderá tirar sem cometer o crime de intencional destruição.

Ainda por amor a esta casa, aceitei, em 1944, a Diretoria do Departamento de Saúde. Sem descurar dos outros Serviços, remodelando mesmo alguns, como o da Tuberculose, para o qual obtive a decantada verba de 35 milhões de cruzeiros, empenhei os meus melhores esforços no aparelhamento do Instituto, principalmente do biotério e na ampliação do quadro de funcionários.

Nada eu faria, entretanto, sem o apoio dos governos. E ainda mais, que faria eu ou outro diretor, sem a vossa ajuda, a vossa preciosa ajuda? Todos estiveram a postos. Nunca faltastes. Trabalhastes sempre, primorosamente.

E assim, a homenagem de hoje, não é mais do que a sublimação na pessoa de um diretor que sai, como já o fizemos na de Adolfo Lutz, Bayma e outros, das honras duma batalha vencida pelo esforço conjugado duma coletividade trabalhadora e unida, competente e disciplinada, maravilhosamente honesta.

Aos meus agradecimentos profundos e cordiais, juntarei um fervoroso apelo. Continuai assim. Sabeis que aqui desfrutei dias de alegria imensa, que sofri também, defendendo o prestígio do Instituto, de tudo saindo, porém, de cabeça erguida e com a serenidade do dever bem cumprido. Prometei que mesmo nos momentos de angústia estareis unidos, alertas na diretriz de correção que juntos traçámos. Prometei prestigiar o vosso novo diretor. Trabalhai com dedicação sem limites. Assim sereis, pelo devotamento, saber e experiência, os continuadores do espírito e das obras dos grandes sábios que lançaram as bases da biologia experimental no Brasil.

E eu, até o fim da minha vida, contemplando a projeção científica do Instituto, ainda repetirei, orgulhoso e confortado — Cumpriram a promessa. Deus seja louvado!

SOROLOGIA DA SH. PARADYSENTERIAE (*)

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

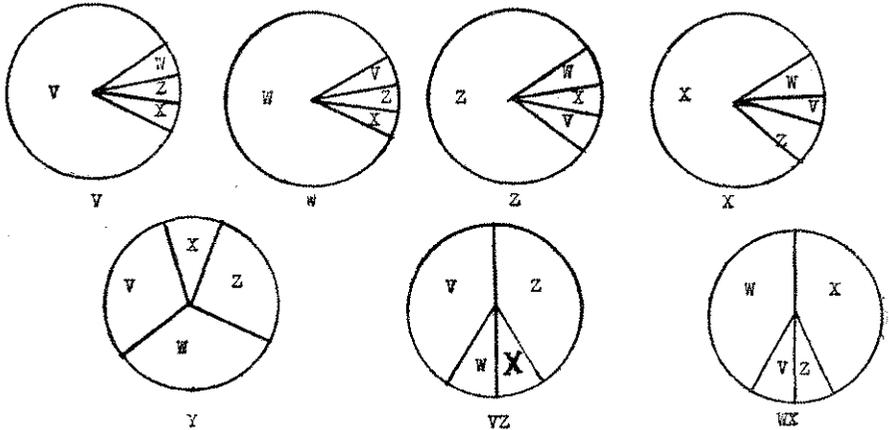
Em publicação anterior¹ tivemos oportunidade de fazer alguns comentários sobre a classificação sorológica dos germes pertencentes ao grupo paradisentérico, adotando nesse trabalho o esquema de classificação de Wheeler, dentro do qual podemos colocar a maioria dos germes por nós estudados. Entretanto, um certo número apresentou comportamento anômalo, justificando uma segunda nota na qual nos propomos a fazer um breve comentário inicial sobre as diversas classificações sorológicas dos autores ingleses e americanos, referentes ao grupo paradisentérico, e por último apresentar as razões que nos induziram a adotar a classificação de Boyd, modificada por Wheeler, o que deixámos de fazer na nota anterior dada a pouca experiência que tínhamos sobre o assunto.

Dentre os autores da lingua inglesa, os primeiros a tentarem a classificação sorológica do grupo paradisentérico, foram Andrewes e Inman.² Esses autores verificaram que em todo bacilo Flexner existem pelo menos, 4 componentes antigênicos diversos, distribuídos em proporções variáveis para cada amostra. Em algumas culturas haveria grande preponderância de um determinado antígeno sobre os demais, caracterizando por assim dizer um tipo. Estabeleceram assim 4 tipos sorológicos denominados V, W, X e Z de acôrdo com o antígeno predominante e um 5.º tipo possuindo quantidades mais ou menos equivalentes dos antígenos V, W, Z associados a pequena quantidade de X, que foi denominado de Y. Encontraram ainda dois subtipos VZ e WX, variantes dos tipos V e W com a particularidade de conterem grande proporção dos antígenos Z e X.

(*) Trabalho entregue para publicação em 27-11-48

(**) Médicos do Instituto Adolfo Lutz

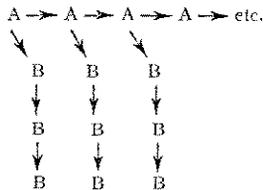
Os conceitos de Andrewes e Inman estão representados em forma diagramática na fig. 1.



Boyd³ publicando suas observações sobre o comportamento sorológico de 4856 culturas de *Sh. paradysenteriae*, isoladas na sua maioria na Índia, verificou que cerca de 3/4 dessas culturas podiam ser caracterizadas como alguns dos tipos anteriormente descritos por Andrewes e Inman. Com as restantes estabeleceu a existência de 9 tipos sorológicos até então não descritos; 3 desses tipos (amostras Boyd 103, P 119 e Boyd 88) estavam relacionadas sorologicamente com os tipos V, W e Z de Andrewes e Inman, ao passo que dos seis tipos restantes (Boyd 170, P 288, P 274, D 1, D 19 e P 143) apenas a amostra P 143 revelava possuir pequena quantidade de antígeno em comum com os primitivos tipos de Andrewes e Inman.

Boyd desenvolveu portanto a classificação dos bacilos paradysentéricos, ampliando-a de modo a incluir as amostras não aglutináveis pelos soros, até então conhecidos e sugeriu um nova classificação em dois grupos sorologicamente distintos: 1.º grupo *Sh. paradysenteriae* Flexner, compreendendo as amostras V, W, Z, Boyd 103, P 119, e Boyd 88; e o 2.º grupo *Sh. paradysenteriae* Índia incluindo as amostras restantes, Boyd 170, P 288, P 279, D 1, D 19 e P 143. Por sugestão de Perry, imediatamente aprovada, a denominação Índia foi substituída pela de Boyd, ficando este 2.º grupo conhecido como *Sh. paradysenteriae* Boyd.

Os estudos de Boyd levaram-no a discordar das conclusões de Andrewes e Inman, relativamente à estrutura antigênica do grupo Flexner. Observando fenômenos de variação em um dos seus tipos (amostra B 103), pode demonstrar que esse fenômeno envolvia uma modificação fundamental na estrutura antigênica. Em subculturas sucessivas a amostra 103, originava dois tipos de colônias (fig. 2) um dos quais (A) reproduzia integralmente os característicos morfológicos e sorológicos da amostra, ao passo que o outro (B) era variante incompleta do primeiro, incapaz de reverter ao tipo original e produzindo exclusivamente culturas do seu próprio tipo.



Em provas cruzadas de aglutinação e de absorção de aglutininas, a amostra 103 B retirava de um soro 103 A tôdas as aglutininas heterólogas, de modo que após a absorção este soro aglutinava apenas a amostra homóloga. (fig. 3).

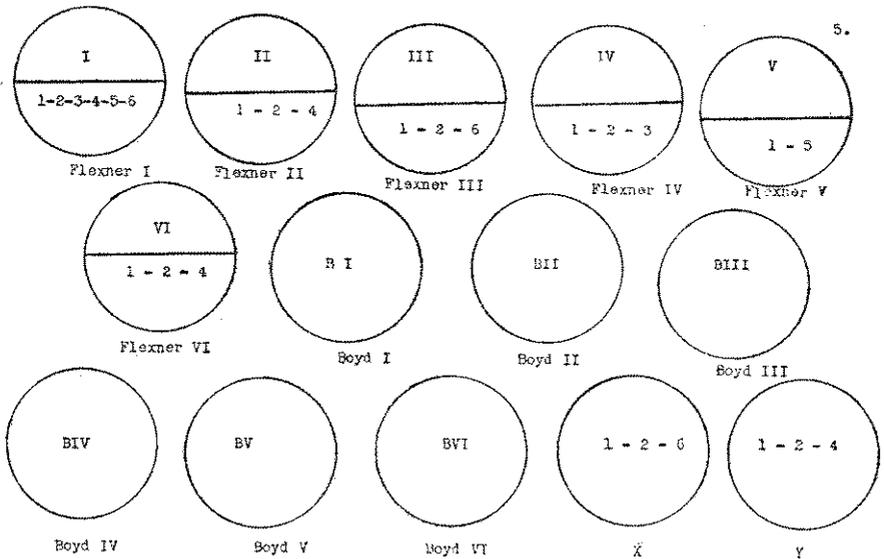
Soro 103 A	Aglutinação com as amostras						
	V	W	X	Y	Z	103 A	103 B
Não absorvido	+	+	+	+	+	+	+
Absorvido com 103 B	-	-	-	-	-	+	-
Absorvido com 103 A	-	-	-	-	-	-	-

Boyd concluiu então que a amostra 103 A possuía dois antígenos diversos: um antígeno tipo-específico que lhe era próprio e um antígeno de grupo que ela compartilhava com as amostras V, W, X, Y e Z. A variante 103 B, ao contrário, possuía apenas o antígeno de grupo, pois era incapaz de remover as aglutininas (tipo-específicas) do soro 103 A; ela teria sofrido um processo degenerativo com perda do antígeno tipo-específico característico da amostra original, e com conservação do antígeno de grupo, o qual por ser menos especializado seria mais resistente à variações involutivas. Estes:

fenômenos de variação foram observados por Boyd de modo mais ou menos completo também em outros tipos de *Sh. paradysenteriae*, e representariam uma tendência normal dos componentes da espécie nas condições artificiais de cultura.

Baseado em suas observações, fruto de numerosas experiências de aglutinações cruzadas e absorções de aglutininas, Boyd negou as conclusões de Andrewes e Inman relativas à constituição antigênica do grupo Flexner. Cada tipo não possuiria uma quantidade predominante de um antígeno específico e quantidades menores dos antígenos específicos dos outros tipos, como admitiam aqueles autores; cada tipo possuiria um antígeno próprio, característico, não compartilhado pelos demais tipos e a relação entre os diversos membros do grupo Flexner seria estabelecida portanto através de um antígeno de grupo comum a todos. Para ele os tipos X e Y de Andrewes e Inman não devem ser considerados como tipos e sim como variantes dos tipos Z, W e 103 que perderam seus antígenos tipo específicos conservando somente seus antígenos de grupo.

Os conceitos de Boyd foram representados esquematicamente como mostra a fig. 4, na qual cada tipo sorológico é representado por um antígeno próprio, em algarismos romanos, associado a um complexo antigênico comum em algarismos árabes.



O complexo antigênico de grupo está reproduzido de maneira simplificada, mas Boyd demonstrou que o antígeno de grupo tem

uma estrutura complexa, sendo constituído de pelo menos 6 componentes diversos. A amostra X de Andrewes e Inman é considerada por Boyd como variante incompleta de Z (isto é, o antígeno de grupo é idêntico ao que existe no tipo Z); as amostras Y e 103 B são consideradas como variantes incompletas respectivamente dos tipos W e B 103. A existência dos tipos mistos VZ e WX, admitida por Andrewes e Inman, não foi confirmada por Boyd, nunca tendo ele encontrado no grande número de amostras estudadas, uma, que possuísse mais de um antígeno tipo específico. No quadro anexo está reproduzida a classificação proposta por Boyd.

Nomeclatura antiga	Classificação de Boyd	
	Antígeno tipo-específico	Ant. de grupo
Tipo V (A. e I.) §	Flexner I	1, 2, 3, 4, 5, 6
Tipo W (A. e I.)	" II	1, 2, 4,
Tipo Z (A. e I.)	" III	1, 2, 6
Boyd 103	" IV	1, 2, 3
" P 119	" V	1, 5,
" 88 — Newcastle	" VI	1, 2, 4
" 170	Boyd I	
" 288	" II	
" D 1	" III	
" P 274	" IV	
" D 19	" V	
" P 143	" VI	

§ A. e I. = Andrewes e Inman

Boyd teve ainda o mérito de demonstrar a perfeita indetidade antigênica entre a amostra Boyd 88 e certos germes descritos na Inglaterra, que sendo responsáveis por enterites agudas no homem, apresentam a peculiaridade de não acidificar a manita podendo produzir bolhas de gás na dextrose e em outros carboidratos. Hoje ninguém mais duvida de identidade antigênica entre o tipo Boyd 88 e os chamados bacilos de Newcastle Manchester descritos por Clayton e Warren⁴ e Downie, Wade e Young⁵ e que estão reunidos

no chamado grupo 88. Newcastle-Manchester ou melhor Sh. paradysenteriae Flexner VI de Boyd.

Classificação de Wheeler — As conclusões de Boyd foram confirmadas pelos trabalhos de Wheeler ⁶. Este autor utilizando-se dos mesmos métodos de estudo adotados por Boyd, conclue com este ultimo da importância das diferenças qualitativas dos antígenos específicos próprios a cada tipo. Chega a conclusões um pouco diversas quanto ao antígeno de grupo, que para Wheeler seria constituído por 9 componentes diversos um dos quais existe em todos membros do grupo. Wheeler admite estar um antígeno tipo específico ligado a antígenos de grupos diferentes o que permite diferenciar dois germes com o mesmo antígeno tipo específico pelo seu conteúdo diverso em antígenos de grupo.

De um modo geral, Wheeler concorda com as ideias fundamentais de Boyd, admite todos os tipos descritos por Boyd. Não aceita como tipos os chamados X e Y de Andrewes e Inman porque não conseguiu isolar nessas amostras um antígeno tipo específico, não passando para ele de variantes que perderam seus antígenos tipo específicos, encontrando-se por assim dizer em fase de grupo irreversível.

Por último sugere que as denominações empregadas por Boyd sejam substituídas por números romanos de I a XII que apresentam a vantagem de aí poder ser incluído qualquer novo tipo que venha a ser descrito.

Classificação de Weil — Weil ⁷, ao contrário de Boyd e Wheeler, 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. paradisentéricos e a predominância de um desses antígenos é que caracteriza a amostra como tipo sorológico definido.

Baseava suas observações não só em provas de absorção de aglutininas como também em provas de proteção utilizando embrião de galinha. Argumenta que a existência de um antígeno comum a cerca de 80% dos bacilos Flexner mais frequentemente encontrados.

levaria a se obter um elevado grau de proteção cruzada quando qualquer uma das amostras fosse utilizada para imunização. Verificou que tal não existe e o que confere proteção é o antígeno presente em maior quantidade. Por meio de soros devidamente absorvidos também dividiu o grupo Flexner em uma série de tipos, utilizando para esse fim soros aglutinantes monovalentes. Uma vez que admite serem as diferenças antigênicas entre os tipos de natureza quantitativa e não qualitativa, necessitou para explicar a possibilidade de se obter um soro monovalente a hipótese de diferenças funcionais entre antígenos primários e secundários, isto é, os antígenos secundários estariam por assim dizer protegidos no microrganismo intacto de tal forma que quanto postos em contacto "in vitro" com soros possuindo anticorpos a eles correspondentes não são acessíveis a esses anticorpos. A diferença entre um tipo e outro seria dada, por assim dizer, por posições diferentes dos vários antígenos dentro do corpo bacteriano.

Tentamos em nosso laboratório uma série de experiências que comprovassem as asserções de Weil. Inicialmente preparamos soros aglutinantes com amostras tipo X e Y existentes na nossa coleção recebidas do Instituto Lister de Londres, outros obtidas do Dr. K. M. Wheeler e uma isolada em São Paulo que já em primeiro isolamento não aglutinou em nenhum dos soros tipo específicos por nós preparado. Dos 5 soros que obtivemos sempre foi possível retirar todos os anticorpos empregando como culturas absorventes amostras pertencentes ao tipo V. W. Z. e Boyd 103, parecendo-nos portanto não haver nenhum antígeno característico dos tipos X e Y.

Tomamos também um soro preparado com uma amostra V (Andrews e Inman) e verificamos quais as outras amostras que esse soro aglutinava. Obtivemos para a amostra homóloga um título de $\frac{1}{10.240}$ e para as heterólogas títulos que variavam entre $\frac{1}{2560}$ e $\frac{1}{5120}$. Por meio de absorções tornamos o soro monovalente; verificado novamente o seu título constatamos que caíra de $\frac{1}{10.240}$ para $\frac{1}{2560}$ para a amostra homóloga. Fizemos a seguir três absorções sucessivas usando como cultura absorventes aquelas que na opinião de Weil deveriam possuir antígenos secundários semelhantes ao anticorpo restante no soro, sem verificar nenhuma alteração no título desse soro para a amostra homóloga. É de notar que fizemos nesse soro 4 absorções, sendo que para as três últimas

usamos aproximadamente 0,5 gr. de germes secos para absorver 5 cc. de um sôro diluído $\frac{1}{10}$. É lícito pensarmos que nas várias amostras empregadas para absorção, o arranjo dos antígenos dentro da bactéria não seja o mesmo e que quantidades mesmo diminutas do anticorpo fossem neutralizadas pelo antígeno. Dada a quantidade de bactérias por nós usada, lógico seria encontrarmos uma diminuição no título do sôro, o que não verificamos como acima dissemos.

Restava-nos comprovar a existência dos chamados tipos mixtos também encontrados por nós quando tipamos as amostras Flexner de nossa coleção. Tratamos de verificar os soros monovalentes por nós preparados; verificamos que alguns deles não estavam devidamente absorvidos, aglutinando fracamente amostras de tipos diversos quando fazíamos aglutinações lentas em tubos com incubação a 37° durante 24 horas. Com soros tornados monovalentes puros, repetimos a tipagem pela técnica da aglutinação em lâminas de 9 amostras com duplo antígeno específico que encontramos e como mostra o quadro abaixo, com exceção de uma, tôdas passaram a aglutinar com um só sôro, tendo uma delas perdido todos seus antígenos específicos.

Amostras	1	2	3	4	5	6	7
1.ª aglutinação	V-II	II-IV	II-III	III-V	II-III	II-III	II-III
2.ª aglutinação depois de absorção	II	II	III	V	II	II	—

Com os mesmos soros também verificamos duas amostras recebidas do Instituto Lister de Londres amostras V. Z. Stansfield e W. X. Mountain 2464. A primeira aglutinou somente em sôro tipo específico V e a segunda com sôro W, confirmando a existência de um só antígeno tipo-específico, característico do tipo.

Baseadas nessas observações, o ponto de vista de Weil não nos parece certo e enquanto não for feita a caracterização por outros métodos dos diferentes componentes antigênicos do grupo Flexner, preferimos por razões acima expostas seguir a orientação proposta por Boyd e modificada por Wheeler, que a nosso ver permite uma melhor compreensão do grupo; pelo menos a julgar pelos elementos com que podemos contar com base nos nossos conhecimentos atuais.

Empregando a técnica proposta por Wheeler, continuamos tipando tôdas as amostras de *Sh. paradysenteriae* isoladas em nosso laboratório no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. Neste último ano foram isolados 38 bacilos paradisentéricos assim distribuídos:

	N.º de Culturas	%
Tipo I	4	10,5
Tipo II	22	58,0
Tipo III	4	10,5
Tipo IV	4	10,5
Tipo V	2	5,2
Tipo VI	2	5,2

A frequência dos tipos encontrados é mais ou menos a mesma da já encontrada entre nós por outros autores⁸. O trabalho de tipagem estando atualmente incluído dentro da rotina deste laboratório nos permitirá dentro de algum tempo fornecer dados sôbre a incidência real dos diferentes tipos de bacilos paradisentéricos encontrados em São Paulo.

RESUMO

Os autores analisaram as três classificações dos germes do grupo paradisentérico propostas pelos autores de língua inglesa. Preferem a classificação de Boyd modificada por Wheeler, por acharem ser esta a que permite uma melhor compreensão do grupo paradisentérico.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ALMEIDA, S. S., TAUNAY, A., NOVAES, J. C. e TRIGO, A. P. — 1947 — Tipos sorológicos de *Sh. paradysenteriae* encontrados em São Paulo — Revista do Instituto Adolfo Lutz — n.º 7 — pag. 75-87.
- 2 — ANDREWES, F. W. e INMAN, A. C. — 1919 — study of the serological races of the Flexner group of dysenteriae bacilli. Medical Research Council, Special Report Series —, N.º 42 — London.
- 3 — BOYD, J. S. K. — 1938 — The antigenic structure of the manitol-fermenting group of dysentery bacilli. *J. Hyg.* 38:477-499.
- 4 — CLAYTON, F. H. A. e WARREN, S. H. — 1929-1930 — Further study of an unusual bacillus recovered from cases presenting symptoms of dysentery. *J. Hyg.*, 29:191-200.

- 5 — DOWNIE, A. W., WADE, E. e YOUNG, J. A. — 1933 — An organism resembling the Newcastle bacillus associated with cases of dysentery. *J. Hyg.* 33:196-203.
- 6 — WHEELER, K. M. — 1944 — Antigenic relationships of *Shigella paradysenteriae* *J. Immunol.*, 48:87-101.
- 7 — WEIL, A. J., BLACK, J. e FARSETTA, K. — 1944 — The serological types of *Shigella Paradysenteriae* (Flexner) — *J. Immunol.* 49:321-351.
- 8 — ASSIS, A., MONTEIRO FILHO, A. e RIBEIRO, V. R. L. — 1946 — Tipos sorológicos de *Shigella paradysenteriae* no Rio de Janeiro — *Hospital*, 30:367-374.

MIELOGRAMA DO RATO NORMAL

JOSÉ LOPES NETTO
SYLVIO SOARES DE ALMEIDA
Médicos do Instituto Adolfo Lutz

LÚCIO PENNA DE CARVALHO LIMA
Assistente da Faculdade de Farmácia e Odontologia da
Universidade de São Paulo

O emprêgo do rato albino como animal de pesquisa em hematologia experimental tem sido limitado quasi que exclusivamente à observação das alterações do sangue periférico, pois o estudo da medula óssea exigia o sacrificio do animal, o que apresentava inconveniente óbvios. Recentemente foi proposto por Vigran⁷ um processo relativamente simples de biópsia da medula óssea femural do rato, tornando possível a obtenção repetida de material mieloide de um mesmo animal.

Interessados em obter dados relativos ao mielograma do rato normal, utilizamo-nos da técnica de Vigran, com ligeiras modificações. Em vista do pequeno número de publicações sôbre o assunto parece-nos justificada a divulgação não sômente dos resultados quantitativos por nós obtidos, como também de algumas de nossas observações no que diz respeito à morfologia dos elementos celulares mieloides.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dez ratos albinos Wistar, da criação do biotério do Instituto Adolfo Lutz, com idades variando entre 3 e 5 mezes e recebendo dieta padrão. Os animais eram anestesiados com tionembutal (*) (30 mg por quilo de pêso) ou éter. Mantidos em

(*) Cedido por Abbott Laboratórios do Brasil, S.A.

decúbito dorsal, procedia-se à depilação da face medial da perna com solução de sulfureto de sódio a 10%, seguida de assepsia com iodo e álcool. A seguir fazia-se uma incisão de mais ou menos 1 cm de extensão ao nível da metade superior da perna e, afastando-se as partes moles, expunha-se uma zona triangular de base superior sobre a face anterior da tíbia, livre de musculatura. Com uma pequena broca de secção cilíndrica, movida a eletricidade, perfurava-se a tábua óssea e introduzia-se no orifício a extremidade de uma agulha de 1 mm de diâmetro, serrada e montada em seringa de 20 ml, com a qual era feita a aspiração do material medular. Em alguns casos houve sangramento abundante ao se retirar a broca, pelo que repetia-se a punção na outra tíbia. O material aspirado sempre foi suficientemente abundante para permitir a execução de dois esfregaços. Os métodos de coloração utilizados foram os de Wrigth e de May-Grunwald-Giemsa. De cada animal foram contadas 1000 células, classificadas de acordo com a nomenclatura de Ferrata.

RESULTADOS

Distribuição qualitativa. No quadro 1 estão discriminados os diversos tipos celulares encontrados na medula óssea do rato, com as suas respectivas porcentagens. Os nossos resultados só podem ser postos em confronto com os de Cameron e Watson⁸, obtidos por biópsia femural, pois os demais trabalhos por nós consultados foram realizados com técnicas diferentes, seja por impressão, seja por mistura com soro e posterior distensão em lâmina do material mieloide obtido após a morte do animal. A distribuição quantitativa dos elementos celulares por nós encontrada é, em suas linhas gerais, aproximada à que foi obtida por Cameron e Watson. Julgamos inútil especular até que ponto as divergências menores podem ser explicadas por diferenças de conceito individual na classificação dos diferentes tipos de células, ou por condições outras inerentes aos próprios animais utilizados nas pesquisas dos referidos autores.

QUADRO I

TIPOS CELULARES	Máximo %	Mínimo %	Média %	Desvio padrão	Erro padrão	Coeficiente de variação
Hemocitoblastos	0,2	0,0	0,12	0,1	0,03	83,3
Mieloblastos	2,1	0,2	1,4	0,5	0,15	35,7
Promielócitos neutrófilos	4,0	1,3	2,5	0,88	0,27	35,2
Metamielócitos neutrófilos	14,4	5,7	9,06	2,56	0,81	28,2
Bastonetes neutrófilos	24,4	17,3	16,67	3,57	1,12	21,4
Segmentados neutrófilos	10,2	1,2	4,5	2,71	0,85	60,0
Promielócitos eosinófilos	3,1	0,2	1,4	0,5	0,25	57,1
Mielócitos eosinófilos	4,3	0,6	2,96	1,54	0,48	52,0
Metamielócitos eosinófilos	3,6	0,7	2,1	0,9	0,28	43,4
Bastonetes eosinófilos	5,5	0,4	3,2	1,62	0,51	50,6
Segmentados eosinófilos	1,7	0,0	0,6	0,57	0,18	95,0
Basófilos (*)	2,2	0,2	0,88	0,87	0,24	87,5
Linfoblastos	0,8	0,0	0,3	0,23	0,07	76,6
Linfócitos	35,0	15,5	23,9	5,1	1,6	21,2
Monócitos	3,0	0,0	1,1	0,86	0,27	78,1
Plasmócitos	4,2	0,4	1,6	0,9	0,28	55,5
Megacariócitos	0,4	0,0	0,1	0,1	0,03	79,6
Células reticulares	1,3	0,4	0,95	0,25	0,07	26,3
Proeritroblastos	0,7	0,2	0,45	0,18	0,05	40,0
Eritroblastos basófilos	3,8	0,4	1,8	0,96	0,3	53,3
Eritroblastos policromáticos	24,5	8,8	20,0	4,8	1,5	12,0
Eritroblastos ortocromáticos	0,2	0,0	0,12	0,08	0,02	16,6
Células não identificadas	0,3	0,0	0,13	0,1	0,03	76,9

(*) Inclusive Mastzellen

Estudo morfológico. De um modo geral as células que constituem a medula óssea do rato apresentam morfologia bastante semelhante à da medula humana. Por esta razão os diversos tipos celulares não serão descritos individualmente neste trabalho; pormenores sobre a citologia mieoide do rato poderão ser encontrados nas publicações dos autores que nos precederam. 1, 2, 4, 5, 6, 8

Existem entretanto, certas particularidades morfológicas que nos parecem dignas de nota, que passaremos a estudar com maior detalhe.

1) *Núcleos em anel.* É muito frequente o achado de células cujo núcleo apresenta na porção aproximadamente central um vacúolo preenchido por citoplasma. O aspecto é comparável ao que seria obtido sobrepondo-se ao citoplasma celular um núcleo perfurado no centro (figura 1). Tais células foram classificadas como pertencendo à linhagem granulocítica pelos autores anteriores, e diferentemente interpretadas quanto à sua posição na escala de maturação celular. Para Töppner³ a célula em anel é um promielócito; Vogel⁶ considera-a como ocupando posição intermediária entre o mielócito e o metamielócito; Cameron e Watson⁸ encontraram essa particular disposição do núcleo em todas as fases de maturação a partir do mielócito. A nosso ver o núcleo em anel não é particular a uma determinada fase evolutiva dos granulócitos;

pode ser encontrado em qualquer grau de maturação, inclusive no mieloblasto (figura 2) e também em células reticulares em derivação granulocítica direta (figura 3).

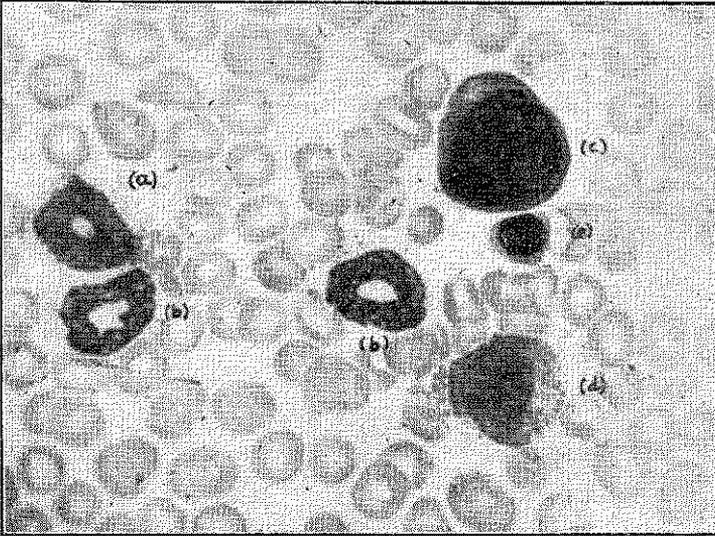


FIGURA 1

Mielócito (a) e metamielócitos (b) com núcleo em anel. Proeritroblasto (c). Mielócito eosinófilo (d). Eritroblasto policromático (e).

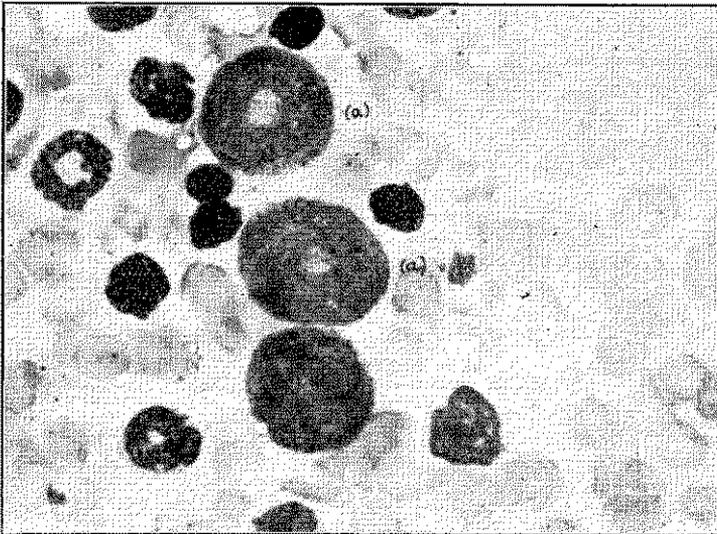


FIGURA 2

Mieloblastos com núcleo em anel (a).



FIGURA 3

Célula reticular com núcleo em anel

O aspecto em anel parece constituir uma modalidade particular de maturação do núcleo de algumas células mieloides, atual ou potencialmente granulocíticas.

2) *Assincronismo da maturação núcleo-citoplasmática.* É outro fenômeno de observação muito frequente nos granulócitos, principalmente nos neutrófilos, e que tende a dificultar o reconhecimento mais exato do grau de maturação celular. É comum observar-se tipos celulares que seriam classificados como granulócitos maduros pelos caracteres citoplasmáticos, mas que apresentam núcleos extremamente jovens, em desacôrdo com a maturidade do citoplasma. Outras vèzes dá-se o inverso, e uma célula com núcleo maduro, com grossos blocos condensados de cromatina, apresenta citoplasma basófilo e granulações azurófilas, próprias de elementos menos evoluídos. Em vista das dificuldades de uma classificação exata, originadas por esta relativa independência no ritmo da maturação núcleo-citoplasmático, Endicott e Ott⁵ sugerem que se abandone uma classificação detalhada dos granulócitos. Este ponto de vista não nos parece aceitável; julgamos que a estrutura do núcleo deve prevalecer sôbre os caracteres citoplasmáticos, e que uma

observação cuidadosa permitirá, na grande maioria das vêzes, situar a célula no tipo correspondente ao seu gráu de maturidade.

3) *Células de tipo linfoide.* Ao lado dos pequenos linfócitos, cuja individualização não oferece a menor dificuldade, encontram-se outros elementos de tipo linfoide (com núcleo linfoide e citoplasma fracamente basófilo, não granuloso) cujo exato reconhecimento constitui a principal dificuldade no estudo da medula óssea do rato. A maior parte das células deste tipo foi por nós incluída sob as rubricas de plasmoblastos ou linfoblastos e uma parte pode ser classificada como hemocitoblastos. Frequentemente, entretanto, não foi possível chegar-se a uma caracterização segura do tipo celular.

4) *Células reticulares.* Apresentam caracteres morfológicos núcleo-citoplasmáticos próprios dos elementos indiferenciados semelhantes aos encontrados na medula óssea humana. Como particularidade morfológica deve ser mencionado o achado de núcleo em anel, fato não referido pelos demais autores. Deve-se também assinalar a relativa frequência com que são encontrados elementos com os caracteres morfológicos das células reticulares, mas que apresentam também granulações específicas neutrofilas ou eosinófilas (figura 4), sugerindo que pelo menos uma parte dos granulócitos neutrófilos e eosinófilos derivam diretamente das células mesenquimatosas da medula óssea.



FIGURA 4

Célula reticular em evolução granulocítica eosinófila.

5) *Basófilos*. Os granulócitos basófilos são raros. Mais frequentes são as Mastzellen, células grandes, contendo numerosas granulações intensamente basófilas, tomando todo o citoplasma e recalcando o núcleo para a periferia; o núcleo cora-se fracamente e tem retículo cromático pouco nítido.

RESUMO

Os A. A. estudaram a medula óssea do rato albino normal, obtida por punção tibial. Descrevem a técnica utilizada e referem os dados quantitativos encontrados, bem como particularidades morfológicas dos elementos celulares.

SUMMARY

The authors studied the bone marrow of the albino rat, as obtained by tibial biopsy. The technique used is described and the quantitative results and morphologic particularities of the cellular elements are given.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — STASNEY, J. e HIGGINS, G. M. — 1935 — A Quantitative Cytologic Study of the Bone Marrow of the Adult Albino Rat — *Anat. Rec.*, 63:77-89.
- 2 — HIGGINS, G. M. e MACHELLA, T. E. — 1939 — The Bone Marrow of Rats made Anemic by Administration of Sulfaniilamide — *Anat. Rec.*, 75:529-536.
- 3 — TOPPNER, R. — 1942 — Das Myelogramm der weissen Laboratoriumsratt — *Folia Haematol.*, 66:48-57. Citado por Vogel, M. — *Am. J. Med. Sc.*, — 1947 — 213:456-462.
- 4 — KINDRED, J. E. — 1942 — A Quantitative Study of the Hemopoietic Organs of the Young Albino Rats — *Am. J. Anat.* 71:207-243.
- 5 — ENDICOTT, K. M. e OTT, M. — 1945 — The Normal Myelogram in Albino Rats — *Anat. Rec.* 92:61-67.
- 6 — VOGEL, M. — 1947 — The Femoral Bone Marrow Cells of the Albino Rat — *Am. J. Med. Sc.*, 213-456-462.
- 7 — VIGRAN, I. M. — 1947 — A Method of Bone Marrow Biopsy from the Rat — *J. Lab. Clin. Med.*, 32:102-103
- 8 — CAMERON, D. G. e WATSON, G. M. — 1948 — Femoral Bone Marrow Biopsy in the Albino Rat-Blood, 3:292-294.

TRABALHO FEITO NO INSTITUTO ADOLFO LUTZ E NO HOSPITAL
DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO.

PINICILINA G — PROCAÍNA: NÍVEIS SANGUÍNEOS E AÇÃO TERAPÊUTICA

DECIO DE OLIVEIRA PENNA
Médico Interno do Hospital das Clínicas

HASSIB ASHCAR
Médico do Instituto Adolfo Lutz

MURILLO R. VIOTTI
Acadêmico Estagiário da Clínica Dermatológica e Sifiligráfica,
Serviço do Prof. Aguiar Pupo

INTRODUÇÃO

Desde a introdução da penicilina como arma valiosa no tratamento de numerosos processos infecciosos encontrados na prática clínica diária, vinha sendo sentida a incômoda necessidade de injeções múltiplas e a intervalos relativamente curtos, sem o que não se conseguia obter a manutenção de níveis sanguíneos satisfatórios. De fato, a não ser em doentes hospitalizados, a administração de injeções cada 3 horas transforma-se num problema de difícil solução, especialmente naqueles casos em que é necessário tratamento prolongado. Sob este aspecto, o problema torna-se quase insolúvel quando se trata de pacientes residentes em localidades do interior, muitas vezes desprovidas de pessoal habilitado a levar a cabo o programa terapêutico. Temos ainda a lembrar quão incômodas para o paciente se tornam as injeções repetidas, mais ou menos dolorosas, perturbando o repouso que muitas vezes é indispensável ao tratamento. Todas estas considerações se aplicam ainda com maior justeza quando se trata da aplicação da penicilina

em crianças. Mesmo em hospitais, as injeções repetidas representam gasto enorme em material e enfermagem.

Por essas razões, vem sendo notada uma nítida tendência no sentido de procurar meio pelo qual sejam obtidos níveis satisfatórios, estáveis, com aplicações a intervalos maiores. É verdade que certos autores⁸ têm recentemente posto em dúvida o princípio clássico de que o tratamento penicilínico eficiente exige a manutenção de nível constante e afirmam que, com administrações de doses altas de penicilina em solução aquosa, a intervalos longos (12 ou mais horas), obtêm resultados comparáveis aos conseguidos com o método clássico de aplicação, ou seja, cada 3 horas. Entretanto, até que estudos mais rigorosos sejam feitos, continua de pé a necessidade de manter nível penicilínico tanto quanto possível constante.

Vários foram os meios propostos com a finalidade de conseguir bons níveis com aplicações a maiores intervalos. Assim é que, por exemplo, foi tentado o retardamento da absorção do antibiótico no local injetado com auxílio da refrigeração^{15, 16}, tendo os resultados referidos sido satisfatórios; trata-se porém de um método excessivamente incômodo e que não entrou na prática comum. Outro meio que vem sendo estudado é o emprego de drogas como a caronamida que agem evitando a eliminação renal do antibiótico². O meio que melhores resultados forneceu até data recente foi, entretanto, o da administração da penicilina cálcica como suspensão num veículo composto de óleo de amendoim e cera de abelhas, a assim chamada fórmula de Romansky. Com tal preparação foram obtidos bons resultados na prática, uma vez que a injeção diária única de 300 000 ou 600.000 unidades da preparação era capaz, na grande maioria dos casos, de manter nível satisfatório por 24 ou mais horas^{9, 10, 11}. Apesar de tudo, não se tratava ainda da forma ideal de resolver a questão, pois como tem sido assinalado por vários autores^{1, 4, 5, 7, 12, 13, 17}, havia casos de reações locais (dôr, endurecimento) ou gerais (atribuídos principalmente à cera de abelhas) que, embora pouco freqüentes, o eram suficientemente para que a preparação não pudesse ser considerada a ideal. Também a possibilidade de embolias oleosas deve ser levada em linha de conta. Embora com êsses inconvenientes, a fórmula de Romansky teve uma rápida expansão e sem dúvida representou um passo adiante na terapia com antibióticos.

Mais recentemente uma nova solução do problema foi apresentada. Trata-se de uma preparação constituída da suspensão, em veículos diversos, de uma combinação de penicilina e procaína, correspondendo a cristais com solubilidade aquosa de aproximadamente 7.000 unidades por ml; a potência teórica é de 1.041 unidades por mg e a real de 940 unidades por mg. O preparado deve conter, no mínimo, 90% de penicilina G e pelo menos 50% do seu peso deve ser dado por cristais com 50 ou mais micra¹³.

Na generalidade dos preparados, tem-se em 1 ml da suspensão cerca de 300.000 unidades de penicilina em combinação com aproximadamente 125 mg de procaína. Como veículos têm sido usados óleos vegetais (amendoim, semente de algodão, sésamo), água destilada, solução fisiológica, etc. A suspensão, injetada intramuscularmente, liberta lentamente o antibiótico na corrente circulatória, permitindo assim níveis terapêuticos prolongados.

Quanto aos veículos usados, pouca diferença individual tem sido encontrada quanto aos níveis obtidos e todos tem sido muito bem tolerados, sob o ponto de vista de possíveis reações locais ou gerais¹². A presença de procaína na preparação torna possível o aparecimento de reações em indivíduos sensíveis, sendo mesmo a toxicidade da preparação, experimentalmente, proporcional à quantidade de procaína que chega à circulação⁶. Entretanto, na prática, não têm sido observados casos de reação tóxica à procaína¹²; nos casos em que for temida uma possível reação deste tipo, pode facilmente ser feita uma prova prévia pela injeção intradérmica de procaína a 1 ou 2%.

Quando são usados os veículos oleosos torna-se fundamentalmente importante evitar a administração endovenosa, sob risco de acarretar embolia oleosa, como ocorre aliás com tôdas injeções oleosas. Já com as preparações que usam o veículo aquoso, embora seja preferível evitar a administração por veia, o risco é certamente menor. De fato, Stollerman e colaboradores¹² administraram, por via venosa, a cães 1 ml da preparação em veículo aquoso sem observar qualquer manifestação desagradável; em animais sacrificados observou-se que as partículas maiores de penicilina procaína haviam se assestado em capilares pulmonares, não havendo porém qualquer evidência de reação tissular ou interferência com a circulação pulmonar. Isto levou mesmo aqueles autores a estabelecer como rotina no Mount Sinai Hospital de New York

que penicilina-procaína em óleo apenas é administrada por médicos, enquanto que as preparações aquosas são aplicadas pela enfermagem. Outra desvantagem do veículo oleoso é a necessidade de usar para a aplicação seringa absolutamente seca, bem como o uso de solventes para a limpeza do material após a aplicação. Tudo isto leva à tendência a admitir como veículo de escolha a água destilada¹⁷.

Quanto aos resultados obtidos com a aplicação da penicilina G — procaína, são eles plenamente satisfatórios. Herrell, Nichols e Heilman⁴ administraram a 10 indivíduos sãos uma dose de 300.000 unidades (1 ml) da suspensão oleosa; ao fim de 24 horas havia nível dosável de penicilina circulante em todos os casos, excepto em 1. Em 4 dos casos, em que foi pesquisado nível após 27 horas, havia penicilina dosável. Das 3 amostras colhidas 30 horas após a aplicação, uma tinha ainda penicilina na taxa de 0,06 unidade por ml de sêro. Esses mesmos autores, embora sem entrar em detalhes, referem bons resultados clínicos no tratamento de processos infecciosos diversos; nenhuma complicação local ou geral foi observada.

Sullivan e colaboradores¹³ administraram a 21 pacientes hospitalizados a penicilina G — procaína suspensa em óleo de semente de algodão. Apenas 1 dos casos deixou de apresentar taxa de 0,062 unidade/ml após 24 horas, tendo muitos dos pacientes nível superior a 0,124. Num dos pacientes, no qual foram administrados 3 ml do preparado (900.000 unidades), após 36 horas havia nível dosável; outro que recebeu 1.200.000 unidades mostrou nível de 0,124 após 48 horas. Ainda aqui não é referida qualquer reação em toda série de experimentos.

Boger e outros¹ dão os resultados obtidos com a aplicação de 300.000 unidades em 9 pacientes ambulatorios e em 11 casos de pneumonia. A manutenção de níveis de 0,039 unidades ou mais variou entre 6 e 30 horas nos casos ambulatorios e entre 7 e 70 horas nos pneumônicos. Outros 12 pacientes com pneumonia receberam como tratamento uma dose inicial única de 600.000 unidades. No total de 23 casos de pneumonia, 18 foram curados apenas com a injeção inicial.

Whittlesey e Hewitt,¹⁷ usando a mesma preparação que nós ("Despacilina") ou seja a suspensão aquosa de penicilina G — procaína, obtiveram também resultados plenamente satisfatórios. Assim é que após aplicação de 300.000 unidades (1 ml) em 46

indivíduo hígidos, observaram que após 1/2 hora todos tinham nível de, pelo menos, 0,2 unidade por ml de sôro e 30% chegaram a 0,32; após 4 horas, a concentração ia de 0,04 a 1,28 por ml; após 12 horas, todos tinham nível dosável e 46% atingiam pelo menos 0,08. Com 24 horas havia nível dosável em 92% dos casos. Usando 600.000 unidades como dose única, os mesmos autores observaram que após 1/2 hora havia níveis de 0,08 a 1,28; os níveis máximos apareceram após 4 horas (0,04 — 2,5). Com 12 horas, os níveis obtidos oscilavam entre 0,04 e 1,28. Após 24 horas, todos tinham nível dosável e 72% chegavam a, pelo menos, 0,08. Após 36 horas, 94% dos casos apresentavam nível determinável.

Hewitt, Whittlesey e Keefer,⁵ usando como veículo o óleo de sésamo na grande maioria dos seus casos, referem também resultados semelhantes aos já referidos e afirmam que, em mais de 300 injeções do preparado, apenas em 1 paciente observaram a formação de um nódulo persistente, devido à provável administração subcutânea. Esses mesmos autores comparam os níveis obtidos com a penicilina G — procaína e com a fórmula de Romansky e concluem que embora esta última dê níveis máximos mais altos, é inferior à primeira no que diz respeito à ação prolongada. Ainda no mesmo trabalho referem que a administração de 600.000 unidades por injeção, além de elevar os níveis, principalmente prolonga-os.

Stollerman e colaboradores¹² que têm grande experiência com a administração de penicilina G — procaína com vários veículos, concluem que uma dose única de 300.000 unidades dará nível de 0,05 ou maior em 100% dos casos após 12 horas e em mais de 80% após 24 horas. Com a administração de 600.000 unidades, praticamente 100% dos casos terão nível de 0,05 ou maior após 24 horas.

Como vemos, resultados satisfatórios são referidos por todos autores que têm experiência com a penicilina G — procaína. Mais recentemente, está sendo introduzido como veículo um gel de óleo de amendoim e monoestearato de alumínio^{14,12}. Tal preparação permite níveis estáveis e extraordinariamente prolongados (72, 96 ou mais horas), após administração de apenas 300.000 unidades.

O presente trabalho tem por fim apresentar os resultados por nós obtidos com o emprego da penicilina G — procaína em suspensão aquosa ("Despacificina" Squibb), em diversos pacientes do Hospital das Clínicas (Serviço de Pronto Socorro e Clínica Dermatológica e Sifiligráfica).

MATERIAIS E MÉTODOS USADOS

Foi utilizada penicilina G — procaína para suspensão em veículo aquoso ("Despacificina" Squibb),* apresentada em frascos-ampólas contendo 1.500.000 unidades ou 3.000.000 de unidades. A suspensão foi preparada pela adição de água destilada estéril na quantidade de 4,3 ml nos frascos de 1.500.000 unidades e de 8,5 nos de 3 000.000, seguida de agitação prolongada. Dessa maneira obteve-se preparação em que 1 ml representava 300.000 unidades de penicilina. Em grande número de vezes a suspensão foi feita alguns minutos antes da aplicação, ao passo que nas demais usou-se sempre preparação com não mais de 1 semana à temperatura ambiente, conforme recomendação do fabricante.

As injeções foram feitas com a técnica recomendada ou seja a seguinte: retirada da quantidade desejada do frasco, após agitação enérgica do mesmo, usando agulha grossa; mudança da agulha por outra longa e com 8 ou 9 décimos de mm de calibre e administração imediata do preparado por via intramuscular profunda, de preferência na região glútea.

Sempre que tal maneira de proceder foi usada, não houve qualquer dificuldade para a retirada ou administração do material. Em todos os casos em que isto foi possível, os pacientes foram interrogados quanto à dor produzida pela injeção; desde já podemos dizer ter sido ela de grau mínimo. Aos pacientes também foi recomendado não fazer massagens no local injetado.

A administração foi levada a cabo em 21 pacientes distribuídos em 3 grupos, indicados adiante como grupos I, II e III. Após períodos diversos, conforme referido adiante, foram colhidas assépticamente amostras de sangue para dosagem de níveis peni-

(*) Desejamos apresentar nossos agradecimentos ao Dr. Francisco Caldeira Algodoal, Chefe do Dep. Médico de E. R. Squibb & Sons do Brasil, Inc. por cujo intermédio obtivemos a penicilina G — procaína usada no presente trabalho e que gentilmente nos facilitou o acesso à bibliografia especializada.

clínicos, as quais foram imediatamente recolhidas a refrigerador enquanto aguardavam o momento das dosagens. Estas foram feitas pelo método biológico das diluições seriadas em tubos, processo de Fleming³. Foi usada como germe de prova a cultura padrão de *Staphylococcus aureus* H. Pelo método usado, a taxa mínima dosável no sôro é de 0,04 unidades/ml.**

Os resultados obtidos são os que passaremos a referir.

OBSERVAÇÕES FEITAS e RESULTADOS CLÍNICOS

O grupo I abrange uma série de 10 observações feitas ao começarmos o presente estudo sôbre Penicilina G — Procaína. Tratando-se de preparação cuja aplicação em clínica era ainda por demais reduzida, foi julgada prudente, antes de seu uso como agente terapêutico, a verificação prévia do comportamento quanto aos níveis sanguíneos, lançando mão para tanto de indivíduos sãos ou de pacientes nos quais a penicilina não seria aplicada com finalidades de tratamento. Tais observações serviriam de base para ulterior aplicação terapêutica da droga.

Nos 7 (sete) primeiros casos, correspondentes a pacientes internados na Clínica Dermatológica e Sifiligráfica, procedeu-se à administração de 300.000 unidades — 1 ml do preparado, sendo em seguida colhidas amostras de sangue para dosagens dos níveis penicilínicos a intervalos diversos, conforme pode ser visto nos gráficos correspondentes.

Os 3 (três) casos restantes dêste grupo correspondem a acadêmicos de medicina que receberam doses repetidas da preparação, conforme está referido adiante.

A seguir, daremos alguns dados referentes a cada uma destas observações, acompanhados de gráficos dos níveis obtidos e seguidos de algumas considerações sôbre cada caso em particular.

Nos gráficos dêste grupo (de 1 a 10) estão lançadas como abcissas as horas decorridas após a aplicação da Penicilina G — Procaína e como ordenadas o nível penicilínico do sôro, em unidades. Como T, está referido o nível obtido nas amostras testemu-

(**) Aos auxiliares da Subseção de Micologia do Instituto Adolfo Lutz, Dna. Lígia Penteadó Schomburg e Sr. Milton Xavier, nossos agradecimentos pela colaboração na parte técnica.

nhas, colhidas antes de cada experimento; aliás, deve ser notado que todas as testemunhas foram negativas, quanto à presença de substâncias bacteriostáticas circulantes.

OBSERVAÇÃO N.º 1

J. F. A., masculino, 24 anos, branco, brasileiro, 68 kg e 1,60m — Registro hospitalar 102002.

Às 17 horas e 55 minutos de 31/8/48 foram aplicadas 300.000 unidades de Penicilina G-Procaína — (1 ml), via intramuscular profunda na região glútea direita.

Os níveis penicilínicos obtidos podem ser vistos no gráfico 1:

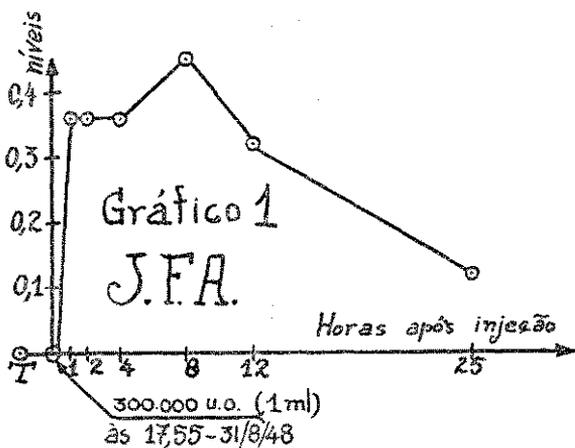


GRÁFICO 1

Considerações: O paciente apresenta leishmaniose cutâneo-mucosa, tratada. Estado geral, bom. As duas primeiras colheitas após a aplicação foram feitas com o paciente em período de movimento, andando pela enfermaria; as três (3) dosagens seguintes correspondem ao período de repouso noturno e as demais a período em que o paciente manteve-se em atividade moderada, própria de enfermaria.

Não houve qualquer queixa durante ou após a aplicação e não foi notada qualquer manifestação anormal que corresse por conta do medicamento administrado.

OBSERVAÇÃO N.º 2

A. S., masculino, 34 anos, branco brasileiro, 55 kg e 1,60m — Registro hospitalar 81337.

As 18 horas e 10 minutos de 31/8/1948 foram aplicadas 300.000 unidades da preparação na região glútea direita.

Os níveis obtidos de penicilina são os seguintes — (gráfico 2):

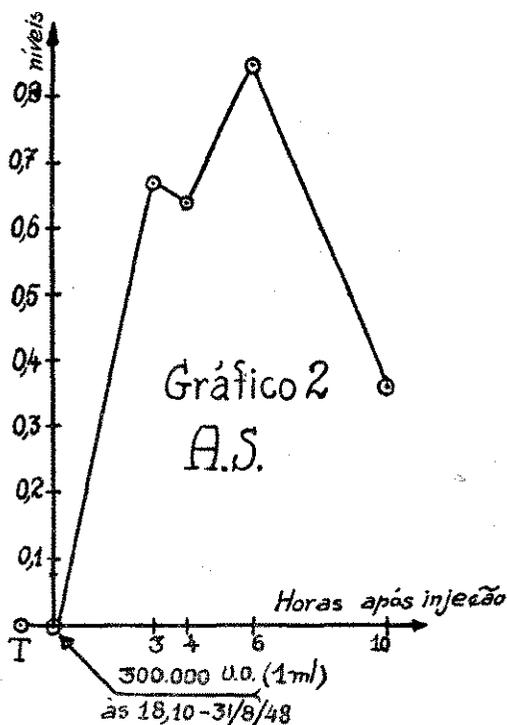


GRÁFICO 2

Considerações: O paciente é portador de sífilis terciária que já foi tratada e encontra-se em período de observação. Tem ainda fratura do fêmur esquerdo. O estado geral é mau, o que levou à colheita de apenas 4 (quatro) amostras após a aplicação. O paciente permaneceu acamado durante toda a prova, tendo sido todas as colheitas feitas à noite.

Não se queixou de dor local durante ou após a injeção e não foi observada qualquer reação sistêmica.

OBSERVAÇÃO N.º 3

F. V. B., masculino, 24 anos, branco, brasileiro, 62 kg e 1,64 m — Registro hospitalar 40587.

Às 15 horas e 15 minutos de 13/9/1948, 300.000 unidades (1ml) de Penicilina G — Procaína na região glútea direita.

O gráfico. 3 demonstra os níveis obtidos.

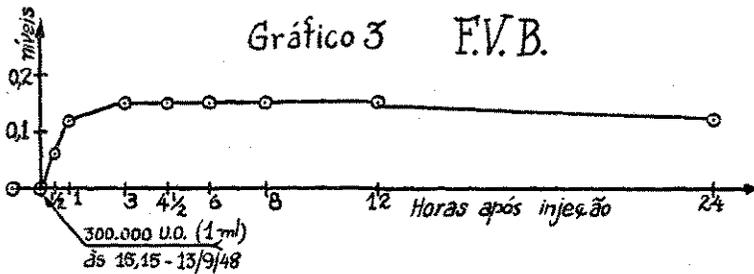


GRÁFICO 3

Considerações: O paciente apresenta ulcerações nas pernas e erisipela. Estado geral, bom. As cinco primeiras dosagens correspondem às colheitas feitas com o paciente movimentando-se livremente pela enfermaria; as duas seguintes correspondem ao período noturno e a última a material colhido às 15 horas do dia imediato, com o paciente novamente em atividade.

Nenhuma reação local ou geral foi verificada durante o período da observação; o paciente não se queixou de dor durante a aplicação.

OBSERVAÇÃO N.º 4

J. P. S., masculino, 28 anos, branco, brasileiro, 74 kg e 1,80m — Registro hospitalar 108008.

Às 15 horas e 20 minutos de 13/9/1948, aplicação na região glútea esquerda de 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína.

Níveis obtidos, no gráfico 4:

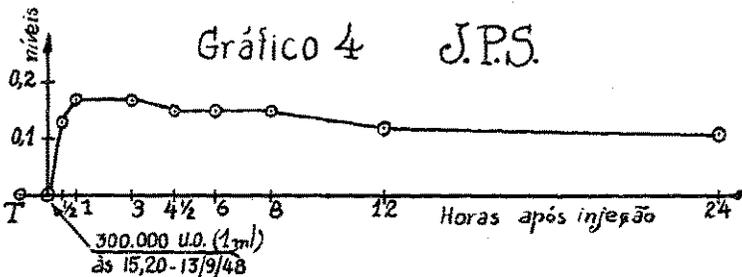


GRÁFICO 4

Considerações: Portador de leishmaniose tegumentar americana. Estado geral relativamente bom.

No mais, podemos fazer as mesmas considerações feitas a propósito do caso 3.

OBSERVAÇÃO N.º 5

J. M., masculino, 20 anos, branco, brasileiro, 60 kg e 1,70 m — Registro hospitalar 114274.

No dia 21/9/1948, às 11 horas e 45 minutos, administrou-se por via intramuscular profunda (nádega esquerda), 300.000 unidades da preparação.

Os níveis de penicilina obtidos foram os seguintes (gráfico 5):

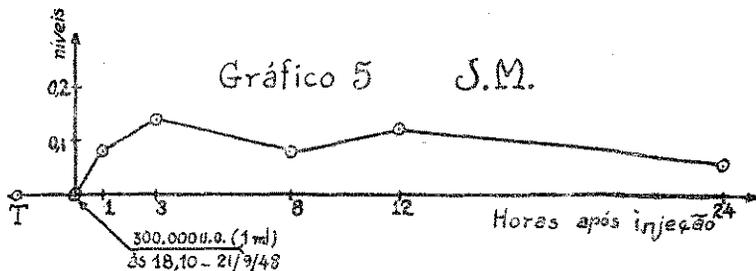


GRÁFICO 5

Considerações: Trata-se de um paciente portador de sífilis secundária, cancro venéreo simples e blenorragia. Estado geral bom.

Todas as dosagens, com exceção da última, correspondem a colheitas feitas com o paciente acamado, devido à ocorrência que relataremos a seguir.

Antes da aplicação o paciente já vinha acusando dor ao nível da articulação escápulo-umeral direita, descontínua, não muito intensa, aparecendo apenas aos movimentos. Meia hora após a aplicação a dor intensificou-se, assumiu o caráter de pontadas que acompanhavam o pulso e dentro de poucos minutos tornou-se poli-articular, com os mesmos caracteres referidos. O paciente queixou-se de sensação de frio e cefaléia, apresentando tremores. Surgiram ainda dores musculares nos membros superiores.

A temperatura, normal antes da aplicação, subiu progressivamente, atingindo 39,1°C às 17:30 horas e 39,3 às 18:25. Dessa hora em diante a temperatura decinou, regrediu aos poucos a sintomatologia e na manhã seguinte o paciente encontrava-se bem, sem qualquer queixa.

Interrogado, o paciente informou que em outras ocasiões da sua vida em que fizera tratamento com injeções de penicilina, apresentara também manifestações semelhantes e mesmo mais intensas que essas.

Procurando apurar a natureza do quadro apresentado por este paciente, foram feitas pelo Dr. A. Rotberg, do Serviço de Alergia do Hospital das Clínicas, provas alérgicas, cujo relatório é o seguinte:

“1. Penicilina G Procaína — restante da penicilina do mesmo frasco, na diluição terapêutica adotada:

face anterior	{	“Patch”
braço direito		Escarificação

2. Penicilina aquosa — diluída a 1:10 (1 ml = 10.000 unidades).

face anterior	{	“Patch”
braço esquerdo		Escarificações

Leitura imediata da escarificação: negativa com ambos.

“Patch” — leitura após 48 horas: negativa com ambos.

Intradermorreação com as penicilinas 1 e 2.

Leitura imediata: negativa com ambos

Leitura 24 e 48 horas após: negativa com ambas”.

Em vista disso, no dia 29/9/48 foi feita nova aplicação de Penicilina G — Procaína por via intramuscular, não tendo o paciente nessa ocasião apresentado qualquer manifestação anormal.

O quadro apresentado não pode ser considerado como uma reação à Penicilina G — Procaína, especificamente.

OBSERVAÇÃO N.º 6

O. S., masculino, 13 anos, branco, brasileiro, 48 kg e 1,52 m — Registro hospitalar 109257.

Em 21/9/1948 foram aplicadas 300.000 unidades de penicilina G — procaína na região glútea esquerda.

Os níveis de penicilina obtidos são os indicados no gráfico 6.

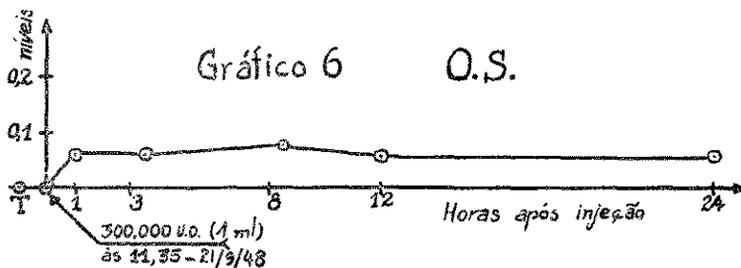


GRÁFICO 6

Considerações: O paciente é portador de esporotricose, já tratada continuando em observação. Estado geral bom. Apenas a colheita de 12 horas após a aplicação da penicilina foi feita à noite; as demais dosagens correspondem a colheitas feitas com o paciente em atividade na enfermaria.

Durante e após a aplicação, nada foi notado que pudesse ser interpretado como reação ao preparado.

OBSERVAÇÃO N.º 7

E. J. J., masculino, 30 anos, branco, brasileiro, 67 kg e 1,81 m — Registro hospitalar 113580.

Foram aplicadas 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína, às 11 horas e 40 minutos do dia 21/9/1948, na região glútea direita.

Os resultados das diversas dosagens da penicilina circulante feitas estão lançados no gráfico 7:

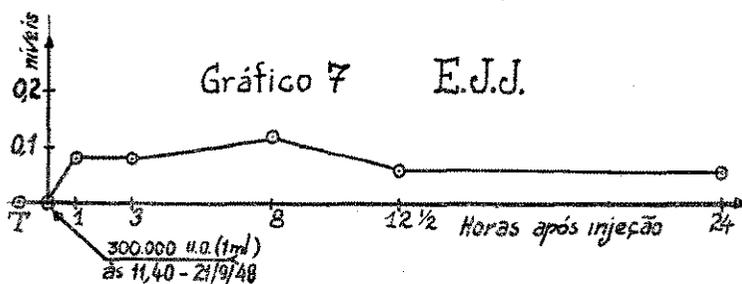


GRÁFICO 7

Considerações: O paciente apresenta úlceras varicosas em ambas as pernas. Estado geral relativamente bom. O sangue correspondente à 4.ª dosagem após a aplicação foi colhido no período da noite. Durante toda a prova o paciente conservou-se acamado.

Não foi notada nenhuma reação local ou geral.

OBSERVAÇÃO N.º 8

C. V. P., masculino, 22 anos, branco, brasileiro, 63 kg e 1,65 m — Estudante de medicina:

Às 20 horas e 10 minutos do dia 27/9/1948 foram aplicadas, por via intramuscular profunda na região glútea direita, 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína. Ulteriormente foram aplicadas novas doses da preparação, conforme está indicado no gráfico 8 que demonstra também os níveis penicilínicos encontrados.

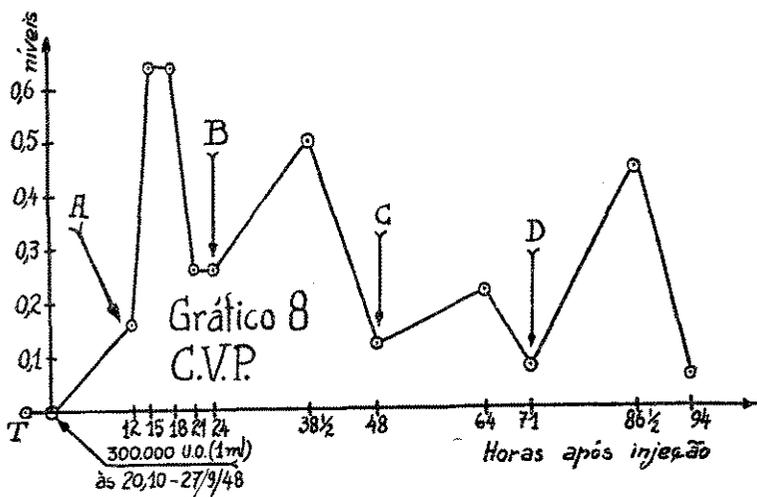


GRÁFICO 8

(A, B, C, D, indicam aplicações de novas doses de 300.000 unidades de Penicilina G-Procaína).

Considerações: Trata-se de paciente gozando boa saúde e em pleno exercício de suas funções: estudos, esportes, divertimentos, etc.

Não acusou dor local durante ou após as aplicações (em número de 5), não apresentado também qualquer sintomatologia que traduzisse sensibilidade ao preparado.

OBSERVAÇÃO N.º 9

N. S., masculino, 24 anos, branco, brasileiro, 66,5 kg e 1,79 m — Estudante de medicina.

Às 20 horas e 10 minutos do dia 27/9/1948 foi aplicada a dose inicial de Penicilina G — Procaína (300.000 unidades), na região glútea direita. Após 12 e 24 horas, foram feitas novas aplicações de doses idênticas. Os resultados obtidos são os mostrados no gráfico 9.

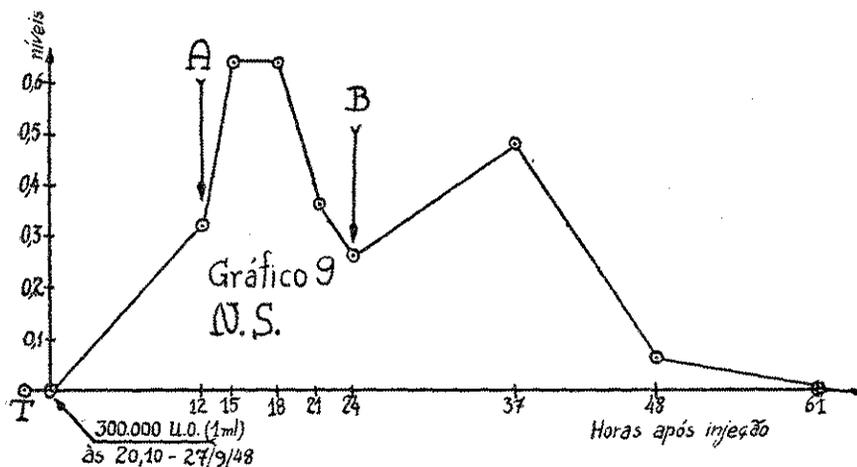


GRÁFICO 9

(A e B indicam novas aplicações de 300.000 unidades de penicilina).

Considerações: Paciente com boa saúde. Além das ocupações habituais, idênticas às dos casos 8 e 10, este paciente trabalha ainda mais 6 horas à noite, em serviço moderado.

Não acusou dor local durante ou após qualquer das aplicações e não surgiu sintomatologia alguma pela qual fosse possível responsabilizar a penicilina.

OBSERVAÇÃO N.º 10

M. R. V., masculino, 23 anos, branco, brasileiro, 68 kg e 1,83 m — Estudante de medicina.

Em 27/9/1948, às 20 horas e 15 minutos, foi aplicada a dose inicial de Penicilina G — Procaína (300.000 unidades) na região glútea direita. Fo-

ram feitas novas aplicações de dose idêntica 12, 24, 48 e 71 horas após a dose inicial, conforme indicado no gráfico 10 no qual estão referidos os níveis penicilínicos encontrados.

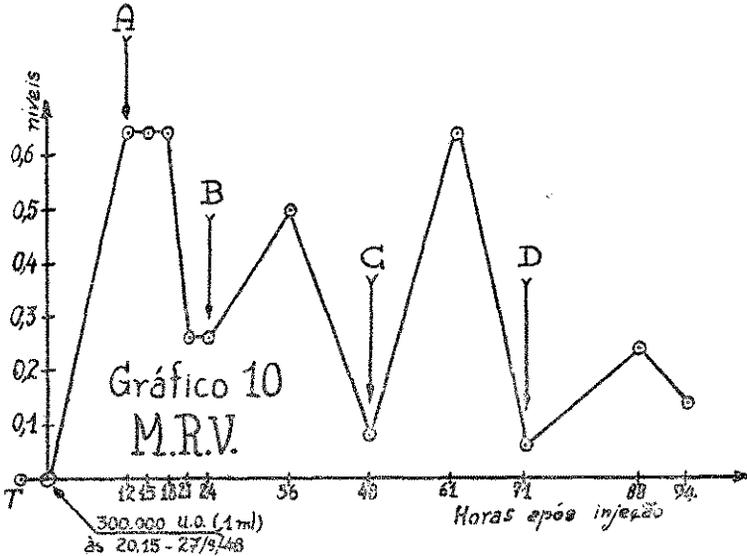


GRÁFICO 10

(A, B, C, D, indicam novas aplicações de 300.000 unidades de penicilina).

As mesmas considerações feitas em relação ao caso 8 podem ser repetidas aqui.

Examinando os resultados obtidos com os pacientes do Grupo I, o primeiro fato que chama a atenção é o de que todos os casos nos quais aplicou-se apenas a dose inicial de 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína (7 casos) demonstraram, no fim de 24 horas, nível dosável de penicilina no soro, tirante o caso 2 em que a última dosagem feita corresponde a 10 horas após a aplicação. Os níveis obtidos após 24 horas são os seguintes:

0,12	—	2 casos (1 deles após 25 horas)
0,11	—	1 caso
0,06	—	3 casos

Nota-se de um modo geral que os níveis obtidos, embora bastante estáveis no decurso das 24 horas, são relativamente baixos se comparados com os encontrados nos pacientes dos grupos II e III.

Assim é que apenas os casos 1, 2, 9 e 10 demonstraram nível atingindo ou ultrapassando 0,20 com a injeção inicial de 300.000

unidades, ao passo que, como veremos posteriormente, no grupo III todos os casos tiveram níveis superiores a 0,40 e 6 dentre os 7 chegaram a mais de 0,60. Vemos, pois, que apesar dos dois grupos compreenderem um número relativamente pequeno de casos, a diferença entre eles é certamente significativa e merece consideração especial; voltaremos a esta questão ao analisarmos os resultados do grupo III.

Quanto aos casos nos quais procedeu-se a injeções múltiplas (3 casos), os níveis obtidos mostram que apesar de administrações repetidas com intervalos de 12 horas, é suficiente uma pausa de 24 horas para que os níveis caiam novamente às cifras encontradas 24 horas após a injeção única de 300.000 unidades. Entretanto, as injeções repetidas permitem a obtenção de ápices muito mais elevados que com a dose única de 300.000 unidades (vide gráficos 8, 9 e 10).

O grupo II compreende alguns casos entrados no Serviço de Pronto Socorro do Hospital das Clínicas, tratando-se de pacientes em estado de coma. Nos três primeiros casos dêste grupo, tratava-se de indivíduos vitimados por hemorragia cerebral, ao passo que o último caso era o de uma paciente em coma provávelmente por ingestão de dose excessiva de barbitúrico e portadora também de um processo pneumônico.

A escolha dêstes casos teve em vista verificar qual a influência que poderia ter sobre os níveis penicilínicos a manutenção do paciente em imobilidade absoluta no leito; ao mesmo tempo, a penicilina era aplicada como medida profilática contra infecções pulmonares, complicação temível e comum dos pacientes em coma. Tratava-se de casos graves e de mau prognóstico, com exceção da paciente M. L. L. Realmente, os demais vieram a falecer em número variável de horas após a internação, pelo que apenas num deles foi possível a colheita de amostras de sangue 24 e 36 horas após a aplicação de Penicilina G — Procaína. Mesmo no caso de M. L. L. só foram colhidas amostras até 9 horas após a aplicação, dada a dificuldade que se encontrou a partir de então para a punção venosa.

Daremos a seguir um breve resumo do prontuário de cada um dos casos, podendo os níveis penicilínicos obtidos serem verificados no quadro 1.

CASO 1

D., 48 anos, feminino, preta, brasileira, prendas domésticas, internada em 29/10/1948.

Anamnese — Trata-se de paciente encontrada por uma vizinha em estado de inconsciência. Nada mais se conseguiu apurar.

Exame Físico — Paciente em coma profundo.

Pulso: 50; Pr. Art: 260×140; Resp: 26; Temp: 35,0°C.

Punção lombar: liquor francamente hemorrágico.

Tratamento — Além do habitual em tais casos, a paciente recebeu aplicação de 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína na nádega direita, às 19 horas e 30 minutos do dia 29/10/1948.

Evolução — Óbito às 15 horas e 45 minutos do dia seguinte. Necrópsia: hemorragia cerebral (lobo parietal esquerdo).

CASO 2

J. D., 45 anos, masculino, branco, brasileiro, chapeleiro, internado em 14/11/1948.

Anamnese — Não foram conseguidas quaisquer informações.

Exame Físico — Paciente em coma, respiração estertorosa.

Pulso: 104; Pr. Art: 240×150; Resp: 36; Temp: 37,0°C

Sinal de Babinski bilateral, reflexos patelares vivos.

Punção lombar: liquor hemorrágico.

Tratamento — Por ocasião da internação recebeu 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína na região glútea esquerda.

Evolução — Embora chegasse a apresentar algumas melhoras, faleceu 3 dias após a internação.

CASO 3

Dm., dados de identificação não conseguidos.

Anamnese — Encontrado inconciente na via pública.

Exame Físico — Coma carótico. Cianose.

Pulso: 115; Pr. Art. 220×130; Resp: 34; Temp: 37,5°C.

A punção lombar revelou liquor fortemente hemorrágico.

Evolução — Óbito 5 horas após a internação. A necrópsia confirmou o diagnóstico de hemorragia cerebral.

CASO 4

M. L. L., 16 anos, feminino, branca, brasileira, doméstica, internada em 16/12/1948.

Anamnese — A paciente entrou em estado de coma, informando a família que estava em tal estado há aproximadamente 10 horas. Foi negado o encontro de frascos vazios de hipnóticos ao lado da paciente em coma.

Exame Físico — Paciente em estado comatoso, apresentando ausência de reflexos ósteo-tendinosos. Os reflexos córneo-palpebrais estão presentes, embora diminuídos.

Pulso: 108; Pr. Art. 90×50; Resp: 29; Temp: 38,8°C.

O exame de tórax revela estertores bolhosos e leve sôpro tubário na base direita. A radiografia mostra opacidade leve, homogênea, na base direita.

Apesar da falta de informação precisa, foi diagnosticada intoxicação barbitúrica acompanhada de processo pneumônico na base pulmonar direita.

Tratamento — Foram aplicadas 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína na região glútea direita e administrou-se oxigênio, sôro glico-fisiológico e picrotoxina por via endovenosa. Como se faz de regra nos casos de intoxicação por barbitúrico, forçou-se a diurese pela administração contínua de fluidos endovenosos.

Evolução — Por cêrca de 24 horas, a paciente conservou-se em coma, voltando em seguida à consciência lentamente. Por 30 horas a temperatura manteve-se acima de 38°. Aproximadamente 15 horas após a primeira injeção, administrou-se nova dose de 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína, e com 24 horas de internação, passou-se ao uso da penicilina em solução comum, cada 3 horas, uma vez que o contrôle da evolução do processo pulmonar pela curva térmica não era viável, pois tem sido observada ascensão de temperatura em todos os casos de coma barbitúrico, independentemente de qualquer processo infeccioso evidenciável. A curva térmica foi um tanto irregular, tendo havido queda definitiva de temperatura na tarde do 5.º dia de internação. O quadro semiológico pulmonar desapareceu desde o 2.º dia, continuando porém uma tosse ligeira por mais alguns dias. A paciente, após recobrar a consciência, negou a ingestão de qualquer tóxico, apesar de que o diagnóstico foi mantido, baseado no quadro clínico.

QUADRO 1

GRUPO II		HORAS APÓS A APLICAÇÃO							
N.º	INICIAIS	0	3	6	9	12	18	24	36
1	D.	0	2,2	3,4	>4	>4	2,2		
2	J. D.	0	0,55	0,64	0,36	0,36	0,32	0,30	0,22
3	Dm.	0	0,55						
4	M. L. L.	0	0,18	0,12	0,08				

Como vemos no quadro 1, os níveis obtidos foram bastante altos, o que é especialmente evidente no caso 1, em que pelo espaço de 18 horas não houve queda abaixo de 2,2 unidades por ml de sôro. No caso 2 também é digna de nota a manutenção de um nível de 0,22 após 36 horas de aplicação. Já no caso de M. L. L.,

n.º 4, temos pelo contrário uma tendência à queda rápida, bastante nítida apesar do número pequeno de dosagens feitas. Atribuímos esta queda ao regime de diurese forçada a que foi submetida a paciente, o que evidentemente facilitou a excreção do antibiótico. Aliás, temos aqui um indício de que a hidratação excessiva levada a cabo no tratamento dos processos infecciosos agudos pode se tornar maléfica ao acarretar a baixa dos níveis de antibiótico na circulação; por outro lado, esta observação sugere o uso de doses maiores de penicilina nos casos em que, por um motivo ou por outro, torna-se necessário administrar doses maciças de fluidos. Claro está que trata-se apenas de uma sugestão, pois um caso apenas não pode servir de base definitiva; trata-se porém, sem dúvida, de um assunto merecedor de estudos futuros.

Nos casos 1 e 2, os níveis altos poderiam ser explicados pela oligúria que os pacientes apresentavam, uma vez que não estavam em condições de ingerir qualquer alimentação e as condições circulatórias contraindicavam a administração parenteral de quantidades apreciáveis de líquidos. Um outro fator provável, tratando-se de pacientes hipertensos, é um grau maior ou menor de insuficiência renal.

Quanto ao fator imobilidade, que foi inicialmente o que nos levou à escolha destes casos, parece-nos que se torna secundário em relação aos outros apontados.

No grupo III procedemos à administração da Penicilina G — Procaína a uma série de 7 pacientes com o diagnóstico de pneumonia lobar, tendo em vista avaliar a eficácia da preparação no tratamento daquela moléstia. Os casos de pneumonia prestam-se de maneira especial a esta prova de avaliação terapêutica, uma vez que trata-se de casos que na sua grande maioria reagem rapidamente à terapêutica penicilínica, servindo a curva térmica como excelente índice do resultado obtido. Por outro lado, graças à extensa experiência que se tem no Serviço de Pronto Socorro do Hospital das Clínicas do tratamento de pneumonia pelo método clássico (penicilina aquosa cada 3 horas e sulfadiazina), mais fácil se torna a comparação dos resultados obtidos em relação ao esperado, servindo assim de base para uma eventual mudança da rotina terapêutica em casos semelhantes.

O diagnóstico do processo foi baseado nos dados de anamnese e exame físico, bem como nos exames radioscópicos que foram feitos em todos os casos e estão esquematizados no gráfico 11.

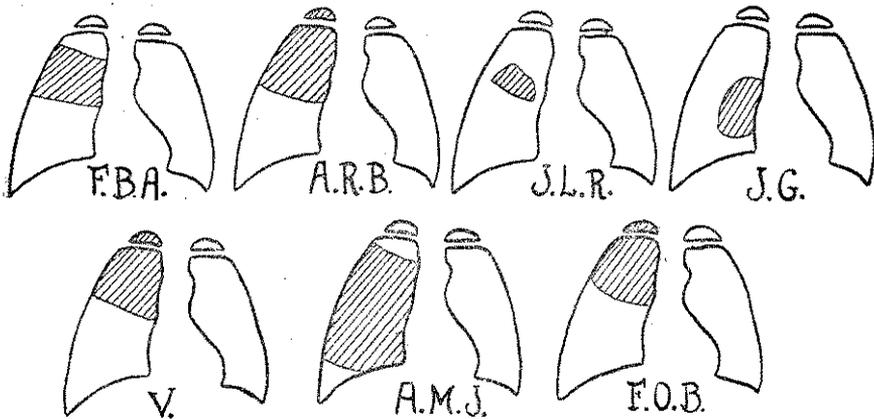


Gráfico 11 - achados radioscópicos

GRÁFICO 11

De todos os pacientes foram colhidas amostras de sangue para determinação de níveis penicilínicos.

A seguir daremos um resumo da observação clínica de cada um desses casos, bem como faremos alguns comentários sobre a evolução dos mesmos, no que diz respeito à resposta terapêutica.

CASO 1

F. B. A., 42 anos, masculino, branco, brasileiro, lavrador, internado em 30-10-1948.

Anamnese — Há 5 dias, pela manhã, começou a sentir-se mal, a ter tonturas e a apresentar dôres em pontada, exacerbadas pelos movimentos respiratórios, ao nível do apêndice xifóide. Logo surgiram calafrios, cefaléia, sudorese, anorexia e intensa sede. Apresentou muito pouca tosse e nada expectorou.

Em 1935 apresentou a mesma moléstia. Etilista moderado.

Exame Físico — Paciente abatido, sudorese profusa.

Pulso: 102; Pr. Art: 100×70; Resp: 34; Temp: 39,6°C; Pêso: 51,6 kg. Aumento de frêmito tóraco-vocal na região infra-clavicular direita, região axilar e metade superior da face posterior do hemitórax direito. Sôpro tubárico, estertores e pectorilóquia áfona nessa zona.

Tratamento — Foram administradas 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína (1 ml), por injeção intramuscular profunda na nádega esquerda. Não houve dor local ou reação geral de qualquer natureza.

Comentário — Este paciente apresentou evolução extremamente satisfatória e na manhã seguinte à internação (12 horas após início do tratamento)

já se encontrava em condições de alta. A curva térmica do caso pode ser vista no gráfico 12.

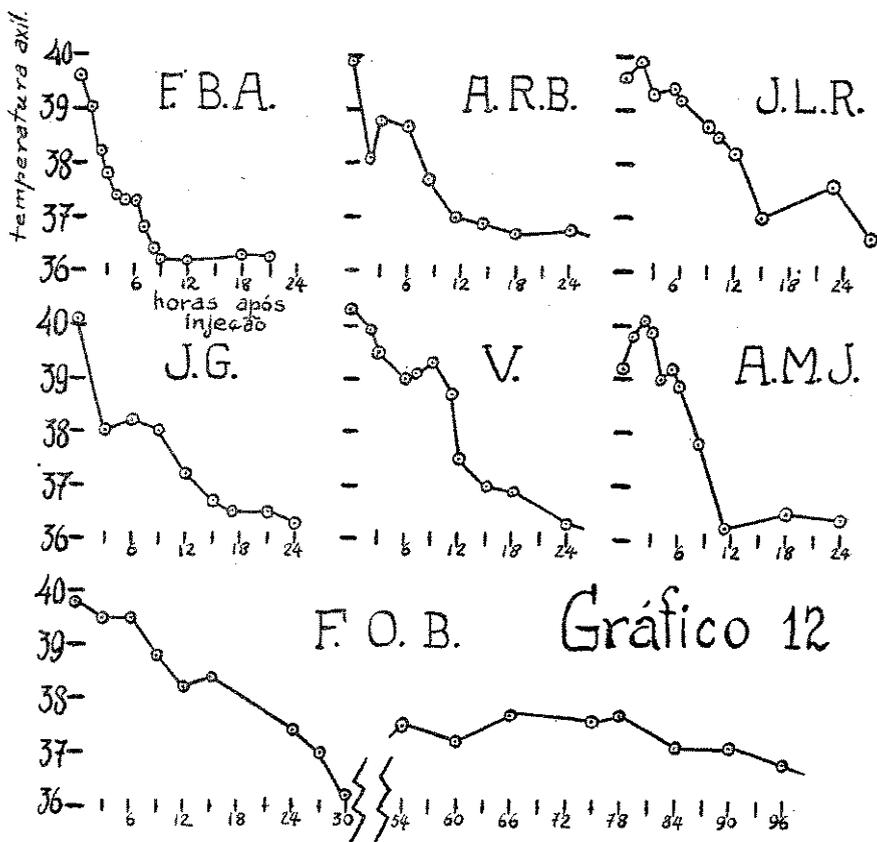


GRÁFICO 12

CASO 2

A. R. B., 31 anos, masculino, branco, brasileiro, operário, internado em 30-10-1948.

Anamnese — Há 15 dias, apresentou súbitamente calafrios, tosse, expectoração escassa não hemoptóica, dor em pontada ao nível da região mamária direita. Febre alta desde o início. Há 6 dias, intensificação de toda a sintomatologia.

Exame Físico — Muito abatido, intensamente dispnéico.

Pulso: 140; Pr. Art: 100×50; Resp: 46; Temp: 39,9°C; Pêso: 57 kg.

Frêmito tóraco-vocal mais intenso em todo o hemitórax direito. Submucicês na região escápulo-vertebral e ápice direitos, bem como na região axilar

do mesmo lado. Roncos e sibilos em todo o hemitórax direito. Estertores e sôpro tubário no ápice direito.

Tratamento — Igual ao do caso anterior. Injeção indolor.

Comentário — A evolução foi muito boa, tendo sido dada alta três dias após a internação; 10 dias mais tarde o paciente voltou ao ambulatório e continuava em excelentes condições.

CASO 3

F. O. B., 25 anos, feminino, branca, brasileira, doméstica, internada em 30-10-1948.

Anamnese — A paciente dera à luz há 4 dias. 1 dia antes do parto, passara a apresentar calafrios, mal estar geral, febre alta, dôr em pontada ao nível do apêndice xifóide e região da omoplata direita. Expectoração mucopurulenta, sem sangue.

É digno de menção o fato de que esta paciente é a esposa do doente A. R. B. (caso 2), o qual internou-se no mesmo dia e com o mesmo diagnóstico de pneumonia lobar superior direita.

Exame Físico — Intensa dispnéia. Palidês acentuada.

Pulso: 128; Pr. Art: 110×50; Resp: 46; Temp: 39,8°C; Pêso: 56 kg. Aumento de frêmito em todo o campo pulmonar direito, parte superior; sôpro tubário e pectorilóquia áfona nessa zona, em especial na região infraclavicular.

Tratamento — Como nos demais casos, aplicou-se 1 cm³ de Penicilina G — Procaína na nádega esquerda. Dôr ligeira, momentânea.

Comentário — Esta paciente vinha de um parto recente (4 dias), apresentava grande anemia (2.900.000 hemácias, 9,4 g de hemoglobina por 100 ml). Apesar disso, evoluiu para a cura com a dose única inicial de penicilina, devendo apenas ser notada a leve elevação térmica assinalada no gráfico de curvas febris, a qual cedeu espontaneamente sem terapêutica adicional.

CASO 4

J. L. R., 32 anos, masculino, pardo, brasileiro, pintor, internado em 14-11-1948.

Anamnese — Há 4 dias, no trabalho, apresentou súbitamente forte dôr em pontada na região infra-clavicular esquerda, irradiada para a axila e dorso do mesmo lado. Ao mesmo tempo, apresentou febre alta, tosse e expectoração côr de tijolo. Sudorese.

Exame Físico — Dispnéia. Sudorese muito intensa.

Pulso: 100; Pr. Art: 120×80; Resp: 40; Temp: 39,6°C; Pêso: 62,8 kg. O exame físico de tórax não revelou qualquer alteração digna de nota.

Uma particularidade interessante do caso, além da falta de sinais físicos, é a referência da dôr pleural à esquerda quando o processo revelado pela radioscopia encontra-se à direita.

Tratamento — Igual ao dos casos já referidos. Injeção absolutamente indolor.

Comentário — Evolução excelente, com restabelecimento precoce do estado geral, o que permitiu alta após 2 dias.

CASO 5

A. M. J., 35 anos, masculino, pardo, brasileiro, servente em fundição, internado em 13-12-1948.

Anamnese — Encontrava-se bem até uma semana atrás, negando passado pulmonar crônico. A doença iniciou-se com dôres nas pernas e fraqueza geral, logo seguidas de calafrios, tosse com expectoração sangüinolenta e dôr pleural violenta na face ânterolateral do tórax, à direita. A temperatura tirada nêsse dia foi de 40°C. A quantidade de escarro aumentou bastante com o correr dos dias, sempre com sangue.

Exame Físico — Dispneico, em mau estado geral, muito emagrecido.

Pulso: 130; Pr. Art: 100×65; Resp: 38; Temp: 39,2°C; Pêso: 52 kg. Frêmito táraco-vocal aumentado no ápice, região escápulo-vertebral e axilla direitos. Submacicês e macicês em todo o hemitórax direito, respectando apenas uma faixa de base. Estertores abundantes na zona de condensação, sôpro tubário especialmente evidente na face anterior do hemitórax direito.

Tratamento — 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína na nádega esquerda. Houve dôr muito discreta à injeção.

Comentário — Menos de 12 horas após a administração do antibiótico a temperatura havia caído por completo, como pode ser visto no gráfico de temperatura. Nos dois dias subseqüentes à internação o paciente esteve afebril, embora apresentando intensa astenia e tosse incomodativa, sempre com expectoração muito abundante. No 4.º dia reapareceu febre pouco intensa, que manteve-se durante os 4.º, 5.º, 6.º, 7.º, 8.º e 9.º dias, caindo depois. A partir do 6.º dia, passou a ser dada sulfadiazina nas doses habituais e a partir do 8.º dia, associou-se mais penicilina aquosa na dose de 50.000 unidades, cada 3 horas, por via muscular. O paciente mesmo com esta terapêutica associada e intensa refez-se muito lentamente da moléstia, obtendo alta no 23.º dia de internação.

Este caso foi o único em que a evolução para a cura exigiu terapêutica adicional, além das 300.000 unidades de penicilina iniciais. Propositadamente o complemento da terapêutica foi feito com o método clássico (sulfadiazina e penicilina aquosa), com o fito de verificar como reagiria o paciente a esta terapêutica. Como vimos, a reação também não foi brilhante, pois a-pesar-de estar tomando sulfadiazina, a febre continuou por mais 4 dias, caindo lentamente. Note-se que no caso não se pode falar propriamente em recaída da

pneumonia pois que a febre manteve-se entre 37 e 38°C ao passo que naquela eventualidade costuma ser observada ascensão rápida a 39 ou 40°C.

De qualquer forma êste caso impediu que obtivéssemos a cura na totalidade da série com a injeção única de 300.000 unidades.

CASO 6

J. G., 35 anos, masculino, branco, brasileiro, oleiro, internado em 25-12-1948.

Anamnese — Desde o dia anterior passou a sentir-se mal, com calafrios e dôres pelo corpo; vomitou por duas vêzes. Negou dôres no tórax, dispnéia, tosse e expectoração.

Exame Físico — Sudorese intensa, fâcies febril.

Pulso: 120; Pr. Art: 100×55; Resp: 28; Temp: 40,5°C; Pêso: 58 kg. O exame físico de tórax é absolutamente negativo por ocasião da internação.

Tratamento — Igual ao dos casos anteriores. Injeção indolor.

Comentário — Evolução totalmente favorável, sem qualquer complicação.

CASO 7

V., 20 anos, masculino, branco, brasileiro, operário, internado em 28-12-1948.

Anamnese — Há 5 meses passou a trabalhar em serviço no qual se expõe ora à umidade ora a ambientes empoeirados; atribui a isso o aparecimento de tosse com pouca expectoração.

Há 3 dias, mal estar geral, cefaléia, corpo mole; logo depois, tosse e pontada pleural ao nível da região escapular direita. Calafrios, sudorese, escarro côr de barro (sic).

Já teve outra pneumonia, em 1945, curada com penicilina.

Exame Físico — Fâcies febril, profusa sudorese.

Pulso: 120; Pr. Art: 85×50; Resp: 40; Temp: 40,5°C; Pêso: 57 kg. Aumento de frêmito tóraco-vocal na região escapulo-vertebral e próximo ao ângulo inferior da omoplata direita, bem como na região infra-clavicular direita. Submaciês ao nível do ângulo inferior da omoplata. À ausculta, nada de anormal.

Tratamento — Injeção de 1 cm³ de Penicilina G — Procaína na nádega direita. Ligeira dôr à injeção.

Comentário — A evolução foi totalmente favorável. O paciente na manhã seguinte à internação (12 horas depois), sentia-se muito bem, tendo a dôr pleural diminuído muito, bem como a tosse. Surgiu então sopro tubário no ápice direito e região escapulo-vertebral do mesmo lado. Antes de completar as 24 horas de tratamento o paciente pediu ao médico autorização para passeiar pela enfermaria.

* * *

Como vemos, apenas no caso de A. M. J. não tivemos evolução plenamente satisfatória, embora mesmo nesse caso fosse obtida a queda de temperatura em crise antes de 12 horas após a instituição da terapêutica. Confirmam-se assim os bons resultados obtidos por Boger e colaboradores¹ com a terapêutica da pneumonia lobar pela dose única de Penicilina G — Procaína, com a diferença de que aquêles autores usaram veículo oleoso.

Quanto aos níveis sanguíneos de penicilina que obtivemos nesta série de casos, vão êles referidos no quadro 2.

QUADRO 2

GRUPO III		HORAS APÓS APLICAÇÃO							
N.o	INICIAIS	0	3	6	9	12	18	24	36
1	F. B. A.	0	1,24	1,24	0,67	0,60	0,18	0,06	0
2	A. R. B.	0	0,75	0,36	—	0,16	0,16	0,16	0,16
3	F. O. B.	0	0,64	0,64	—	0,45	0,26	0,12	0,06
4	J. L. R.	0	0,22	—	0,22	0,18	0,67	0,12	0,12
5	A. M. J.	0	0,67	1,28	0,67	0,67	0,67	—	—
6	J. G.	0	0,96	0,48	0,48	0,48	0,48	0,10	—
7	V.	0	0,48	0,48	0,20	0,12	0,12	0,06	0,04

Verificamos que nos 6 pacientes em que foi colhido sangue após 24 horas da injeção intramuscular de 300.000 unidades de Penicilina G — Procaína (1 ml), todos apresentavam nível dosável, sendo que os valores mínimos são de 0,06 unidade por ml de sôro, obtidos em 2 casos. O valor máximo ao fim de 24 horas é de 0,16. Em 5 dos casos foi efetuada a dosagem após 36 horas, e apenas num deixou de ser demonstrada a presença de nível penicilínico dosável, ao passo que encontrou-se como valor máximo 0,16.

Como já havíamos assinalado anteriormente, é flagrante o contraste que se observa entre os níveis dos casos do grupo III e os do grupo I: enquanto êstes, com excepção de 4, não atingiram 0,20 em qualquer momento da prova, aquêles ultrapassaram sempre 0,40 e 6 entre os 7 atingiram mais de 0,60. Tal diferença vem confirmar

o que já fôra assinalado por Boger e colaboradores¹, que em 9 pacientes ambulatorios observaram a manutenção de níveis de 0,039 ou mais, em média, por 12 horas, ao passo que em 11 pneumônicos, tal média atingiu 33 horas. Ao que parece, a febre intervem como causadora de oligúria, evitando a excreção da penicilina.

Os níveis máximos em cada caso foram observados, em geral, entre 3 e 6 horas após a injeção, embora níveis bastante elevados continuassem após 6 e mesmo 12 horas. Com os resultados das dosagens feitas nos 7 casos de pneumonia do grupo III construímos o gráfico 13, no qual as 3 curvas ligam os valores máximos, médios e mínimos de nível penicilínico para os horários de colheita respectivos.

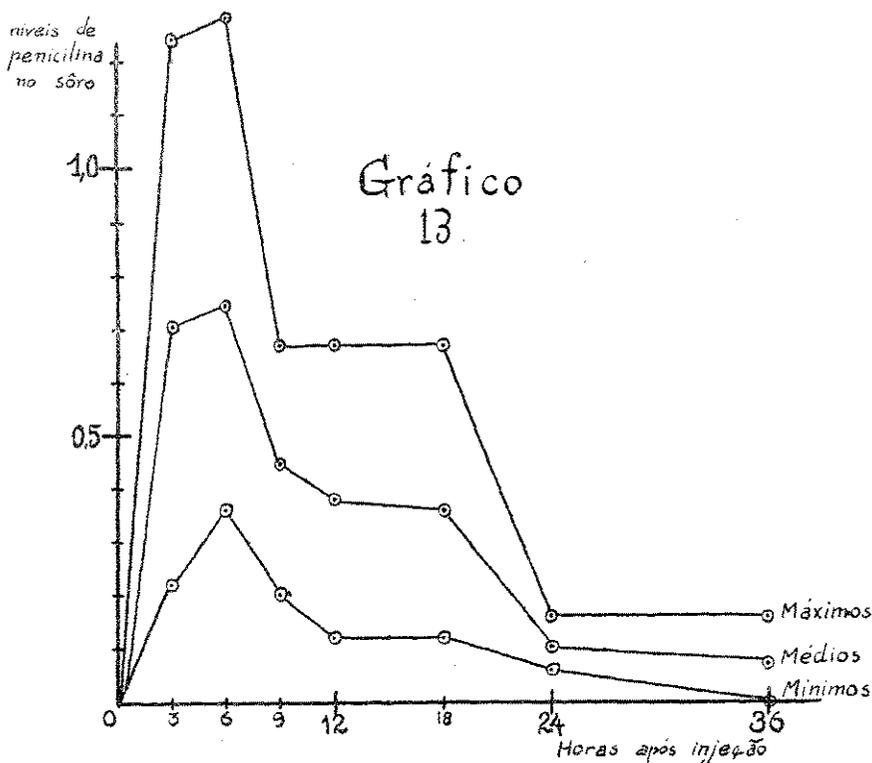


GRÁFICO 13

A Sra. Marina Estela Nogueira Gonçalves e à Sta. Julieta Castro Fernandes, nossos agradecimentos pelo auxílio prestado na confecção dos gráficos e serviços de Secretaria.

Embora abrangendo uma série relativamente pequena de casos, as observações feitas neste grupo de pneumônicos permite concluir que, pelo menos, a grande maioria dos casos de pneumonia lobar pode ser resolvida com uma injeção única de Penicilina G — Procaína (300.000 unidades em 1 cm³). Entretanto, até que estudos mais completos sejam levados a cabo, é aconselhável que o tratamento rotineiro dos casos de pneumonia lobar seja feito com a repetição cada 24 horas da dose referida da preparação.

Estudos mais extensos sobre o tratamento da pneumonia com a dose única merecem ser feitos em nosso meio, sabido como é que a moléstia entre nós é mais benigna que na Europa ou na América do Norte, pelo que as conclusões obtidas por autores desses locais podem não se aplicar totalmente aos nossos casos.

RESUMO

Os autores, após chamarem a atenção para as vantagens da obtenção de níveis terapêuticos de penicilina no sangue com administrações a intervalos longos, apresentam os resultados obtidos com o uso de Penicilina G — Procaína (“Despacificina” Squibb) tendo como veículo a água destilada. Num grupo de 10 indivíduos sãos ou portadores de afecções dermatológicas diversas, a aplicação de 300.000 unidades (1 ml) por via intramuscular profunda permitiu a obtenção, ao fim de 24 horas, de níveis dosáveis no soro (método de Fleming) em todos os casos nos quais dentro daquele período não foi repetida a dose inicial (7 casos); nesses casos os níveis após 24 horas variaram entre 0,06 e 0,12 unidades. Os níveis máximos obtidos após 300.000 unidades não chegaram a 0,20 em 6 dos casos ao passo que nos 4 restantes chegou-se a 0,85 como valor máximo. Em 3 casos deste grupo nos quais procedeu-se à administração de doses de 300.000 unidades cada 12 horas, os resultados sugerem que a repetição das doses, embora permitindo níveis máximos bastante mais altos, não impedem que, após 24 horas da última aplicação, tenham caído a níveis comparáveis aos obtidos 24 horas após a aplicação única de 300.000 unidades.

No grupo II, constituído por 4 pacientes em estado de coma, os resultados sugerem que a oligúria concorre para a manutenção de níveis altos prolongados, o contrário se dando quando o paciente está submetido ao regime de diurese forçada.

O grupo III é formado por 7 pacientes com pneumonia lobar, dos quais 6 foram curados com a dose inicial única de 300.000 unidades, com evolução tão boa quanto a obtida nos casos tratados pela penicilina aquosa cada 3 horas mais sulfadiazina. O caso que não evoluiu satisfatoriamente, embora respondendo ao tratamento com queda de temperatura em crise dentro de 12 horas, apresentou posteriormente nova ascensão térmica moderada (até 38°C), o que levou à instituição de terapêutica por penicilina de 3 em 3 horas mais sulfadiazina; mesmo assim, a evolução para a cura deu-se lenta e pouco satisfatoriamente. Os níveis penicilínicos obtidos neste grupo foram plenamente satisfatórios, pois todos os casos (6) nos quais foi dosado o nível de 24 horas demonstraram taxas de 0,06 a 0,16. Em 5 casos, nos quais foram colhidas amostras de sangue após 36 horas, apenas 1 deixou de apresentar nível dosável, obtendo-se nos demais de 0,04 a 0,16. Os níveis apreciavelmente mais altos dos grupos II e III em relação ao grupo I são interpretados como devidos à oligúria, por deficiente ingestão de líquidos ou pela febre.

SUMMARY

The authors, after emphasising the advantages of 1 injection every 24 hours penicillin therapy, present the results obtained with crystalline procaine — penicillin G in aqueous suspension ("Despencilina" Squibb). In a group of 10 patients (group I), both healthy and with dermatologic conditions, 300,000 units (1 ml) by intramuscular route provided, at the end of 24 hours, serum levels of 0,06 — 0,12 units in all the cases which had not received subsequent doses until the 24 hours period was completed. Maximum levels obtained with the administration of 300,00 units did not reach 0,20 in 6 cases, and in the other 4 cases a range of 0,20 to 0,85 was obtained. The authors had 3 cases of this group of 10 in which injection of 300,000 units were given every 12 hours; in these 3 cases, the maximum levels obtained were much higher than the maximum levels obtained with the single dose of 300,000 units. However, in these same 3 cases, when an injection was omitted, so that a period of 24 hours without injection was obtained, the blood levels at the end of 24 hours were just about the same as in those cases which had been given only 1 injection of 300,000 units.

The results obtained in group II (4 patients in coma) suggest that oliguria is an important factor in maintaining high levels longer; on the contrary, forcing fluids provides a reduction of blood levels.

In group III (7 cases of lobar pneumonia), the single dose of 300,000 units produced the complete cure of 6 cases, in as good a manner as was expected with the routine treatment (penicillin every 3 hours plus sulfadiazine); the seventh case, although presenting a typical fall of temperature 12 hours after the injection, showed the return of moderate degree of fever on the third day (37 to 38°C) and was subsequently given sulfadiazine plus penicillin 3/3 hours therapy. Even with this therapeutic program, evolution was not satisfactory and the cure was obtained only after 23 days. The serum levels obtained in this group were fairly satisfactory: all the cases in which levels were measured at the end of 24 hours (6 cases) had penicillin in the peripheral blood (0.06 — 0.16). In 4 out of 5 cases, the initial injection provided levels of 0.04 — 0.16 at the end of 36 hours.

The significantly higher levels obtained in groups II and III, as compared with group I, are probably due to oliguria, consequence of restricted fluid intake or fever.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — BOGER, W. P. e OUTROS — 1948 — Procaine penicillin in oil. I. Plasma concentrations; preliminary observations on its use in pneumonia. *Am. J. Med. Sc.*, 215:250-256.
- 2 — CROSSON, J. W. e OUTROS — 1947 — Caronamide for increasing penicillin plasma concentrations in man. *J. A. M. A.*, 134:1528-1532.
- 3 — FLEMING, A. — 1942 — In vitro tests of penicillin potency. *Lancet*, 1:732-733.
- 4 — HERRELL, W. E., NICHOLS, D. R. & HEILMAN, F. R. — 1947 — Procaine penicillin G (Duracillin): a new salt of penicillin which prolongs the action of penicillin. *Staff Meet. of the Mayo Clinic*, 22Dec. 10:567-570.
- 5 — HEWITT, W. L., WHITTLESEY, P. & KEEFER, C. S. — 1948 — Serum concentrations of penicillin following the administration of crystalline procaine penicillin G in oil. *New Engl. J. Med.*, 239, 8:286-290.

- 6 — HOBBY, G. L., BROWN, E. & PATELSKY, R. A. — 1948 — Biological activity of crystalline procaine penicillin in vitro and in vivo. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 67: 6-14.
- 7 — LEDERMAN — 1946 — A case of local reaction following the administration of penicillin in beeswax and oil. *Medical Record*, 159: 540-542.
- 8 — MARSHALL, Jr. E. K. — 1948 — Dosage schedules of penicillin in bacterial infections. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 82: 403-407.
- 9 — ROMANSKY, M. J. — 1946 — The current status of calcium penicillin in beeswax and peanut oil: data from a study of 600 cases and clinical observation of 400 patients given 60,000 injections. *Am. J. Med.*, 1:395-411.
- 10 — ROMANSKY, M. J., MURPHY, R. J. & RITTMAN, G. E. — 1945 — Single injection treatment of gonorrhoea with penicillin in beeswax-peanut oil. *J.A.M.A.*, 128:404.
- 11 — ROMANSKY, M. J., & RITTMAN, G. E. — 1947 — Penicillin blood levels following single intramuscular injection of calcium penicillin in beeswax and peanut oil. *New Engl. J. Med.*, 233:577-582.
- 12 — STOLLERMAN, G. H., ROSTON, E. H. & TOHARSKY, B. — 1948 — A guide to the use of procaine penicillin in hospital practice. *N. York State J. State J. Med.*, 84:2501-2505.
- 13 — SULLIVAN, N. P. e OUTROS — 1948 — A new penicillin for prolonged blood levels. *Science*, 107:169-170.
- 14 — THOMAS, E. W. e OUTROS — 1948 — Newer repository penicillin products. *J.A.M.A.*, 137:1517-1519.
- 15 — TRUMPER, M. & HUTTON, A. M. — 1944 — Prolonging effective penicillin action. *Science*, 100:432.
- 16 — TRUMPER, M. & THOMPSON, G. J. — 1946 — Prolonging the effects of penicillin by chilling. *J.A.M.A.*, 130:627-630.
- 17 — WHITTLESEY, P. & HEWITT, W. L. — 1948 — Serum concentrations of penicillin following administration of crystalline procaine penicillin G in aqueous suspension. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 68,3:658-661.

AÇÃO DOS EXTRATOS DE CORTEX SUPRARRENAL SOBRE O QUADRO LEUCOCITÁRIO E SOBRE O TEOR DE ANTICORPOS DO SANGUE PERIFÉRICO DO COELHO

SYLVIO SOARES DE ALMEIDA
JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES
JOSÉ LOPES NETTO

Médicos do Inst. Adolfo Lutz

A relativa constância na composição quantitativa dos elementos celulares do sangue periférico, tem levado à suposição de uma possível regulação endócrina da hematopoiese. Os argumentos de ordem experimental e clínica em que se baseava essa suposição eram passíveis de sérias críticas, mas de alguns anos para cá, novas perspectivas foram abertas com a demonstração de que o baço exerce uma ação de natureza hormonal sobre a medula óssea, e de que a cortex da suprarenal atua sobre os órgãos linfopoiéticos.

Em 1943 Dougherty e White¹ verificaram que a administração a camundongos de hormônio córtico-trópico hipofisário puro, determinava uma redução apreciável do volume dos órgãos linfáticos; posteriormente² os mesmos autores demonstraram, em camundongos e ratos, que a administração sub-cutânea de uma única dose de hormônio corticotrópico hipofisário ocasionava notáveis alterações na distribuição quantitativa dos leucócitos do sangue circulante. Essas alterações, que já eram evidentes ao fim de três horas e que atingiam o máximo ao fim de nove horas após a injeção do hormônio, consistiam essencialmente em: 1.º diminuição do número total de leucócitos; 2.º diminuição do número total de linfócitos; 3.º aumento do número total de polimorfonucleares. A ação do hormônio córtico-trópico era exercida através das cápsulas suprarenaes, pois não se manifestava nos animais previamente adrenalectomizados; por outro lado, os mesmos efeitos do hormônio-

hipofisário eram obtidos com a injeção de extratos aquosos da cortex suprarenal em animais normais ou adrenalectomizados. Estudando diversos hormônios esteroides da cortex, *Dougherty* e *White*³ demonstraram que somente os compostos dotados de atividade neoglicogênica (hormônios do grupo S, com oxigênio em C₁₁) eram capazes de produzir as alterações hematológicas quantitativas obtidas com o hormônio córtico-trópico hipofisário ou com os extratos aquosos ou oleosos da cortex suprarenal. Verificaram além disso que, dos elementos celulares do sangue periférico, apenas os linfócitos eram controlados pelo mecanismo hormonal hipofisário-cortical, sendo inespecíficas as modificações numéricas dos polinucleares pois ocorriam também em animais adrenalectomizados nos quais eram injetadas substâncias diversas.

A existência destes efeitos hormoniais sobre os leucócitos do sangue circulante tem sido confirmada, não somente nos animais de laboratório,^{4, 5, 6} mas recentemente também no homem.⁷

Estudando o aspecto histológico dos órgãos linfopoieticos (ganglios, baço, timo e placas de Peyer) nos animais tratados com hormônio córtico-trópico hipofisário ou com extratos corticais, *White* e *Dougherty*⁸ e *Dougherty* e *White*⁹ observaram alterações degenerativas evidentes nas células linfáticas, que sugeriam uma dissolução citoplasmática, e que se associavam a um aumento das proteínas do soro. Baseados nestas observações, e também no conhecimento de que os linfócitos do sangue circulante intervêm na produção de anticorpos,¹⁰ *Dougherty* e col.^{11, 12} e *Chase* e col.¹² estudaram a produção de anticorpos em animais de laboratório submetidos a tratamento com extratos da cortex suprarenal. Estes AA. verificaram que a administração dos extratos corticais em doses repetidas, durante o período de imunização, favorecia a produção de anticorpos. Verificaram também que em animais hiperimunizados, o teor de anticorpos do soro — que não mais podia ser influenciado por repetidas injeções de antígeno — era suscetível de novos aumentos pela administração de uma única injeção de extrato cortical; além disso, uma única dose dos hormônios corticais era capaz de condicionar o aparecimento de uma reação anamnésica nos animais anteriormente imunizados, mas cujo soro não mais revelava a presença de anticorpos. Estas pesquisas que estabeleciam um papel destacado da cortex suprarenal nos fenô-

menos imunitários, através da ação dos corticosteroides sobre a liberação dos anticorpos linfocitários, não têm sido confirmadas por outros autores.

O presente trabalho foi realizado com a finalidade de observar as alterações quantitativas dos leucócitos sanguíneos e as possíveis modificações no teor de anticorpos do soro, produzidas no coelho pela administração de extratos de cortex suprarenal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 11 coelhos machos, com peso aproximado de 2,5 quilos, da criação do Instituto Adolfo Lutz. Antecedendo o período propriamente experimental foram realizadas em cada coelho 2 ou 3 contagens globais e específicas em dias sucessivos, de modo a afastar a possibilidade de que as modificações numéricas, por ventura encontradas, pudessem depender de modificações quantitativas, que é sabido ocorrem espontaneamente nos coelhos.¹⁴ Entre 8 e 9 horas da manhã procedeu-se em cada animal a uma contagem global e a feitura de esfregaços para a contagem diferencial. O sangue foi obtido da veia marginal da orelha, evitando-se condições de estase. Uma vez retirado o material necessário, injetava-se por via sub-cutânea 10 centímetros cúbicos de extrato aquoso de cortex suprarenal; foram utilizados dois preparados comerciais,* contendo de 50 a 65 unidades-cão por centímetro cúbico. Decorridas aproximadamente 7 horas após a injeção do extrato, repetiam-se as contagens global e específica; no caso dos animais imunizados retirava-se também sangue para aglutinação e avaliação do teor de anticorpos do soro. As contagens foram realizadas segundo os métodos usuais em hematimetria; os esfregaços foram efetuados em lâmina e corados pelo Wright, sendo contadas 200 células. Para avaliação dos efeitos dos hormônios corticosteroides sobre a produção de anticorpos foram imunizados 7 coelhos, tendo sido empregados os seguintes antígenos: *Shigella paradysenteriae*, tipo Z (3 coelhos); *Sh. paradysenteriae*, tipo Boyd D19 (1 coelho); *Salmonella oranienburg* (1 coelho); antígeno

(*) Os produtos empregados foram fornecidos pelos laboratórios Laborerápica S. A., por intermédio do Sr. Álvaro O. A. Lima, e Parke, Davis & Cia., a quem agradecemos.

somático de salmonela (1 coelho); antígeno flagelar de salmonela (1 coelho). Os animais foram imunizados de acôrdo com os processos habitualmente usados no preparo de sôros aglutinantes. Não se procurou obter um título máximo, de modo que as aglutinações foram suspensas assim que foi verificada a existência de títulos habitualmente considerados satisfatórios para os sôros aglutinantes diagnósticos; os animais foram então conservados no laboratório até desaparecimento ou redução apreciável do teôr de anticórpos do sôro, o que foi determinado por aglutinações repetidas periòdicamente, em intervalos de duração variável (algumas semanas a alguns mêses). As aglutinações foram feitas em tubo, pelo processo habitual das diluições sucessivas em múltiplo de 2; as leituras foram efetuadas a olho nú, após 24 horas na estufa a 56°.

RESULTADOS

As modificações do quadro leucocitário do coelho, determinadas pela injeção sub-cutânea de 10 cc de extrato aquoso de cortex suprarenal, estão representadas no quadro 1. O número total dos leucócitos não sofreu alterações dignas de nota em 3 animais (n.^{os} 5, 7 e 9); nos 8 restantes houve modificações significativas, representadas por aumento dos glóbulos brancos em 7 animais e por diminuição em 1 (n.^o 4). Independentemente do sentido da variação do número total de leucócitos sempre houve aumentos dos neutrófilos (pseudo-eosinófilos), compreendido entre mais 17% e mais 398%, e diminuição dos linfócitos, que variou desde o mínimo de — 18% até o máximo de — 82%. O número de eosinófilos não se alterou em 7 animais; nos 4 restantes houve redução de 100%. Os basófilos e os monócitos, ao contrário dos outros três tipos celulares acima referidos não mostraram modificações com tendência constante para um determinado sentido, havendo variações muito amplas tanto para mais como para menos, em relação ao número anterior à injeção do extrato.

O quadro 2 mostra os resultados das aglutinações realizadas com os sôros dos animais previamente imunizados e submetidos a uma única injeção de extrato cortical.

QUADRO I

Coelhos	Cont. global	Neutrófilos		Eosinófilos		Basófilos		Linfócitos		Monócitos		% de modificação		
		%	Global	%	Global	%	Global	%	Global	%	Global	Neutrófilos	Eosinófilos	Linfócitos
1	8500 * 17500 **	34,5 73,5	2932 12899	0 0	0 0	1,0 0	85 0	63,5 25,0	5397 4387	1,0 1,5	85 263	+ 339	0	- 19
2	10500 13500	47,0 65,5	4935 8842	0 0	0 0	0,5 0,5	52 67	50,5 32,5	5302 4387	2,0 1,5	210 202	+ 79	0	- 18
3	11200 14500	53,0 79,5	5939 11527	0 0	0 0	2,0 1,5	224 217	42,5 17,5	4760 2537	2,5 1,5	280 217	+ 94	0	- 47
4	22300 11050	30,5 74,0	6954 8177	0 0	0 0	0 0,5	0 55	66,5 25,5	15162 2817	3,0 0,5	684 55	+ 17	0	- 82
5	11300 11450	48,0 73,5	5424 8415	0,5 0	56 0	4,5 6,5	508 744	46,5 18,0	5254 2061	0,5 2,0	56 229	+ 55	- 100	- 61
6	6850 9000	60,5 80,5	4144 7245	0 0	0 0	2,5 0,5	171 45	32,0 17,0	2192 1530	5,0 2,0	342 180	+ 74	0	- 31
7	13900 14400	51,0 85,5	7089 12312	0 0	0 0	1,0 2,5	139 360	46,0 11,0	6394 1584	2,0 1,0	278 144	+ 73	0	- 76
8	7900 16400	47,5 79,0	3752 12956	1,0 0	79 0	2,0 3,5	158 574	49,0 16,0	3871 2624	0,5 1,5	39 246	+ 245	- 100	- 33
9	11400 11000	55,0 76,0	6270 8360	0,5 0	57 0	0,5 0	57 0	44,0 21,0	5016 2310	0 3,0	0 330	+ 33	- 100	- 54
10	16750 20700	57,0 77,0	9547 16042	0 0	0 0	1,0 1,5	167 310	41,0 20,0	6867 4140	1,0 1,0	167 207	+ 68	0	- 40
11	6700 11050	20,0 60,5	1340 6685	1,5 0	100 0	1,5 1,0	100 110	76,5 38,5	5125 4254	0,5 0,0	33 0	+ 398	- 100	- 17

* - contagem inicial

** - contagem 7 horas após a administração do extrato cortical

QUADRO II

COELHOS	TÍTULO ANTERIOR		Título posterior	Antígeno
	Título obtido	Título presente		
1	1/12500	1/6400	1/6400	Sh. paradysenteriae tipo Z
2	1/12800	1/3200	1/3200	Sh. paradysenteriae tipo Z
3	1/3200	1/200	1/400	Salmonella Cranienburg
8	1/12800	1/1600	1/3200	Sh. paradysenteriae tipo Z
9	1/2600	0	0	Salmonella "O"
10	1/3200	0	1/200	Salmonella "H"
11	1/1600	0	0	Sh. paradysenteriae tipo Boyd D19

Na coluna assinalada "Título anterior" estão representados os títulos obtidos pela imunização, e, a seguir, os títulos presentes no dia da injeção dos extratos da córtex; a coluna "Título posterior" refere-se aos valores encontrados 7 horas após a administração dos corticosteróides. Verifica-se que em nenhum dos animais houve aumento do título até os valores obtidos no período final das imunizações. Relativamente aos títulos existentes no dia da injeção dos extratos não houve nenhuma alteração em 4 coelhos (ns. 1, 2, 9, 11); nos 3 restantes (ns. 3, 8 e 10) notam-se elevações discretas.

DISCUSSÃO

Os resultados reproduzidos no quadro I confirmam integralmente as afirmativas de outros autores relativamente à ação dos extratos da cortex suprarenal sobre o quadro leucocitário periférico. As alterações numéricas encontradas por nós, a saber: aumento do número dos neutrófilos e diminuição do número dos linfócitos, são inteiramente comparáveis às referidas na literatura; a constância e intensidade destas modificações não deixam dúvidas quanto à sua realidade. Relativamente ao número total dos leucócitos, a alteração mais frequente consistiu em uma leucocitose, que se manifestou em 7 dos 8 animais que mostraram modificações significativas. A ocorrência pouco frequente de uma leucopenia no coelho, ao contrário do que tem sido verificado no camundongo e no rato, deve ser atribuída às diferenças que existem normalmente nas proporções relativas dos granulócitos e dos linfócitos nessas espécies animais.

Recentemente foi demonstrado por Gorman Hills e colaboradores⁷ que o número dos eosinófilos do sangue circulante tam-

bém é controlado pela atividade hormonal hipofisário-cortical; este contrôle parece mesmo ser mais evidente do que o exercido sôbre os linfócitos. Baseados nesta demonstração Thorn e cols.¹⁵ utilizaram a contagem dos eosinófilos do sangue periférico para o diagnóstico da atividade funcional da cortex suprarenal. O método utilizado por nós não se presta para uma apreciação mais exata no que diz respeito às variações quantitativas dos eosinófilos, pois frequentemente estas células não foram encontradas no decorrer das contagens; julgamos justificável, entretanto, ressaltar a sua ausência completa nos 4 animais em que elas existiam anteriormente à injeção dos extratos corticais.

As modificações numéricas encontradas nos basófilos e nos monócitos foram muito variáveis, não sômente no sentido como também na intensidade, contrastando com a uniformidade da resposta observada nos outros três tipos de leucócitos. Esta variabilidade sugere a inexistência de qualquer ação dos corticosteróides sôbre os granulócitos basófilos e sôbre os monócitos do sangue periférico.

As provas de aglutinação realizadas com os sôros dos coelhos prèviamente imunizados, não revelaram nenhuma ação favorecedora dos extratos da cortex suprarenal sôbre a produção de anticorpos, não se confirmando, portanto, as observações anteriores de Dougherty e col.^{11,12} e de Chase e col.¹³ As pequenas elevações nos títulos, observadas em três coelhos devem ser interpretadas como não significativas, pois estão dentro dos limites de êrro inerentes ao método utilizado na feitura das aglutinações. Estes resultados concordam com os obtidos por outros autores^{16,17,18}, os quais, utilizando-se de métodos mais precisos (determinação quantitativa de precipitinas, eletroforese), não puderam demonstrar efeitos atribuíveis aos hormônios corticais, quer no que diz respeito a um aumento na concentração de anticorpos do sôro, quer relativamente a uma elevação na concentração da fração globulina do plasma.

CONCLUSÕES E SUMÁRIO

1. A injeção subcutânea de extratos aquosos da cortex suprarenal produz modificações quantitativas acentuadas na fórmula

leucocitária do coelho, caracterizadas por aumento do número dos granulócitos neutrófilos e por diminuição do número dos linfócitos.

2. O número dos granulócitos basófilos e dos monócitos, não é influenciado de modo evidente pelos hormônios corticais.

3. A administração dos extratos aquosos da cortex suprarrenal a coelhos previamente imunizados não revela nenhum efeito favorecedor dos hormônios corticais sobre a produção de anticorpos.

SUMMARY

The AA. study the effects of adrenal cortical hormones on the blood picture and on the production of antibodies, in the rabbit. The sub-cutaneous injection of 10 ml. of aqueous adrenal cortical extracts produces an increase in the number of neutrophils (pseudo-eosinophils), and a decrease in the number of lymphocytes of the peripheral blood. There was no apparent effect on the production of antibodies, as revealed by the failure of the cortical hormones to increase the titer of agglutinative sera of rabbits previously immunized with bacterial antigens.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — DOUGHERTY, T. F. e WHITE, A. — 1943 — Effect of pituitary adrenotropic hormone on lymphoid tissue. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 53:132-133
- 2 — DOUGHERTY, T. F. e WHITE, A. — 1943 — Influence of adrenal cortical secretion on blood elements. *Science* 98:367-369.
- 3 — DOUGHERTY, T. F. e WHITE, A. 1944 — Influence of hormones on lymphoid tissue structure and function. The role of the pituitary adrenotropic hormone in the regulation of the lymphocytes and other cellular elements of the blood. *Endocrinology* 53:1-14.
- 4 — REINHARDT, W. O., ARON, H., e LI, C.H. — 1944 — Effect of adrenocorticotrophic hormone on leukocyte picture of normal rats and dogs. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 57: 19-21.
- 5 — DOUGHERTY, T. F., e WHITE, A. — 1947 — An evaluation of alterations produced in lymphoid tissue by pituitary-adrenal cortical secretion *J. Lab. & Clin. Med.* 32:584-605.

- 6 — VALENTINE, W. N., CRADDOCK, C. G. e LAWRENCE, S. J. — 1948 — Relation of adrenal cortical hormone to lymphoid tissue and lymphocytes. *Blood*, 3:729-754.
- 7 — GORMAN HILLS, A., FORSHAM, P. H. FINCH, C. A. — 1948 — Changes in circulating leukocytes induced by the administration of pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in man. *Blood*, 3:755-768.
- 8 — WHITE, A. e DOUGHERTY, T. F. — 1944 — Influence of pituitary adrenotrophic hormone on lymphoid tissue structure in relation to serum proteins. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:26-27.
- 9 — DOUGHERTY, T. F., e WHITE, A. — 1945 — Functional alterations in lymphoid tissue induced by adrenal cortical secretion. *Am. J. Anat.* 77:81-116.
- 10 — HARRIS, T. N., GRIN, E., MERTENS, E., e EHRICH, W. E. — 1945 — The role of the lymphocyte in antibody formation. *J. Exper. Med.* 81:73-83.
- 11 — DOUGHERTY, T. F., WHITE, A., e CHASE, J. H. — 1944 — Relationship of the effects of adrenal cortical secretion on lymphoid tissue and on antibody titer. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:28-29.
- 12 — DOUGHERTY, T. F., CHASE, J. H. e WHITE, A. — 1945 — Pituitary-adrenal cortical control of antibody release from lymphocytes. An explanation of the anamnestic response. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:135-140.
- 13 — CHASE, J. H., WHITE, A. e DOUGHERTY, T. F. — 1946 — The enhancement of circulating antibody concentration by adrenal cortical hormones, *J. Immunol.* 52:101-112.
- 14 — CHENG, S. C. — 1930 — Leucocyte counts in rabbits: observations on the influence of various physiological factors and pathologic conditions. *Am. J. Hyg.* 11:449-533.
- 15 — THORN, G. W., FORSHAM, P. H., GARNET PRUNTY, F. T., e GORMAN HILLS, A. — 1948 — A test for adrenal cortical insufficiency. The response to pituitary adrenocorticotrophic hormone. *J. A. M. A.* 137:1005-1009.
- 16 — LI, C. H. e REINHARDT, W. O. — 1947 — Electrophoresis of rat plasma. II. The effect of adrenocorticotrophic hormone. *J. Biol. Chem.* 167:487-493.
- 17 — EISEN, H. N., MAYER, M. M., MOORE, D. H., TARR, R. e STOERK, H. C. — 1947 — Failure of adrenal cortical activity to influence circulating antibodies and gamma globulin. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 65:301-306.
- 18 — HARRIS, S., e HENLE, W. — 1948 — Lymphocitopenia in rabbits following intravenous injection of influenzal virus. *J. Immunol.* 59:9-20.

CONSIDERAÇÕES EM TORNO DA OCORRÊNCIA DE ÓVOS DE HELMINTOS DA FAMÍLIA *TRICHOS- TRONGYLIDAE* (LEIPER, 1912) EM FÉZES HUMANAS

MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA

Médico do Instituto Adolfo Lutz.

1 — INTRODUÇÃO

Nos exames parasitológicos de fézes humanas realizados na nossa secção, têm ocorrido com certa frequência, o aparecimento de óvos semelhantes aos de Ancilostomidae, maiores porém e mais alongados, os quais não duvidamos, pertencem à espécie da família Trichostrongylidae.

Julgamos de interesse a publicação desta nota por vários motivos. Os raros dados da bibliografia nacional bem demonstram que o diagnóstico preciso destes óvos não é do conhecimento geral, razão pela qual não existem dados de sua incidência entre nós.

Temos a impressão de que esses óvos são diagnosticados como sendo de Ancilostomidae e por mais de uma vez, tivemos a confirmação objetiva deste fato; erro este razoável, uma vez que de fato são óvos semelhantes à primeira vista.

Com o decorrer do tempo, o microscopista habitua-se a diferenciá-lo com mais facilidade.

Poder-se-ia objetar que esse diagnóstico não teria importância sob o ponto de vista prático, uma vez que a terapeutica visando os parasitas seria a mesma, quer se tratasse de Ancilostomidae, quer de Trichostrongylidae.

Ora, não é assim, uma vez que os últimos são muito mais resistentes que os primeiros à ação letal dos anti-helminticos, sendo

(Enviado para publicar em janeiro de 1948)

pois dificilmente removíveis, levando o clínico a formar juízo errôneo sobre a eficácia da droga usada.

Sob o ponto de vista científico, o diagnóstico parasitológico, como aliás qualquer outro diagnóstico, deve ser o mais rigoroso possível por óbvias razões e isto só justificaria a presente nota, em que queremos chamar atenção dos pesquisadores para esta questão.

E' obvio ainda, o interesse do diagnóstico correto sob o ponto de vista sanitário.

2. SISTEMÁTICA

Dentre os gêneros da família Trichostrongylidae, apenas dois contém espécies que podem parasitar o homem — os gêneros Trichostrongylidae e Haemonchus — porém pela morfologia dos ovos apenas ou mesmo das larvas é impossível diagnosticar seja a espécie, seja o gênero, razão pela qual referimo-nos a óvos de Trichostrongylidae.

Isto à exemplo do que se faz ao diagnosticar "óvos de Ancylostomidae" uma vez que na prática, não se podem distinguir óvos de Ancylostoma duodenale, de óvos de Necator americanus.

O diagnóstico da espécie infestante só poderia ser feita pelo exame do helminto adulto, recuperado das fézes após administração de anti-helmínticos ou então, por larvas obtidas por cultura adequada dos óvos.

Inoculadas as larvas em animais de laboratório, tentar-se-ia uma vez bem sucedida a infestação, recuperar os helmintos adultos. Afirma Tsuchiya¹ que a identificação da espécie pode ser feita pelo estudo das larvas desenvolvidas em culturas, porém não explica qual o critério para a identificação específica.

A família Trichostrongylidae pertence á super-família Strongyloidea Weinland, 1858 abrangendo um grupo de helmintos de grande importância médico veterinária; entre nós, Travassos, ² fundador da Escola Brasileira de Helminologia fez exaustiva revisão da família Trichostrongylidae.

De Cesar Pinto ³ transcrevemos a seguinte descrição da referida família e gêneros principais:

Família Trichostrongylidae Leiper, 1912.

Strongyloidea pequenos, delgados, geralmente de colorido avermelhado ou pardacento, quando vivos. Macho com bolsa copuladora bem desenvolvida e raios bursais nítidos. Dois espículos semelhantes curtos e grossos ou longos e filiformes. Boca pequena e sem lábios. Cápsula bucal ausente ou rudimentar, sem coronula frangeada. Esôfago longo e pouco musculoso. A fêmea com aparelho genital simples ou duplo, com vulva situada na metade posterior do corpo; em geral ovíparas. Infestação através da pele ou mucosa, provavelmente com ciclo pulmonar. Parasitos do estomago e intestino delgado de mamíferos e aves.

1.º Sub Família Trichostrongylinae (Leiper), 1908.

Extremidade cefálica com ou sem dilatação cuticular. Papilas cervicais mais ou menos desenvolvidas. Fêmeas didelfas, raramente com o ramo genital posterior atrofiado: extremidade posterior do corpo terminado em ponta aguda ou obtusa. Machos com bolsa copuladora ampla, simétrica, de lóbulo posterior mais ou menos desenvolvido, raramente assimétrico. Papilas pré-bursais e membrana bursal acessoria presentes ou não. Espículos relativamente curtos, fortes e de morfologia complexa. Gubernáculo e telamon presentes ou não. Parasitos do tubo digestivo dos vertebrados.

1.º Gênero Trichostrongylus Looss, 1905.

Trichostrongylinae sem dilatação cuticular cefálica, com bolsa copuladora bilobada, sem lóbulo dorsal nítido: raio ventro-ventral dirigido para diante, mais curto e muito mais delgado do que o raio ventro-lateral que se dirige para diante. Raio dorsal simétrico, delgado e bifurcado na região apical. Espículos curtos; gubernáculo alongado e navicular. Parasitos do estomago e intestinos delgado de mamíferos e aves.

2.º Gênero Haemonchus Cobb, 1898.

Trichostrongylinae sem dilatação cuticular cefálica, com bolsa copuladora trilobulada; lóbulo dorsal e raio dorsal assimétricos. Espículos curtos; gubernáculo fusiforme. Parasitos do estomago e intestino delgado de ruminantes.

Outros gêneros: Ostertagia Ranson, 1907
Cooperia Ranson, 1907
Hyostrongylus Hall, 1921

São de interesse médico e veterinário os dois primeiros gêneros acima referidos.

No gênero *Trichostrongylus*, a espécie *T. extenatus*, parasita do estomago e intestino delgado de animais caprinos e bovinos, é segundo L. Travassos a mais frequente do Brasil, associada à espécies do gênero *Ostertagia*. A espécie *T. colubriformis* é a mais rara deste gênero. Estas espécies normalmente são parasitas de ruminantes e apenas excepcionalmente são encontradas parasitando o homem, enquanto a espécie *T. orientalis* é parasita preferencial do homem, sendo encontrada em grande escala no Japão, Koba, Formosa, China, onde foi descrito por Kataro Jimbo em 1914. Também foi encontrada no carneiro e camelo.

Localizando-se na mucosa do aparelho digestivo de seus hospedeiros, estes nematodeos produzem extravasão de sangue e possivelmente injetam fluidos hemolíticos, acarretando quando em grande número, anemia e distúrbios digestivos severos. No homem podem acarretar distúrbios semelhantes aos causados pela Ancilostomose.

3 — INCIDENCIA DA TRICHOSTRONGYLOIDOSE HUMANA

Chandler usando a técnica de centrifugação de Lane encontrou óvos de *Trichostrongylus* em 10% ou mais dos trabalhadores dos jardins de chá do Bengala, onde Maplestone ⁴ os encontrou entre os limites de 9,1 — 25%, de acôrdo com a estação climática. Boulanger trabalhando sem métodos de enriquecimento encontrou-os na proporção de 1,2% em pacientes dos hospitais indianos, na Mesopotamia, na Grande Guerra. Segundo Maplestone, os resultados da Escola de Medicina de Calcutá mostraram a incidência de 1,1% sobre 15.578 fézes examinadas durante 11 anos. Sweet, em Nysore, encontrou-os em 11.000 fezes examinadas, em 0,6%.

Todos estes dados referidos por Maplestone dizem respeito a óvos de *Trichostrongylus* por não haver referência de espécies, acreditando o referido autor que pertençam às espécies *T. colubriformis*, *T. probulorus* e *T. vitrinus*.

Van Slype (1934) citado por Watson⁵, encontrou-os associados com Ancilostomidae em 10% dos nativos do Congo Belga (Lomani); Webb encontrou-os em 8% dos casos examinados em Mauritius. Baer relata 2 casos de infestação humana na Suíça; Schenken e Moss descobrem um caso autóctone nos Estados Unidos. No Japão, Kobaydshi, China e Fuyama, (1929) encontraram apenas ovos de *T. orientalis* em 3,3% das crianças de Keijo, Chosen; 24,4% das normais crianças apresentavam infestação mista de *T. orientalis* e Ancilostomidae. Os mesmos autores, em soldados de Chosen encontraram a incidência de 32,4% de *T. orientalis*.

K. Jimbo citado por Tsuchyia encontrou a incidência de 32,3% de *T. orientalis* sobre 1.215 fézes examinadas em sua clínica no Japão. Tsuchyia refere um caso nos E. Unidos, de um paciente de nacionalidade grega, em cujas fézes foram encontrados ovos diagnosticado como sendo de *Trichostrongylus*. Meira, Pinto e Fonseca⁶ em 1946, descreveram 6 casos de infestação humana por *T. colubriformis* em sírios-libaneses que haviam residido na Guiné Portuguesa.

Entre nós, a única referência ao achado de ovos de *Trichostrongylus* em fézes humanas, é feita por C. Pinto ao se referir ao *T. orientalis*, quando diz textualmente: "helminto oriundo do Japão e encontrado em 2,1% dos emigrantes japonezes residentes no Estado de São Paulo, onde naturalmente deve ter se adaptado. Introduzido com a imigração japonesa para o Brasil. Observado em São Paulo pelo Prof. Akiro Fuginami (1928)". Este último, Prof. da Universidade de Kyoto, Japão, esteve em estudos de sua especialidade nos núcleos de colonização japonesa,⁷ no Brasil.

O gênero *Haemonchus* contém espécies de grande significação econômica e de maior importância em patologia veterinária, na humana em menor grau. Assim é que *H. contortus* é parasita cosmopolita de bovinos, caprinos, ovinos etc., sendo a única espécie deste gênero que tem sido encontrada como parasitando acidentalmente o homem, inclusive no Brasil, onde o Dr. P. S. de Magalhães descobriu um caso, ao identificar como *H. contortus* nematodeos que recebera do Dr. Von Bassevitz, de Santa Vitória do Palmar, Rio Grande do Sul. Tratava-se de um paciente que apresentava sinais mórbidos de ancilostomose, o que levou o

Dr. Von Bassevitz a prescrever thymol, sendo eliminados parasitas que o próprio médico verificou não serem *Ancilostoma duodenalis*, remetendo-os então ao Prof. P. S. Magalhães. Travassos ao se referir ao *H. contortus* assinala ter examinado alguns exemplares provenientes do homem, pertencentes ao Dr. Adolfo Lutz.

Outras espécies existem parasitando exclusivamente ruminantes, tendo sido efetuada completa revisão do gênero *Haemonchus* entre nós, por J. L. de Almeida. A "Haemonchose" representa na patologia bovina e ovina um papel equivalente em importância ao da ancilostomose humana, sendo de disseminação alta entre nós, atingindo a cêrca de 50% de nossos rebanhos bovinos, suínos e caprinos. As perturbações fisiológicas que acarretam por ação irritativa, expoliadora e talvez tóxica, clinicamente traduzem-se por anemia progressiva, perturbações digestivas etc, acarretando logicamente um menor rendimento das funções econômicas explorados nos referidos rebanhos.

Detalhemos, a seguir, a incidência dos óvos de *Trichostrongylidae* desde o ano de 1942, nos exames parasitológicos realizados na secção de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz.

A maior parte destes exames refere-se a material procedente de Saúde Escolar, isto é, de crianças matriculadas nos grupos da capital, residentes na maioria em zonas suburbanas ou nos limites de zonas urbanas da capital. Apenas 3 casos referem-se a adultos, os demais a crianças com idade oscilando dos 7 aos 14 anos.

Com exceção de um caso de nacionalidade síria, todos os demais são brasileiros natos.

Apenas dois casos são de infestação por *Trichostrongylidae*, os demais são polihelmintíase.

Na execução dos exames foram empregados os métodos rotineiros; o exame direto entre a lâmina e a lamínula e o método de enriquecimento de Willis.

Ano	Total de exames realizados	Total de exames positivos para verminose	Total de exames post.t. p/ trichost.
1942	5940	3883	1
1943	5851	3437	2
1944	6137	3828	5
1945	7716	4773	1
1946	6014	4000	34
1947	7039	4481	13
1948	8254	4928	19
	46.951	29.330	75

4. — DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DO ÓVO

Como já frisamos, o diagnóstico da infestação dos helmintos da família Trichostrongylidae é baseado no achado dos característicos óvos nas fézes, o que nem sempre é fácil, uma vez que em geral é muito pequeno o número de óvos eliminados. Já salientamos a confusão com óvos de Ancilostomide e a impossibilidade do diagnóstico diferencial dos óvos do gênero *Trichostrongylus* e *Haemonchus*.

Os óvos são alongados, ovoides, com membrana fina e hialina, sendo uma das extremidades do ovo em geral mais afilada, a outra sendo arredondada, o que sugeriu a Maplestone, a comparação com o formato de ovo de galinha.

Em geral apresentam-se em estado de morulas com 16 a 24 blastômeros, mais raramente com larva em seu interior. São eliminados em número relativamente baixo, encontrando-se em geral 2-4 por lâmina: Webb encontrou, em média, 3-4 óvos por grama de fézes. Watson, num caso em que fez a contagem achou 300 óvos por grama. Frequentemente apresenta uma das faces achatadas, à semelhança de óvos de *Enterobius vermicularis*.

As dimensões dos óvos referidos pelos diferentes autores são extremamente variáveis, evidenciando ser impossível a diferenciação específica tomando por base as referidas dimensões.

Van Slype refere-se as dimensões de 73-80u x 37-42 u; Webb encontrou pela *Trichostrongylus* sp. — 75 — 104 u x 29-50 u. Watson, num caso 71-105 x 38 — 50 u (média 87 x 46).

Tsuchyia e Reller encontraram as seguintes dimensões: 81 a 97 micras em comprimento por 40 a 51 de largura — média 86 x 43.

Maplestone encontrou medindo 20 óvos as seguintes dimensões: 80, 2 — 95,5 micras de comprimento por 42,4 — 55,3 de largura — média 88,8 x 48,3. Em 20 óvos de ancilostomo encontrou a média de 62 x 40,8.

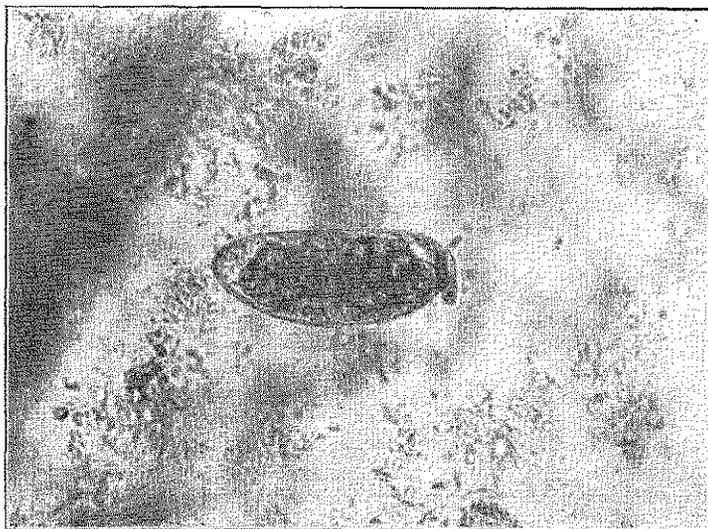
Tivemos oportunidade de medir 115 óvos de *Trichostrongylidae* com os seguintes resultados: 81 — 104 micras de comprimento por 40 — 48 micras de largura — média de 91,3 — 43,9.

A diferença entre os diâmetros vertical e horizontal dos óvos de *Trichostrongylidae* é sensivelmente maior de que nos de *Ancilostomidae*, o que lhe confere a forma ovoide alongada, enquanto os de *Ancilostomidae* tendem para a forma elítica, como aliás demonstram claramente os microfotos anexos. *Tsuehyia* lembra que no diagnóstico diferencial devem ser lembrados ovos de *Heterodera marioni*, principalmente porque ovos defeituosos de *Trichostrongylidae* podem ser diagnosticados como de *Heterodera marioni*. Realmente, os ovos típicos deste helminto de vida livre são facilmente reconhecidos pela sua forma elipsoide e pelas massas polares azuladas tão características; suas dimensões oscilam de 82 — 120 micras de comprimento por 24 — 43 de largura. Sendo parasitos de raízes e hastes de rabanetes, aipós, nabos, beterrabas, cebolas, etc. são mais ou menos frequentes entre nós, ocorrendo geralmente na percentagem de 1,5 a 4, % em exames parasitológicos aqui realizados.

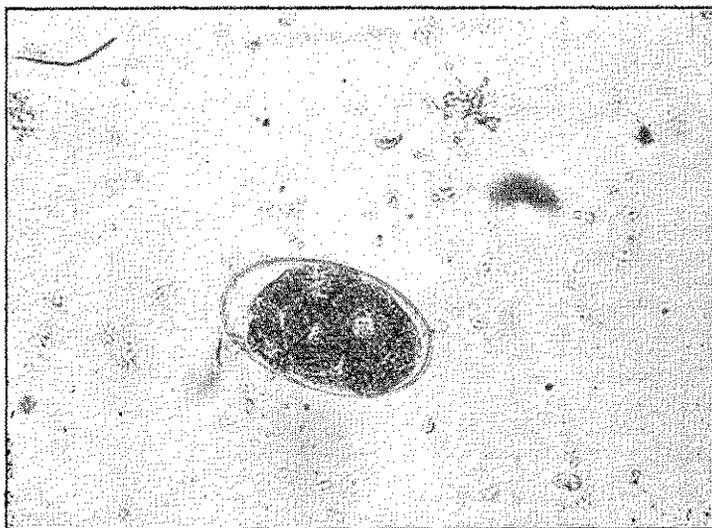
Embora os autores acima referidos afirmem que pela morfologia das larvas é possível fazer o diagnóstico da espécie, não conseguimos pormenores sobre o assunto. Restava-nos por conseguinte, dois caminhos: recuperar os vermes adultos após administração de anti-helmínticos ou tentar a infestação em animais de laboratório por larvas obtidas pela cultura dos óvos e depois, autopsiar o animal para obter o helminto parasita.

Em alguns casos tentamos sem sucesso a eliminação dos parasitos após administração de anti-helmínticos; foram expulsos as outras espécies associadas (*Ancilostomo*, *Enterobius vermicularis* etc.) porém não conseguimos recuperar nenhum *Trichostrongylidae*. Aliás, esta resistência aos anti-helmínticos pelos *Trichostrongylidae* tem sido assinalada por vários autores.

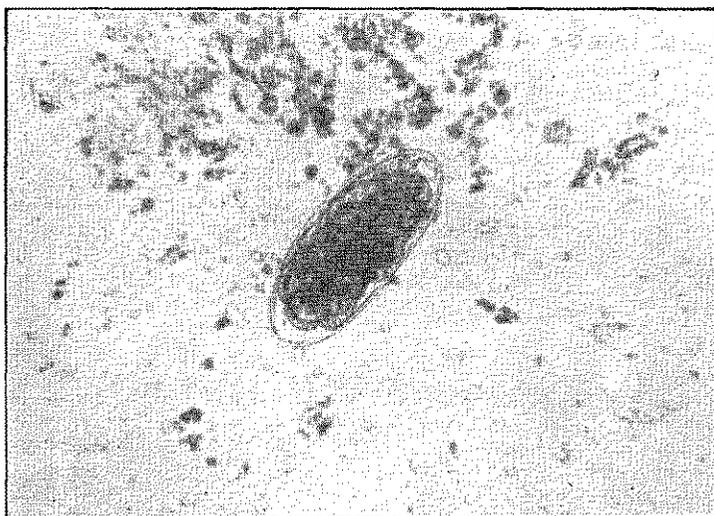
Meira, Pinto e Fonseca praticaram a cultura de óvos de *Trichostrongylidae* obtendo larvas, com as quais tentaram a infestação de macacos, ratos e em voluntários humanos, tendo conseguido a infestação num dos macacos, em cujo intestino recupe-



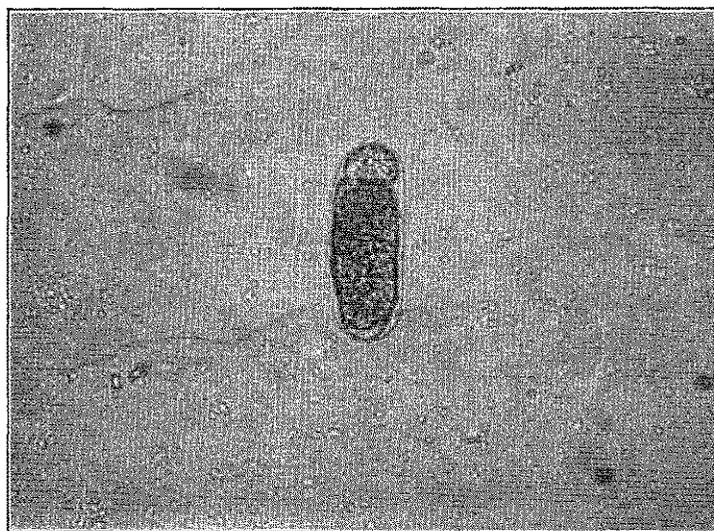
ovo de Trichostrongylidae aumentado cêrca de 350 vezes.



ovo de Anclostomidae aumentado cêrca de 430 vezes.



Óvo de *Trichostrongylidae* aumentado cêrca de 350 vezes



Óvo de *Heterodera maricni* aumentado cêrca de 300 vezes

raram na autopsia 16 exemplares de *Trichostrongylus colubriformis* (Giles 1892), Ranson 1911.

Heydon e Bedrup, em 1939, conseguiram infestar 1 coelho, com larvas obtidas após coprocultura dum caso humano, obtendo na autopsia, exemplares de *T. colubriformis*.

Conseguimos por duas vezes a cultura dos óvos de *Trichostrongylus* em placa de Petri, contendo uma mistura de areia esterilizada, carvão animal e fêzes, conservadas a 25 graus, obtendo no fim de 3-5 dias, larvas com características morfológicas de filariformes e semi-filariformes, as quais foram isoladas por meio de um pequeno aparelho de Baerman. Inoculamos então por via oral, um macaco (*Rhesus*) e por via oral e cutânea um rato branco e uma cobaia. De outra feita, a partir de uma cultura inoculamos larvas em um *Cebus*, um *Rhesus*, uma cobaia e um camondongo. Não conseguimos a infestação de nenhum dos animais inoculados, não nos sendo possível pois, a observação de helmintos adultos.

Fica todavia assinalada a ocorrência de óvos de *Trichostrongylidae* em fêzes humanas, traduzindo a existência desta helmintose em nossa população autochtone.

RESUMO

O A. assinala o achado de óvos de helmintos da família *Trichostrongylidae* em exames de fêzes humanas, realizadas no Instituto Adolfo Lutz: ocorreram 75 casos sobre um total de 46.951 exames efetuados entre os anos de 1942 a 1948, a maioria referindo-se a crianças de idade escolar, pertencente a população autochtone do país.

Não sendo conseguida a eliminação de helmintos adultos após administração de anti-helmínticos, foi tentada a infestação de animais de laboratório por larvas obtidas por meio de cultura de óvos, a qual também não foi bem sucedida. Descreve o A. os óvos encontrados e suas dimensões.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — TSUCHIYA, H e RELLER, H — 1945 — A case of *Trichostrongylus* infection with notes on the identification of ova. *J. Lab. e Clin. Med.* 30:262-266.

- 2 — TRAVASSOS, L. — Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira XIII. Ensaio monográfico da família Trichostrongylidae Leiper 1909 — Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 13:5-135 fasc. 1.
- 3 — PINTO, C. 1928 — Zooparasitos de interesse medico-veterinário — pag. 227.
- 4 — MAPLESTONE, P. A. — 1942 — Trichostrongylus infection in man — resumido no Trop. Dis. Bull. 39:775-776 n.º 11.
- 5 — WATSON, J. M. 1946 — The diferent diagnosis of Hookworm, Strongyloides and Trichostrongylus with special reference to mixed infestations — The Jour. of Med. e Hyg., 49:94-97 n.º 5.
- 6 — MEIRA, M. T. V., PINTO, M. R. e FONSECA, F — 1946 — Alguns casos de infestação humana por Trichostrongylus colubriformis (Giles 1892) Ranson 1911 — Clínica Contemporânea pags. 172-177 n.º 3.
- 7 — FUJINAMI, A., — 1928 — Uma viagem de investigação médica ao Brasil — Sciencia Médica pags. 483-490 n.º 10.
- 8 — MAGALHÃES, P. S. — 1908 — Notes d'helminologie brésilienne — L'Haemonchus contortus comme parasite accidentel de l'homme — Arch. de Parasitologie 12:283-286.
- 9 — ALMEIDA, J. L. — 1935 — Revisão do gênero Haemonchus Cobb, 1898 — Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 30:57-156 fasc. 1.
- 10 — BELDING, D. L. 1942 — 1942 — Textbook of Clinical Parasitology.
- 11 — FAUST, E. C. — 1942 — Human Helminatology.

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO E À APLICAÇÃO DO MÉTODO DE HOWARD NAS CONTAGENS DE COGUMELOS DOS PRODUTOS DE TOMATE

JUAN PADRON G.

Professor de Microbiologia da Escola de Farmácia da Universidade de
Caracas e Chefe da Seção de Controle Microbiológico de Alimentos e
Medicamentos do Instituto de Higiene.

J. B. FERRAZ DE MENEZES JUNIOR

Químico do Instituto Adolfo Lutz.

O presente trabalho tem por fim estudar e sugerir algumas observações aplicadas à técnica de Howard, empregada na contagem microscópica de cogumelos dos produtos de tomate e, bem assim, lembrar a necessidade de ser estipulada em nosso Código Bromatológico, uma cifra ajustada a cada tipo desses produtos, de acôrdo com suas densidades.

A nossa regulamentação oficial estabelece 65% de campos positivos com filamentos micelianos para "produtos de tomate", sem se referir ao estado de concentração apresentado pelos mesmos. Como os extratos e as massas de tomate jamais poderão ter o mesmo teor miceliano dos sucos de que procederam, por evaporação, não é justo tolerar-se para estes sucos uma cifra que somente deverá ser encontrada naqueles concentrados, cujas densidades são sensivelmente mais elevadas.

O método original de Howard (1911) e o de Howard e Stephenson (1917) têm servido de base à elaboração da legislação para controle e classificação dos produtos de tomate de vários países, apesar de não ser um método totalmente perfeito, por apresentar ainda algumas falhas.¹⁵ Tem sido, por êste motivo, alvo de insistentes críticas, muito embora continue sendo o método oficial, o único existente no momento para o fim a que se destina.

O nosso interesse na elaboração deste trabalho surgiu ao notarmos a causa de êrro que poderia advir das conclusões analíticas

de produtos de tomate, apresentando diferentes densidades e, a existência de uma cifra única tolerada pelo nosso Regulamento a todos esses produtos. Idêntica observação se pode fazer neste sentido ao Regulamento Bromatológico da Província de Buenos Aires,¹⁰ ao fixar um limite máximo de 60 campos positivos para os diversos produtos derivados do tomate e ao de Santa Fé,⁴ fixando não mais de 50 campos positivos para os extratos, unicamente.

Moveu-nos a isto, todavia, não o espírito combativo de crítica, porém o desejo de contribuir com uma parcela do nosso esforço à aplicação e ao aperfeiçoamento de um método amplamente adotado nos controles de alimentos.

Fundaram-se nossos ensaios na observação do aumento gradual e progressivo dos micélios de cogumelos nos diversos estágios de concentração do suco de tomate. Para isto usamos frutos nas diversas fazes de maturação e apresentando gradações no seu estado sanitário — desde os aparentemente são aos sensivelmente avariados. Não utilizamos tomates podres ou completamente alterados em nossas experimentações, por considerarmos que semelhante matéria prima resultaria improcedente para fins industriais.

CRÍTICAS AO MÉTODO

As dificuldades existentes em esclarecer alguns detalhes da técnica de Howard, e que são consideradas como falhas, não podem diminuir o valor desse método — o primeiro organizado para o controle microscópico de produtos de tomate.

Não é fácil organizar certos princípios e adaptá-los com felicidade e precisão a normas analíticas, principalmente quando a substância a ser estudada oferece um conjunto de obstáculos provenientes de sua própria contextura, como acontece com os produtos de tomate.

Entre as diversas causas de críticas ao método, poderemos citar as seguintes:

a) exigir de início muita experiência e habilidade do analista, qualidades que não podem ser adquiridas senão após acurada observação e pelo exercício de repetidas contagens;

b) a semelhança estrutural de muitos elementos do tomate com os filamentos de cogumelos, cuja confusão induz o observador ao risco de prejudicar a exatidão da contagem;

c) considerar como positivo tanto o campo que apresente um único micélio de cogumelo com o comprimento mínimo de $1/6$ de seu diâmetro, como o que exhibe um bloco constituído pelo entrelaçamento de numerosos filamentos micelianos abrangendo todo o campo microscópico;

d) a sedimentação de detritos do tomate sobre hifas de cogumelo, prejudicando ou impedindo a sua perfeita visibilidade;

e) a não existência de uma cifra prefixada para produtos com diferentes densidades;

f) a concentração do produto como causa fundamental de erro nas conclusões dos resultados;

g) ser a tomada da amostra para o preparo da solução destinada à contagem feita por medição (cm^3) do material e não por pesada (em grs.), a fim de se chegar a um resultado mais lógico e exato.

Entre as muitas dificuldades apresentadas pelo método de Howard, a do reconhecimento e identificação dos filamentos micelianos e sua diferenciação dos do tomate, parece ocupar o primeiro plano. O esclarecimento ao microscópio destes dois elementos torna-se trabalhoso, não só pela transparência que apresentam, como pela refringência sofrida pelo efeito dos raios luminosos que lhes põem em relevo certos detalhes inexpressivos.

Rivas¹¹ aconselha a diluição do material a examinar, não em água como indica Howard, mas em uma solução de azul de algodão, com o fim de facilitar a coloração do protoplasma do cogumelo e de tornar mais visíveis suas paredes. Ainda assim a dificuldade de identificação destes elementos não foi removida, bem como outras causas, que levam o observador a interpretações errôneas.

As células do mesocarpo do tomate mostram seu protoplasma corado em azul, contrastando com a membrana celular que, permanecendo incolor, dá por juxtaposição de suas paredes, o aspecto de micélios em seus bordos. O mesmo se nota na superfície visível da célula, devido à rugosidade surgida pelo aquecimento e sua

consequente retração durante a elaboração do produto. Idêntico fenômeno é observado ao microscópio nos fragmentos de parênquima do tomate, pela superposição de suas células (Microfoto, 1). A isto se deve a dificuldade de observação, motivada pela concentração e falta de homogeneidade da amostra, como sucede particularmente no caso de produtos tais como extratos e massas de tomate.

Como o azul de algodão não cora os protoplasmas micelianos velhos¹⁵, este fato se torna de suma importância no caso de uma inexperiente observação.

Acontece, muitas vezes, estar sobre a célula, uma hifa mais espessa, hialina e sem tabiques, podendo oferecer ensejo a uma possível confusão com uma dobra da membrana celular (Microfoto, 2).

Podem ser observados, também, sobre a célula, micélios finísimos, curtamente septados, à semelhança de granulações protoplásmicas, e por este motivo, passarem despercebidos.

No campo microscópico aparecem comumente pêlos procedentes do episperma da semente do tomate e outros filamentos, com caracteres aparentemente idênticos aos dos micélios de cogumelo.

Na figura 3, procuramos ilustrar todos êsses detalhes acima mencionados, com aumento de 100 vezes, precisamente como são observados no campo microscópico, a fim de facilitar e objetivar os necessários esclarecimentos que acabamos de fazer.

Haynes⁷ procurando elucidar a semelhança existente entre os filamentos de tomate e os micélios de cogumelo, menciona os seis seguintes caracteres diferenciais:

1) *Segmentação* — Alguns filamentos de cogumelo são segmentados. Os filamentos de tomate nunca são segmentados.

2) *Granulação* — Os filamentos de cogumelo são granulosos. Os filamentos de tomate são limpos, vítreos ou fibrosos.

3) *Paralelismo dos lados das paredes da célula* — Os lados das paredes da célula são sempre paralelos na hifa de cogumelo. Nos filamentos de tomate os lados do filamento frequentemente aparecem comprimidos ou dilatados.

4) *Comparação do Plano Focal ou lado das paredes* — Os dois lados das paredes do micélio de cogumelo estão sempre em foco ao mesmo nível, enquanto que os lados das paredes de outros

filamentos podem vir a fóco em dois níveis diferentes. Estes resultados advêm do fato de serem as hifas filamentos cilíndricos ou tubulares, enquanto que os filamentos de tomate são como fitas.

5) *Caracteres dos ramos* — Entre as hifas ocorrem ramos, de ângulos agudos, que podem perfeitamente não ser notados nos outros filamentos.

6) *Aparência das extremidades dos filamentos* — As extremidades das hifas de cogumelo são arredondadas, porém, nunca desfeitas ou pontegudas como nos filamentos de tomate.

COGUMELOS

Cogumelos ou fungos (Eumicetos), são vegetais pertencentes ao ramo dos Talófitos, formando uma classe diferente das algas por não conterem clorofila. Por êste motivo estão impossibilitados de realizar fotossíntese e de fixar carbono, imprescindível à realização dêsse trabalho de nutrição entre os vegetais. E' esta a razão por que procuram os seres vivos vegetais ou animais e os produtos de decomposição para seu sustento, sendo considerados no primeiro caso como parasitas e no segundo como saprófitos.

São plantas e, entretanto, não apresentam diferenciação entre raiz, caule e folha. Têm estrutura muito simples, reduzida a um talo, donde lhes vem o nome de Talófitos¹⁴.

As formas inferiores (Ficomicetos ou Sifomicetos), são constituídas por filamentos unicelulares, semelhantes a tubos ou sifões, contínuos ou ramificados³. A estas ramificações deu-se o nome de hifas e ao conjunto — de micélio. (fig. 4).

Nos cogumelos superiores (Septomicetos) há uma perfeita diversidade de formas e de estrutura em cada grupo e as hifas apresentam-se separadas por paredes ou tabiques denominados septos³. Fig. 5.

As hifas podem variar de espessura e de comprimento conforme a espécie e as condições do meio e, os micélios, de simples filamento isolado, a um entrelaçado compacto, formando um falso parênquima ou pletênquima. (Microfoto, 6).

A reprodução dos cogumelos se dá por processo sexual ou assexual.

O processo sexual geralmente se realiza por conjugação e é comum aos Zigomicetos, Ascomicetos e Basidiomicetos.

O processo assexual se faz por cissiparidade, gemiparidade e por esporos, geralmente imóveis.

Os esporos têm formas variadas e recebem nomes diversos conforme sua origem: ascospóreos, zoospóreos, esporangiospóreos, zigospóreos, oospóreos, basidiospóreos, confídios, etc.⁹

Associados às bactérias, os cogumelos decompõem as matérias orgânicas, desdobrando-as em água, gás carbônico, hidrogênio, amônia etc.

Há espécies comestíveis, outras extremamente venenosas, algumas empregadas na indústria de fermentações e inúmeras espécies patogênicas tanto para o homem e animais, como para as plantas.

Sendo o tomate muito rico em substâncias nutritivas, está francamente sujeito ao ataque por cogumelos que parasitam o fruto ainda no tomateiro e por espécies saprófitas que prejudicam seriamente os sucos, as massas e os extratos de tomate, em todas as fazes de elaboração do produto industrial.

Os cogumelos são, portanto, um dos causadores principais da deterioração dos produtos de tomate. Daí a necessária observação de uma técnica perfeita e de uma rigorosa assepsia na manipulação desses produtos, como também de uma seleção meticulosa da matéria prima, a fim de ser evitada, pela indústria, a expedição de produtos com elevada concentração miceliana, os quais resultariam impróprios para o consumo e, por consequência, condenados sanitariamente.

As variedades ^{1, 13, 15} mais comumente responsáveis pelos danos causados aos produtos de tomate são:

ALTERNARIA (*Dematiaceæ*) Fig. 7

COLLETOTRICHUM (*Melanconiaceæ*) Fig. 8

FUSARIUM (*Tuberculariaceæ*) Fig. 9

MUCOR (*Mucoraceæ*) Fig. 10.

RHIZOPUS (*Mucoraceæ*) Fig. 11

OIDIUM (*Moniliaceæ*) Fig. 12.

PENICILLIUM (*Aspergillaceæ*) Fig. 13

ASPERGILLUS (*Aspergillaceæ*) Fig. 14

BOTRYTIS (*Moniliaceæ*) Fig. 15

Os três primeiros desta série atacam o fruto antes da colheita, os restantes o fazem logo após a mesma e durante a elaboração do produto.

Na indústria, quando há demora no período de concentração, o suco está sujeito a contaminações, por ser, por sua composição, um meio favorável ao crescimento de microrganismos.

TOMATE

Solanum Lycopersicum L.

Sinonímia: *Lycopersicum esculentum* Mill.

(*Solanaceæ*).

VARIETADES — Numerosas são as variedades de tomates cultivadas em nosso Estado, destinando-se umas, exclusivamente ao consumo fresco, em saladas e temperos, e outras, a fins industriais, na confecção de sucos, mólhos, "ketchups", massas e extratos de tomate. Na indústria de massas, mólhos e conservas de tomate, são usadas as seguintes variedades vermelhas: "Pera" "Rei Humberto", "Purungo", "Redondo", "Alsa Graig", "Triumph", "Radio" e "Canárias"⁸.

CARACTERES BOTÂNICOS — O fruto é uma baga cuja côr varia do amarelo ao vermelho vivo e apresenta fórmãs e tamanhos diversos, chegando a atingir o volume de um caquí. Ferri e Joly⁵, em recente trabalho, referem à possibilidade de serem produzidos, por meio de hormônios sintéticos, tomates partenocárpicos, maiores que os normais da mesma espécie. Possui o epicarpo liso e lustroso, tendo na parte inferior pequena cicatriz genérica e, na superior, em depressão, a cicatriz peduncular que é proeminente.

Tem o mesocarpo polposo e suculento, o endocarpo tênue, pouco volumoso e, numerosas sementes, mergulhadas e envoltas por uma substância gelatinosa que enche duas lojas laterais, simétricas, implantadas na parte mais interna do mesocarpo, onde êste se liga, verticalmente, ao endocarpo. A semente é revestida por densa camada de falsos pêlos, possui resistente espermoderma, dentro do qual, cercado pelo endosperma, se destaca o embrião que é formado, na parte mais central, pelos cotilédones, cilíndricos, alongados e enrolados e, na extremidade oposta e periférica,

pela radícula (fig. 16). Aberta a semente, o embrião se destaca facilmente do endosperma e, por êste motivo, é comumente encontrado nas massas e condimentos de tomate de baixo preço, preparados com o fruto integral, triturado, dando a impressão perfeita de pequenos vermes, pelo seu aspecto e sua côr branco-leitosa, contrastando com a côr vermelho-escura do produto.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — O pericarpo¹⁸ é constituído por 4 camadas:

1) *Epicarpo* — formado por células mais ou menos poligonais, ricas em pigmentos de côr vermelho-alaranjada. A membrana celular é bastante espessa, de côr amarelo brilhante e apresenta o aspecto de rosário ou de fileira de contas irregulares, presas nos ângulos por pequenos triângulos massivos. Ao microscópio com aumento de 400 vezes, estas células são vistas em número de 9 a 12 sôbre o diâmetro do campo, particularidade esta que permite distingí-las das do pimentão, que não ultrapassam o número de 7 células e com as quais apresenta perfeita semelhança morfológica. (Fig. 17).

2) *Hipoderma* — a estrutura é idêntica à do epicarpo, porém suas células são bem maiores.

3) *Mesocarpo* — consta de grandes células arredondadas, alongadas, piriformes ou elipsóides, revestidas por membranas gelificadas, cujos citoplasmas apresentam granulações de matéria corante amarela e vermelha (cromoplastos), identificadas como — caroteno e licopeno¹⁸. Nos frutos maduros, algumas destas células revelam grãos de amido, notados em maior quantidade nos tomates verdoengos. Os grãos de amido são arredondados, elípticos ou piriformes, com estrias numerosas, hilo pontuado e excentrico¹². Sofrendo aquecimento estas células aumentam de volume e o amido perde suas características típicas. Atravessando êste tecido polposo, vêm-se feixes de vasos estreitos, espiralóides, geralmente recobertos por células menores, entremeadas por uma substância de aspecto mucilaginoso que dificultam a perfeita visão da estrutura dos mesmos. Alguns dutos se desprendem do feixe e são vistos, isolados, no campo microscópico. (Fig. 3).

4) *Endocarpo* — formado por um parênquima de células arredondadas, de paredes finas, semelhantes às do mesocarpo, porém menos ricas em granulações de matéria corante.

SEMENTE — O tegumento ou episperma é formado por células isodiamétricas características, de paredes esclerificadas, marcadamente sinuosas (Fig. 18), de onde emanam falsos pêlos, longos, de lumem bastante estreito, de base larga, achatada e ligeiramente triangular. Perisperma pouco evidente, porém facilmente notado por prévio tratamento com soluto de hipoclorito de sódio.

O endosperma e o embrião são constituídos por pequenas células poligonais, cheias de diminutos grãos de aleurona e de gotas oleosas. (Fig. 17). As do endosperma são, porém, maiores.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedemos nossos ensaios partindo de sucos obtidos de 2 quilos de tomates, apresentando graus diferentes de contaminação pela maior ou menor proporção de frutos avariados. Todas as observações foram realizadas nos laboratórios do Instituto "Adolfo Lutz", em São Paulo.

Em todas as amostras, o suco depois de submetido a várias provas analíticas, foi reduzido, por evaporação, aproximadamente à metade de seu volume, em estufa a 55-60°C. Para maior facilidade na compreensão de nossos esclarecimentos, resolvemos chamar ao produto neste 2.º estágio de — Extrato "a".

Logo após terem sido feitas determinações idênticas às primeiras, o extrato "a" foi conservado em estufa até alcançar 1/8 do volume inicial, quando apresentou a contextura dos extratos de tomate comerciais e ao qual denominamos — Extrato "b".

Foram também procedidas neste extrato "b" as mesmas práticas anteriores, que constaram de contagens microscópicas, determinações da umidade, do extrato seco e da densidade.

As contagens foram feitas, uma pela técnica de Howard, fazendo-se a diluição na proporção de 1:3, isto é, medindo-se em cálice graduado uma parte da amostra e duas do diluente que, no nosso caso foi a solução de azul de algodão conforme propõe Rivas, e outra, diluindo-se em água destilada, a volume conhecido (1:3), a amostra previamente pesada e adicionada de algumas gotas de solução alcoólica de tionina ou de azul de algodão a 1%.

As determinações de umidade e de extrato seco foram feitas pelos métodos correntes de análise química, e as de densidade por picnometria.

Deixamos de descrever as técnicas destas determinações por julgarmos bastante conhecidas de todo analista e de uso comum em Bromatologia.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Lavar em água corrente 2 quilos de tomates, enxugá-los muito bem e triturá-los em máquina de moer carne; passar a polpa assim desfeita em tamiz n.º 20 (64 malhas por cm²), para privá-la das cascas e sementes, recolhendo o suco, em seguida, em um cristalizador grande, previamente aferido.

Geralmente 2 quilos de frutos maduros dão, aproximadamente, 1.700 cc. de suco.

Fazer as determinações neste período (*Suco*) e nos dois seguintes (*Extratos "a" e "b"*), depois da amostra permanecer na estufa a 55-60°C, para a devida evaporação até concentração semelhante a das massas e dos extratos de tomate do comércio.

CONTAGENS

Técnica A — MÉTODO DE HOWARD — Modificação de Rivas.

Material necessário:

1) Microscópio (de preferência Baush Lomb) equipado, com objetiva de 16 mm. e ocular de 10x, capazes de obterem aumento compreendido entre 90 a 125 vezes, focalizando um campo circular (area) de 1,5 milímetros quadrados, ou um diâmetro de 1,382 mm. Este diâmetro é facilmente obtido por intermédio do disco calibrador existente em um dos cavaletes da camera de Howard, o que torna dispensavel o uso da lâmina micrométrica para o ajustamento do campo microscópico.^{2, 16}

2) Câmara de Howard (fig. 19).

3) Disco micrométrico de Howard (fig. 20).

4) Cálice graduado de 15 cc.

5) Bastão de vidro pequeno e fino (10 cents. x 1 mm.).

6) Corante — Solução de azul de algodão, cuja fórmula é a seguinte:

- * Azul de algodão 0,1 gr.
- Lactofenol (fenol, ácido láctico, glicerina e água em partes iguais) 100 cc.

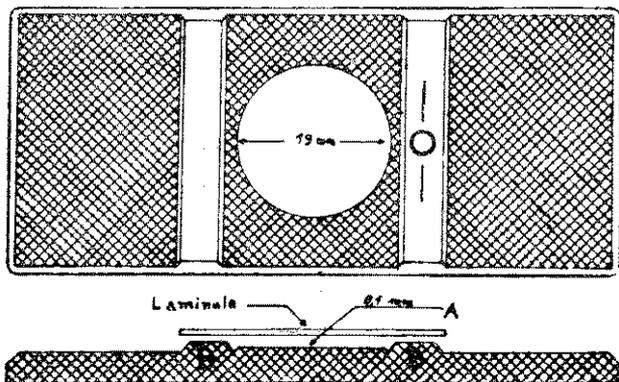
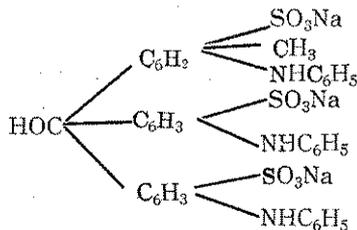


Fig. 19 — Câmara de Howard

É constituída por uma lâmina espessa de vidro opaco, tendo na parte central um disco polido de 19 mm de diâmetro. De cada lado dêste disco estão implantados 2 cavaletes, sôbre os quais deverá pousar a lamínula que guarda entre o disco, precisamente, um espaço de 0,1 mm, onde deverá ser colocado o material a examinar. Sôbre um dos cavaletes está gravado um círculo entre duas linhas, que é o disco calibrador, por meio do qual será facil ajustar o microscópio a fim de focalizar um campo microscópico precisamente de 1,382 mm de diâmetro. Área do campo: 1,5 mm². Capacidade: 0,15 mm³ (= 0,00015 cc.)

A lamínula tem 33 x 33 cents. e 2 mm de espessura.

(*)O azul de algodão é um derivado trissulfonado da rosanilina, cuja fórmula segundo Tassart¹⁷ é a seguinte:



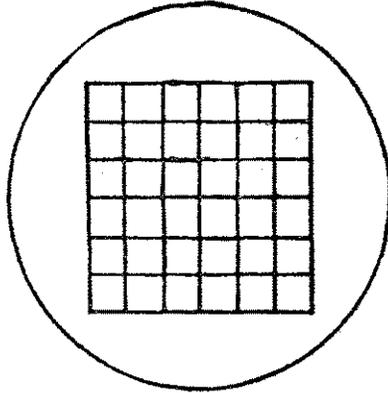


FIG. 20 — Disco micrométrico de Howard

É um disco de vidro transparente tendo gravado na parte central um quadrado que está subdividido em 36 quadradinhos. Cada um destes pequenos quadros representa exatamente $1/6$ do campo microscópico, porquanto seis destes quadradinhos perfazem precisamente o diâmetro desse campo. Este disco é colocado no interior da ocular e é observado sobre o campo examinado, cobrindo inteiramente a sua superfície.

Método operatório

1) Diluir a amostra na proporção de 1:3. Para isto, toma-se um cálice graduado de 15 cc e, por meio de um bastão de vidro, mede-se 5 cc. da amostra, completando-se em seguida o volume de 15 cc. com solução de azul de algodão. Agita-se muito bem a fim de evitar a presença de grumos na diluição e até que esta se apresente perfeitamente homogênea.

2) Colocar, com o bastão, uma gota da diluição sobre a câmara de Howard e cobrir com a lamínula. Verificar que não haja extravasamento lateral do material a examinar, sobre a câmara, e si os anéis de Newton são notados, a fim de que se tenha uma preparação em condições de assegurar uma contagem precisa. Quando há perfeita juxtaposição de superfícies polidas, estes anéis, com as côres do arco-iris, se formam, devido a decomposição da luz.

3) Levar a preparação ao microscópio, contar 25 campos seguidos, anotando os positivos e negativos. Considera-se posi-

tivo um campo quando nele forem notados um ou vários filamentos micelianos ou, ainda, quando o comprimento do cogumelo presente ou a soma de três hifas, seja superior a $1/6$ do campo.¹⁶ Esta determinação é grandemente facilitada pela adaptação do disco micrométrico de Howard à ocular.

4) Carregar novamente a câmara e repetir a contagem.

5) Somar os campos positivos das duas contagens e multiplicar por 2 a fim de ser obtida a porcentagem de campos positivos.¹⁵

Técnica B — MÉTODO DE HOWARD — (Técnica por nós ensaiada).

Material necessário:

- 1) Microscópio equipado, etc., como o da Técnica A.
- 2) Câmara de Howard. (Fig. 19).
- 3) Disco micrométrico de Howard. (Fig. 20).
- 4) Balança.
- 5) Cálice graduado de 15 cc.
- 6) Bastão de vidro pequeno e fino (10 cents. x 3 mm.).
- 7) Corante — Solução alcoólica de tionina (cloridrato de diaminadifeniltiazina) a 1% ou
Solução alcoólica de azul de algodão a 1%.

Método operatório

- 1) Pesar 5 grs. da amostra em um cálice tarado.
- 2) Adicionar 20 gotas de solução de tionina.
- 3) Agitar com um bastão por 2-3 minutos, até perfeita homogeneização.
- 4) Juntar água destilada até completar 15 cc.
- 5) Misturar bem.
- 6) Deixar em repouso por uns 10 minutos.
- 7) Carregar a câmara, usando o bastão, pois o uso deste é de maior conveniência para a uniformidade da técnica, por poder empregar-se em forma calibrada.
- 8) Praticar a contagem.

Com o intuito de se obter uma média mais exata, fizemos 4 preparações, nas quais se contaram 200 campos, ou sejam, 50 em cada uma. O total de campos positivos foi dividido por 2

para se computar a respectiva porcentagem. De posse dos dados correspondentes às determinações de densidade e de resíduo sêco, foram feitos os necessários cálculos para a obtenção dos resultados de campos positivos, primeiramente por gr. e por cc. da amostra analisada e, em seguida, para se referir a 1 gr. de matéria sêca.

Para a obtenção dos aludidos resultados, aplicar as seguintes formulas:

$$\text{Em 1 gr. da amostra: } \frac{\text{CP}}{\text{CN}} \times \frac{1}{0,00015} \times \frac{\text{Dil}}{\text{P}} = \text{G} \text{ donde}$$

CP = Campo positivo.

CN = Campo negativo.

0,00015 cc = Líquido examinado por campo.

1 = Para referir a 1 cc.

Dil = Diluição da amostra (em cc.).

P = Peso da amostra (em grs.).

G = Número de campos positivos por gr. da amostra.

Exemplo (Amostra n.º 3 — Suco)

$$\frac{17}{82} \times \frac{1}{0,00015} \times \frac{15}{5} = 4077 \text{ campos positivos por 1 gr. da amostra.}$$

Em 1 cc. da amostra: 1 : G :: D : X em que

1 = Referência a 1 gr. da amostra.

G = Número de campos positivos por 1 gr. da amostra.

D = Densidade da amostra.

X = Número de campos positivos por 1 cc. da amostra.

Exemplo (Amostra n.º 3 — Suco)

$$1 : 4077 :: 1,0086 : X = 4112 \text{ campos positivos por 1 cc. da amostra.}$$

Em 1 gr. de matéria seca: R : G :: 1 : X onde

R = Resíduo sêco de 1 gr. da amostra.

G = Número de campos positivos por 1 gr. da amostra.

1 = Referência a 1 gr. de matéria sêca.

X = Número de campos positivos por 1 gr. de matéria sêca.

Exemplo (Amostra n.º 3 — Suco)

$$0,043 : 4077 :: 1 : X = 94,813 \text{ campos positivos por 1 gr. de matéria sêca.}$$

DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostra n.º 1 — Foi obtida com 100% de tomates sãos. Frutos apresentando defeitos, amassados, moles ou partidos, foram rejeitados, a fim de se conseguir um suco, aparentemente puro ou com um teor mínimo de contaminação.

Foi evaporado até a obtenção dos extratos "a e b".

QUADRO N.º 1

AMOSTRA N.º	PRODUTO OBTIDO	DENSIDADE a+15°C	UMIDADE a+105°C % grs.	RESÍDUO SECO a+105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS por 1 cc.	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS Técnica — A —	CAMPOS POSITIVOS Técnica — B —
1	Suco	1.0079	95,250	4,750	402	399	8.489	2 %	2 %
	Ext.o a	1.0268	86,755	13,245	1.065	1.038	7.863	3 %	5 %
	Ext.o b	1.0444	60,580	19,420	1.795	1.719	8.860	5 %	8 %

Amostra n.º 2 — Na confecção desse suco foram utilizados 75% de frutos sãos e 25 % de avariados. Foram obtidos os extratos "a e b".

QUADRO N.º 2

AMOSTRA N.º	PRODUTO OBTIDO	DENSIDADE a+15°C	UMIDADE a+105°C % grs.	RESÍDUO SECO a+105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS por 1cc.	CAMPOS POSITIVOS por 1gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS Técnica — A —	CAMPOS POSITIVOS Técnica — B —
2	Suco	1.0071	94,365	5,635	2.474	2.457	43.875	12%	11%
	Ext.o a	1.0216	89,763	10,237	3.880	3.798	37.235	15%	16%
	Ext.o b	1.0605	74,730	25,270	21.207	19.998	79.353	52%	50%

Amostra n.º 3 — Esta amostra foi preparada com partes iguais desses frutos, ou seja, 50% de tomates sãos e 50% de avariados. Foram obtidos os extratos "a e b".

QUADRO N.º 3

AMOS- TRA N.º	PRODUTO OBTIDO	DENSIDADE a+15°C	UMIDADE a+105°C % grs.	RESÍDUO SECO a+105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS por 1 cc.	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS Técnica — A —	CAMPOS POSITIVOS Técnica — B —
3	Suco	1.0086	95,697	4,308	4,112	4,077	94,813	18 %	17 %
	Ext.o a	1.0226	89,160	10,840	9,611	9,399	87,027	36 %	32 %
	Ext.o b	1.0524	78 880	26,120	29,043	27,597	105,735	58 %	58 %

Amostra n.º 4 — Consta a preparação dessa amostra de 25% de frutos sãos e de 75% de avariados. Foram obtidos os extratos "a e b".

QUADRO N.º 4

AMOS- TRA N.º	PRODUTO OBTIDO	DENSIDADE a+15°C	UMIDADE a+105°C % grs.	RESÍDUO SECO a+105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS por 1 cc.	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS Técnica — A —	CAMPOS POSITIVOS Técnica — B —
4	Suco	1.0086	95,415	4 585	8.979	8.902	199.533	31 %	31 %
	Ext.o a	1.0161	92,250	7,750	13,317	13,106	170,207	40 %	40 %
	Ext.o b	1.0642	73,522	26,478	49,648	46,653	176,715	61 %	70 %

Amostra n.º 5 — Foi preparada com 100% de frutos avariados. Foram obtidos os extratos "a e b".

QUADRO N.º 5

AMOS- TRA N.º	PRODUTO OBTIDO	DENSIDADE a+15°C	UMIDADE a+105°C % grs.	RESÍDUO SECO a+105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS por 1 cc.	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS Técnica — A —	CAMPOS POSITIVOS Técnica — B —
5	Suco	1.0067	94,820	5,180	19.325	19,197	376.411	49 %	49 %
	Ext.o a	1.0214	89,800	10,200	34.763	34,035	333.676	64 %	63 %
	Ext.o b	1.0354	85,560	14,440	55.956	54,054	375.375	70 %	73 %

Amostra n.º 6 — Foi obtida com tomates completamente alterados, infestados, partidos, amassados, apresentando môfo visível e manchas escuras na superfície dos frutos. Deixou-se de proceder à evaporação do suco para a obtenção dos extratos "a e b", por desnecessária, visto ter a contagem de cogumelos atingido a 100% de campos positivos logo na primeira fase (suco).

QUADRO N.º 6

AMOSTRA N.º	PRODUTO OBTIDO	DENSIDADE a+15°C	UMIDADE a+105°C % grs.	RESÍDUO SECO a+105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS por c. c.	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS Técnica — A —	CAMPOS POSITIVOS Técnica — B —
6	Suco	1.0067	95,250	4,750	272.080	270.270	7.507.500	100 %	100 % 78 %*

* Para se obterem os resultados que aparecem neste quadro, modificou-se a técnica B, pesando-se 1 gr. da amostra que ficou diluída em q.s. para 15 cc. de água destilada.

Amostras de PRODUTOS COMERCIAIS — Constataram de três *sucos* de tomate. Dêstes 3 produtos um era de procedência estrangeira e os outros dois de fabricação nacional.

QUADRO N.º 7

PRODUTO	ESPÉCIE	DENSIDADE a+15°C	UMIDADE a+105°C % grs.	RESÍDUO SECO a+105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS por 1 cc.	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS por 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS Técnica — A —	CAMPOS POSITIVOS Técnica — B —
Estrangeiro	Suco	1.0145	93,820	6,180	2.249	2.217	36.344	12 %	10 %
Nacional	Suco	1.0124	94,520	5,480	2.244	2.217	41.055	8 %	10 %
Nacional	Suco	1.0154	91,420	8,580	9.988	9.837	115.729	33 %	33 %

QUADRO GERAL

AMOSTRA N.º	PREPARADA COM:	PRODUTO OBTIDO:	DENSIDADE a +15°C	UMIDADE a 105°C % grs.	RESÍDUO SECO a +105°C % grs.	CAMPOS POSITIVOS per 1 cc.	CAMPOS POSITIVOS per 1 gr. Mat. úmida	CAMPOS POSITIVOS per 1 gr. Mat. seca	CAMPOS POSITIVOS TÉCNICA A	CAMPOS POSITIVOS TÉCNICA B
1	Tomates Sãos 100%	Suco	1.0679	95,250	4,750	402	399	8.489	2 %	2 %
		Ext.º a	1.0268	86,755	13,245	1.065	1 038	7.863	3 %	5 %
		Ext.º b	1.0444	80 580	19,420	1.795	1.719	8.860	5 %	8 %
2	Tomates Sãos 75% Avariad. 25%	Suco	1.0071	94,365	5,635	2.474	2.457	43.875	12 %	11 %
		Ext.º a	1 0216	19,763	10,237	3.880	3.798	37.235	15 %	16 %
		Ext.º b	1.0605	74,730	25,270	21 207	19.998	79.353	52 %	50 %
3	Tomates Sãos 50% Avariad. 50%	Suco	1.0086	95 697	4,903	4.112	4.077	94.813	18 %	17 %
		Ext.º a	1.0226	89,160	10 840	9.611	9.599	87.027	36 %	32 %
		Ext.º b	1.0524	73,880	16,120	29.043	27.597	105.735	58 %	58 %
4	Tomates Sãos 25% Avariad. 75%	Suco	1.0086	95,415	4,585	8.979	8.962	199.533	31 %	31 %
		Ext.º a	1.0161	92,250	7,750	13.317	13.106	170.207	40 %	40 %
		Ext.º b	1.0642	73,522	26,478	49.648	46.653	176.715	61 %	70 %
5	Tomates Avariados 100 %	Suco	1.0067	94,820	5,180	19.325	19.197	376.411	49 %	49 %
		Ext.º a	1.0214	89,800	10,200	34.763	34.935	333.676	64 %	63 %
		Ext.º b	1.0354	85,560	14,440	55.956	54.054	375.375	70 %	73 %
6	Tomates Alterados 100 %	Suco	1.0067	95,250	4,750	272.080	270.270	7.507.500	100 %	100 %
Estrangeiro	Suco	1.0145	93,820	6,180	2.249	2.217	36.344	12 %	10 %	
Nacional	Suco	1.0124	94,520	5,480	2.244	2 217	41.055	8 %	10 %	
Nacional	Suco	1.0154	91,420	8 580	9.988	9.837	115.729	33 %	33 %	

* Percentagem obtida com a diluição a 1: 15

INTERPRETAÇÃO DO QUADRO GERAL

Convem recordar para os fins interpretativos dêste quadro, que os tomates considerados como avariados são os que apresentavam aspecto aparentemente suspeito, quer dizer, moles, amassados, porém inteiros e sem defeitos.

Os resultados da amostra n.º 1, provam de um modo manifesto que, produtos preparados à base de matéria prima selecio-

nada e emprêgo de processo higiênico, permitem a obtenção de uma porcentagem mínima de campos positivos, o que nos revela a sua ótima qualidade.

Ao contrário, na amostra n.º 2, observamos um aumento de campos positivos proporcional ao grau de seleção da matéria prima, que neste caso representa 25% de material avariado ou um grau de contaminação comparável. Consideramos que as cifras obtidas com essa amostra são as mais significativas e orientadoras para os fins de controle sanitário, porque representam o grau de contaminação máxima que pode indicar matéria prima devidamente selecionada e convenientemente elaborada. E' por isto que nas "Conclusões", sugerimos para os extratos de tomate não mais de 50% de campos positivos; para as massas, produtos cuja densidade oscila entre a dos sucos e dos extratos, 30% de campos positivos e, para os sucos, tomando em consideração o estabelecido a respeito, em outros paizes ⁴ ¹⁰, recomendamos a cifra tolerável de 20% de campos positivos.

Os resultados que nos indica a amostra n.º 3, revelam proporcionalidade do grau de contaminação com a seleção da matéria prima, e ainda que estas cifras guardem certa relação com as anteriores, não exprimem uma diferença acentuada, como seria de esperar-se nessas contagens. Convem recordar neste sentido o apontado anteriormente com relação a tomates avariados, e à tolerância da cifra de 50% de campos positivos para os extratos.

As cifras obtidas com as amostras n.ºs 4 e 5 nos indicam a qualidade de produtos obtidos à base de uma matéria prima rejeitável, e por sua vez, poder evidenciar o exposto com respeito ao critério que sustentamos na "Discussão", referente ao definido como campo positivo.

A amostra n.º 6 foi preparada com o fim de observação, já que o material empregado se encontrava alterado, e portanto, impróprio sanitariamente para fins industriais. Neste caso, pôde-se observar a elevada porcentagem da contagem, que nos obrigou modificar a quantidade de amostra pesada segundo a técnica B (5 grs. em 15 cc.), por outra de diluição maior (1 gr. em 15 cc), para obter as cifras respectivas.

As análises das três últimas amostras também se fizeram a título de observação. As cifras apontadas por estas análises evidenciaram, uma vez mais, a necessidade de se fixar um máximo

de campos positivos para os sucos, de acôrdo com a sua qualidade. tal como indicamos anteriormente.

Ao expressar resultados sôbre matéria úmida (1 gr. e 1 cc), animou-nos o desejo de poder destacar as porcentagens obtidas em forma diferenciada que permitisse uma melhor apreciação, já que esta maneira de expressar as contagens, não obstante ser mais lógica, resulta menos prática. Contrariamente, as cifras que nos indicam a matéria sêca (1 gr.), têm grande importância porque nos refletem o grau de uniformidade que se observa nas contagens por êste método, já que estas cifras, por amostra (suco, extrato "a" e extrato "b") deveriam guardar relação constante.

Os resultados apresentados pelas contagens obtidas pelas técnicas A e B, apresentaram cifras aproximadas, conforme demonstra o respectivo gráfico (fig. 21), onde as linhas descritas, algumas vezes, chegam a ser quasi paralelas. Entretanto, os números referentes aos resultados da técnica B, encerram um conceito mais lógico de interpretação e mostram, com maior clareza, a perfeita relação existente entre o estado sanitário das amostras e as diversas determinações nelas procedidas.

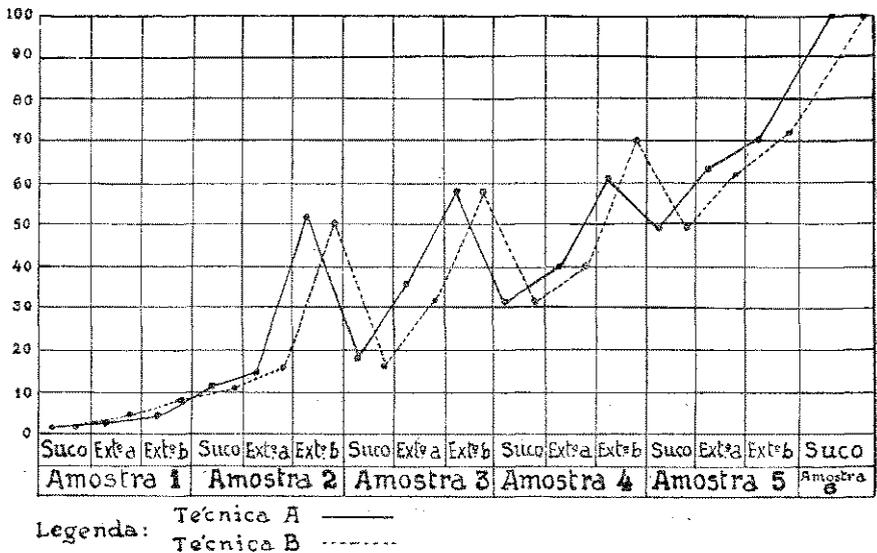


FIG. 21

Gráfico da aplicação das técnicas A e B, indicando, pelas linhas quasi paralelas, a proximidade dos resultados obtidos e o aumento gradativo de campos positivos, de acordo com o grau de contaminação das amostras.

DISCUSSÃO

Com o objetivo de podermos chegar a resultados concludentes, procedemos nossas experimentações em produtos de tomate de composição conhecida. Para isto, as amostras utilizadas nesses ensaios, foram por nós preparadas, em número de seis e apresentavam todos os graus de contaminação julgados imprescindíveis à obtenção de resultados seguros e orientadores. Em cada amostra, depois de conhecido o número de filamentos micelianos do suco, procurámos verificar o progressivo aumento de cogumelos nos extratos "a e b".

Esta prática só se tornaria possível nas condições adotadas, porquanto com produtos comerciais jamais poderíamos chegar a conclusões satisfatórias, tendo-se em mira que o extrato de tomate está sujeito a uma série de fatores que favorecem a sua deterioração nas diversas fazes por que passa o produto industrial.

Notámos que a porcentagem de cogumelo existente no suco, aumenta geralmente de 2 a 4 vezes para o respectivo extrato "b", e que neste último, a porcentagem aumentada é inversamente proporcional à riqueza miceliana daquele. Desta forma, um suco de tomate contendo 2% de campos positivos dará um extrato "b" com 8%, ao passo que, um suco contendo 49% de campos positivos dificilmente apresentará um extrato final com contagem superior a 73% de campos positivos. (Ver quadros 1 e 5).

Consideramos que tal fato tenha origem em um dos princípios básicos do método, ao definir o que se entende por campo positivo. Um exemplo simples aclararia esta situação ao supormos que a contagem de um suco nos desse 50% de campos positivos, tendo em geral 1 a 2 filamentos de cogumelo por campo. Ao se concentrar êste suco a 50% gr. e praticar nova contagem, seriam encontrados 70% de campos positivos, observando-se na maioria dos campos positivos 4 a 5 filamentos micelianos, o que explica a falta de proporcionalidade nos resultados obtidos. (Microfoto, 22).

Desta forma, a amostra de um suco de tomate com 100% de campos positivos, apresentaria idêntica porcentagem para os seus extratos "a e b", com a única diferença, do aumento, em cada campo positivo, do número de filamentos micelianos.

Entretanto o aumento de campos positivos em sucos de escassa contaminação, guarda certa proporção nos concentrados dos mesmos (extratos "a e b") devido não somente ao número de campos negativos tornados em positivos, como também a que, nestes extratos, podem manter-se os campos positivos com a presença de 1 a 2 filamentos por campo. (Microfoto, 23).

As seis amostras analisadas apresentavam os seguintes característicos:

N.º 1	—	preparada com 100%	de tomates	sãos e	escolhidos.
N.º 2	—	"	"	25%	" " avariados.
N.º 3	—	"	"	50%	" " "
N.º 4	—	"	"	75%	" " "
N.º 5	—	"	"	100%	" " "
N.º 6	—	"	"	100%	" " alterados

Por tomates avariados consideramos os frutos, moles, amassados, praticamente contaminados, porém inteiros, sem defeitos notórios, e por alterados, os completamente infestados, partidos, amassados, apresentando princípio de fermentação, visível infiltração de mofo e manchas escuras na parte externa.

Com as amostras preparadas com tomates avariados (n.ºs 2 a 5), a contagem não ultrapassou a cifra de 73% de campos positivos no extrato "b", enquanto que na de n.º 6, em que figuravam somente frutos alterados, o número de micélios de cogumelo atingiu a 100% logo na primeira fase (suco). Deixamos, por este motivo, de submeter o produto à concentração até o estado de extrato, ficando entretanto evidenciado a impraticabilidade do aproveitamento de frutos desta natureza para fins industriais. (Microfoto, 24).

A fim de ser possível a computação do número de cogumelos existentes nesta amostra, fizemos a respectiva diluição pesando 1 gr. do suco para 15 cc de água destilada, ao em vez de 1:3 como foi usada para as técnicas A e B das demais amostras, alcançando-se ainda a cifra elevada de 73% de campos positivos.

Procedemos a todas as provas analíticas, três sucos de tomate do comércio, tendo sido os dois primeiros enquadrados entre os produtos de boa qualidade pelas baixas contagens apresentadas e o último, pelo número de campos positivos suficientemente elevado (33%), como produto condenável. (Ver Quadro n.º 7).

A aplicação da solução corante, em gotas, sobre o material a examinar, seguida da adição de água destilada, deu melhores re-

sultados por apresentar maior nitidez e corar suave e uniformemente todos os elementos do campo microscópico, mantendo este último claro e sem refringência, o que facilita grandemente a identificação pelo perfeito contraste apresentado. (Fig. 3).

Esta foi a técnica por nós ensaiada e que recomendamos pelos ótimos resultados que nos permitiu alcançar.

A diluição feita por este processo é de consistência fluida, não acontecendo o mesmo com a obtida por meio da solução de azul de algodão (técnica A), que tem por veículo o lactofenol — líquido bastante denso e refringente.

Temos a impressão de que isto concorreria não só a uma deficiente homogeneidade do meio, como a possível flutuação de microrganismos nele existentes, notando-se que o campo aparece intensamente corado e denso, o que dificulta a observação da presença de filamentos micelianos.

O emprêgo da solução alcoólica de azul de algodão a 1% deu idênticos resultados aos apresentados pela solução alcoólica a 1% de tionina (técnica B).

Não foi constatada diferença sensível entre a contagem de 25 ou 50 campos para ser calculada a porcentagem de campos positivos com micélios de cogumelo dos diversos produtos do tomate.

CONCLUSÕES

Do conjunto de observações feitas durante o experimento a que nos propuzemos, chegámos às seguintes conclusões:

1.º) Não se pode adotar um mesmo critério de tolerância ao estabelecer um limite máximo de campos positivos para produtos de tomate de diferentes densidades como são o suco, as massas e os extratos.

2.º) O aumento de campos positivos guarda certa proporcionalidade com a concentração dos produtos obtidos de uma mesma matéria prima.

3.º) A tomada de amostra para a preparação da diluição destinada à contagem, deve ser feita por pesada, por ser este processo mais exato e prático e ainda, por facilitar a expressão dos resultados obtidos por gramo de amostra, quando isto se torne necessário.

4.º) O uso de um corante para cogumelos favorece a observação microscópica e contribue eficazmente para a exatidão da contagem.

5.º) A técnica B, por nós ensaiada, deu resultados melhores e mais seguros, o que nos anima a aconselhar sua aplicação.

6.º) A porcentagem de campos positivos obtida contando 25 ou 50 campos por carga de câmara, acusa resultados aproximados para os efeitos dêste método.

7.º) Baseados nestes fatos consideramos necessária e justa a fixação das seguintes cifras limites para os diversos produtos de tomate:

- a) *Sucos* até 20% de campos positivos.
- b) *Massas comuns* (substância sêca entre 10% e 16%) — até 30% de campos positivos.
- c) I — *Extrato simples* (substância sêca entre 16% e 28%) } até 50%
 II — *Extrato duplo* (substância sêca entre 28% e 33%) } de campos
 III — *Extrato tríplice* (substância sêca acima de 33%) } positivos

Queremos aquí deixar consignados os nossos sinceros agradecimentos ao Dr. Bruno Rangel Pestana, Chefe da Subdivisão de Bromatologia e Química do Instituto "Adolfo Lutz", pela solicitude e valiosa colaboração, proporcionando-nos os meios necessários à realização dêste trabalho; ao Dr. Hélio Martins, Chefe da Secção de Controles Biológicos e D. Olivia de Godoy, Chefe da Sub-Secção de Microscopia Alimentar, pela gentileza de tornarem possíveis nossos experimentos; e aos colegas Sr. Jordano Maniero e Ds. Cordelia Nobrega Duarte, Vicentina da Cunha Fleury Corrêa e Lygia Arantes Dantas, pela eficiente colaboração.

RESUMO

Os autores procuram estudar e sugerir algumas observações à técnica de Howard para contagem microscópica de cogumelos nos produtos de tomate, e, bem assim, lembrar a necessidade da fixação, em nosso Código Bromatológico, de uma cifra limite de campos positivos com micélios de cogumelo para tais produtos, de conformidade com suas densidades.

Referem às críticas ao método de Howard e procuram esclarecer todos os detalhes em que há, ainda, dificuldades na interpretação, ilustrando-os com desenhos e microfotos.

Fazem um estudo botânico e microscópico do tomate e dos cogumelos que o atacam nas diversas fazes de elaboração do produto industrial.

A parte experimental foi feita nos laboratórios do Instituto Adolfo Lutz, partindo de 6 amostras de sucos de tomate, diversamente contaminadas e submetidas à evaporação em estufa a 55-60.º C, primeiramente à metade e, em seguida, a 1/8 do seu volume inicial, até consistência dos extratos e massas comerciais. Em todos os estágios a amostra passou pelas seguintes provas analíticas: determinação da umidade, do extrato sêco, da densidade e contagens microscópicas de cogumelos, pelas técnicas A e B.

Técnica A — Método de Howard — modificação de Rivas.

Técnica B — Método de Howard (modificado) — na qual, à amostra previamente pesada (e não medida), juntam-se 20 gotas de solução alcoólica de tionina a 1%, para em seguida fazer-se a diluição com água destilada.

Esta técnica, ensaiada pelos autores, deu ótimos resultados não só pela uniforme coloração de todos os elementos do campo microscópico, como por manter-se êste bastante claro e sem refringência.

Apresentam varios quadros em que resumem os trabalhos e fazem sua interpretação.

Do conjunto de suas observações os autores chegaram às seguintes conclusões:

Não se pode adotar somente uma cifra de tolerancia de campos positivos para todos os produtos de tomate.

O aumento de campos positivos guarda proporcionalidade com a concentração do produto.

A amostra deve ser pesada (gr.) e não medida (cc.) ao se fazer a diluição.

O uso de um corante favorece a observação microscópica.

A contagem de 25 ou 50 campos por carga de camara dá resultados aproximados.

Consideram necessária e justa a fixação das seguintes cifras limites para os diversos produtos de tomate:

Sucos	até 20% de campos positivos.
Massas comuns	até 30% de campos positivos.
Extratos (simples, duplo e tríplice)	até 50% de campos positivos.

ABSTRACT

The authors try to study and suggest some observations to Howard's technique for the microscopic count of fungi in tomato products and at the same time consider the necessity of determining, in our Bromatological Code, a limit for the number of positive fields with mycelii of fungi for these products, according to their density.

The observations refer to Howard's method and try to point out all the details in which there are yet difficulties in the interpretation, illustrating these with designs and photomicrographs.

There is made a botanical and microscopical study of the tomato and of the fungi which attack it during the different phases of the elaboration of the industrial product.

The experimental part was made in the laboratories of the Instituto Adolfo Lutz, starting with 6 samples of tomato juice, differently contaminated and submitted to evaporation in the incubator at 55-60°C, first to half and afterwards to 1/8 of its initial volume, so as to obtain the consistency of commercial extracts and pastes.

In all the phases the sample has passed the following analytical procedures: determination of moisture, of dry extract, of density and microscopic count of the fungi, by the techniques A and B.

Technique A — Howard's method — modified by Rivas.

Technique B — Howard's method (modified) in which to the sample previously weighed (and not measured) there were added 20 drops of an alcoholic solution of tionine at 1%, and afterwards there was made a dilution with distilled water.

This technique, tried out by the authors, gave excellent results not only because of the uniform coloring of all the elements of the microscopic field, but also because of the fact that it remained fairly clear and without refraction.

There are given various tables with abstracts of the experiments and their interpretation.

As a result of their observations the authors came to the following conclusions:

There should not be adopted only one figure of tolerance of positive fields for all tomato products.

The increase of positive fields maintains a certain proportionality with the concentration of the product.

The sample should be weighed (gr.) and not measured (ml.) when the dilution is made.

The use of a coloring matter favors the microscopical observation.

The count of 25 or 50 fields for each mount gives approximate results.

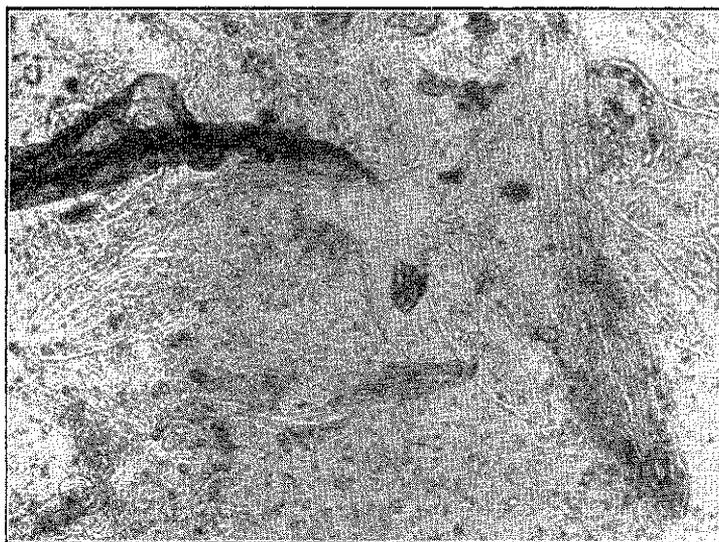
The authors consider as necessary and justified the fixation of the following limits for the various tomato products:

Juices	up to 20% of positive fields
Common pastes....	up to 30% of positive fields
Extracts	
(Simple, double and triple)	up to 50% of positive fields.

BIBLIOGRAFIA

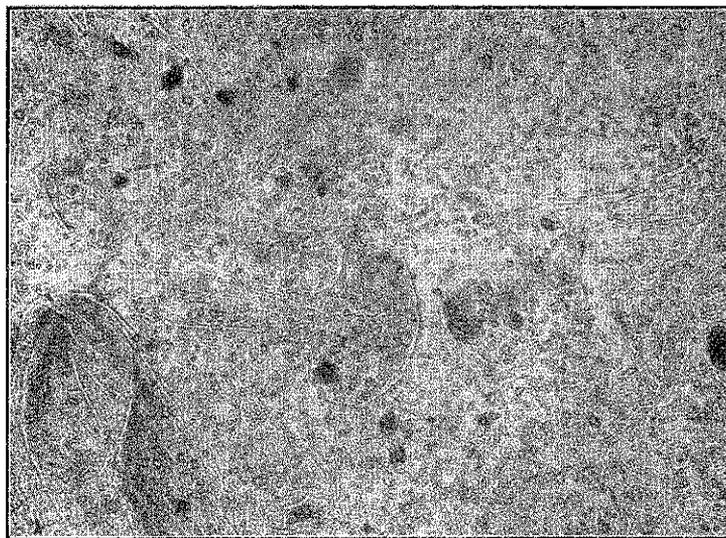
- 1 — AINSWORTH, G. C. & BISBY, G. R. — 1943 — A dictionary of the fungi. Kew, Surrey, The Imperial Mycological Institute.
- 2 — Association of Official Agricultural Chemists — 1945 — Methods of analysis. Washington D. C., 6th. ed.: p. 766-791.
- 3 — BARROS, L. A. de ALENCAR — 1944 — Compêndio de botânica geral e sistemática. S. Paulo, Editora Clássico-Científica, p. 94-103.
- 4 — Código bromatológico y regulamentacion de los productos de consumo en general — 1944 — Santa Fé, Editorial Legislacion y Jurisprudencia, p. 130.
- 5 — FERREI, MARIO G. e JOly, AYLTON B. — 1948 — Partenocarpia induzida com o ácido B-naftóxi-acético. S. Paulo, Bol. Fac. Fil. Ciênc. Letras, 18 (6) p. 22.
- 6 — Food and Drug Administration — 1944 — Microanalysis of food and drug products. Washington, Food and Drug Circular n. 1.
- 7 — HAYNES — 1941 — Canning age, n. 8, p. 438-458.
- 8 — LORENA, BERNARDO — 1937 — Cultura do tomateiro. S. Paulo, Dir. Pub. Agr. Secr. Agr. Ind. Comércio, p. 25-28.
- 9 — POTSCHE, WALDOMIRO — Botânica Rio de Janeiro, Liv. Francisco Alves, p. 250-261.
- 10 — Reglamento bromatológico de la Provincia de Buenos Aires — 1944 — Plata, Tercera edicion, p. 150.
- 11 — RIVAS, J. G. — 1937 — Bol. de Frutas y Hortalizas del Minist. de la Nacion, 2 : 1.

- 12 — SCHNEIDER, A. — 1920 — The microanalysis and microbiology of foods. Philadelphia, P. Blakiston's Son & Co., p. 176.
- 13 — SILVEIRA, V.D. — 1946 — Lições de micologia. Rio de Janeiro, Liv. Kosmos Editora.
- 14 — SMITH, G. — 1942 — An introduction to industrial mycology. London, Edward Arnold & Co., 2nd. ed., p. 2-3.
- 15 — SOUTO, A.B. e Godoy O. — 1942 — Investigações sôbre produtos de tomate. S. Paulo, Rev. Inst. Ad. Lutz, 1 (15) p. 100-179.
- 16 — TANNER, F.W. — 1944 — Microbiology of foods. Champaign, Ill., Gerrard Press, 2nd. ed. p. 674-692.
- 17 — TASSART, C.L. — 1890 — Les matières colorantes et la teinture. Paris, J.B. Baillièrre et Fils, p. 102.
- 18 — WINTON, A.L. & Winton, K.B. — 1935 — The structure and composition of foods. New York, John Wiley & Sons. Inc. v. 2, p. 404-416.



MICROFOTO 1

Células de tomate, cujos bordos podem estabelecer confusão com micélicas de cogumelo. Ao centro vê-se uma hifa com o comprimento de $1/6$ do diâmetro do campo microscópico. (160 x)



MICROFOTO 2

Hifa de cogumelo pousando sobre a extremidade de uma célula de tomate. (160 x)

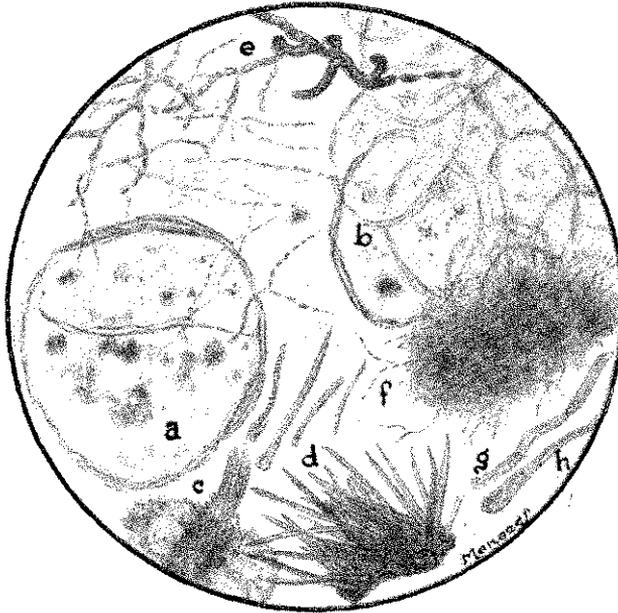


Fig. 3

Elementos histológicos de tomate e filamentos micelianos, corados pela técnica B. (100 x)

a) célula do mesocarpo do tomate apresentando alguns cogumelos na sua superfície; b) parênquima do mesocarpo do tomate; c) feixes de vasos espiralóides; d) falsos pêlos do episperma da semente; e) vários tipos de micélio de cogumelo; f) grumo de produto de tomate infiltrado por micélio finíssimos; g) fibra de algodão; h) pêlo pluricelular da superfície do caule, ramos, calice e folhas do tomateiro, encontrado acidentalmente nos produtos de tomate. (Original)

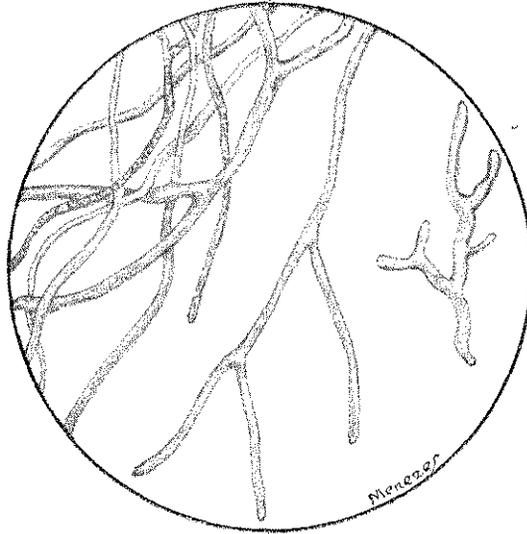


FIG. 4
Micélicos unicelulares (ficomicetos). (200 x)

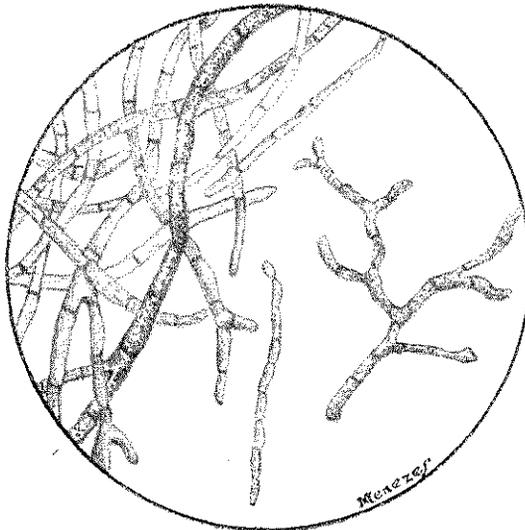
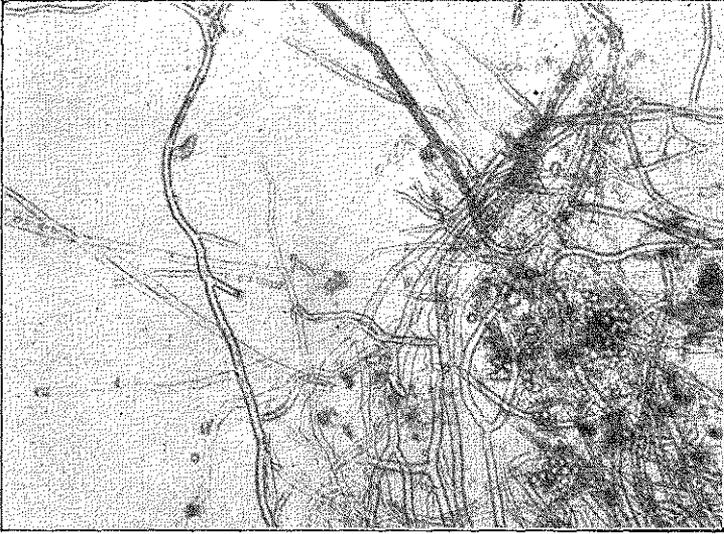


FIG. 5
Micélicos septados. (200 x)



MICROFOTO, 6

Campo microscópico mostrando um bloco de micélios de cogumelo e levedura, em extrato de tomate. (160 x).

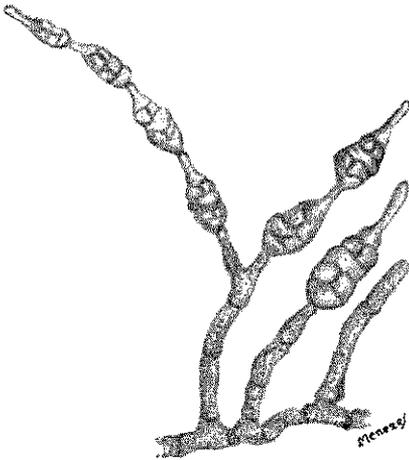


FIG. 7 — Alternaria

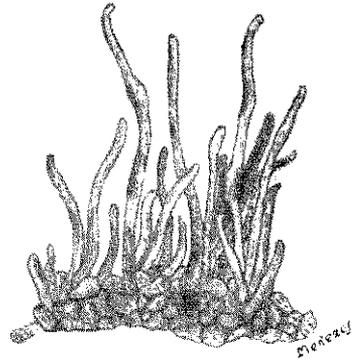


FIG. 8 — Colletotrichum

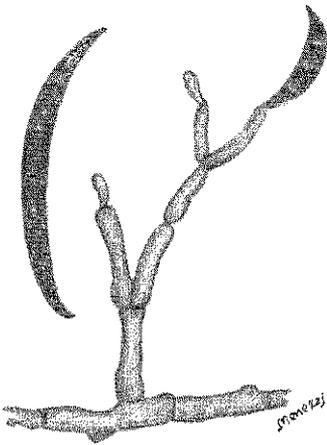


FIG. 9 — Fusarium

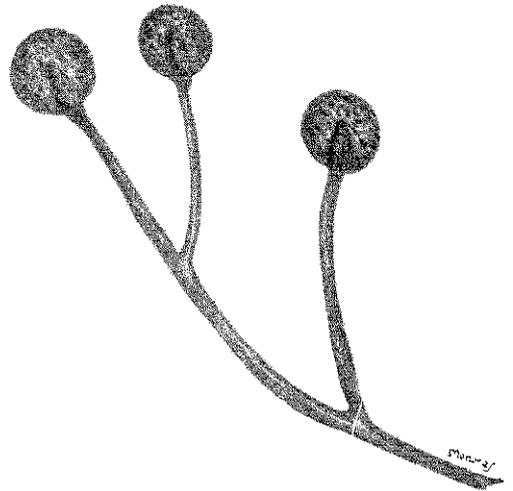


FIG. 10 — Mucor

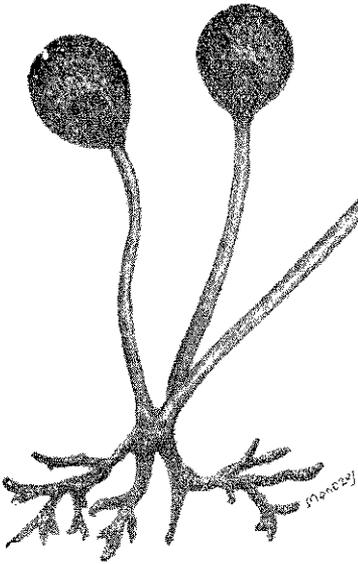


FIG. 11 — Rhizopus

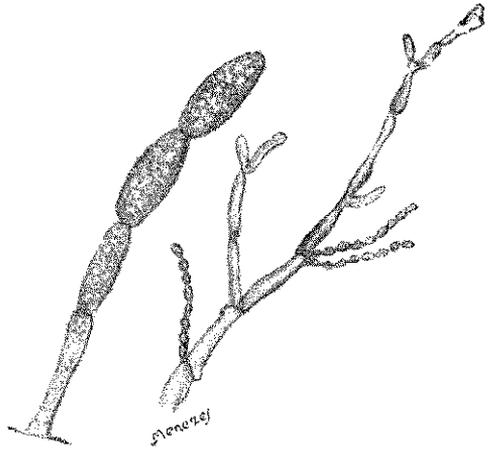


FIG. 12 — Oidium

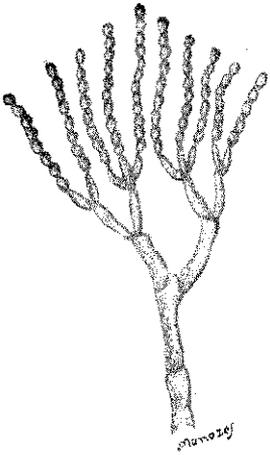


FIG. 13 — Penicillium

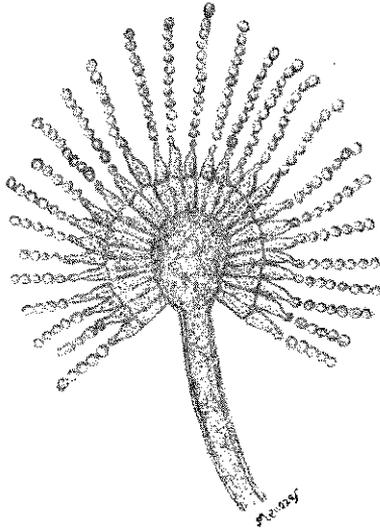


FIG. 14 — Aspergillus

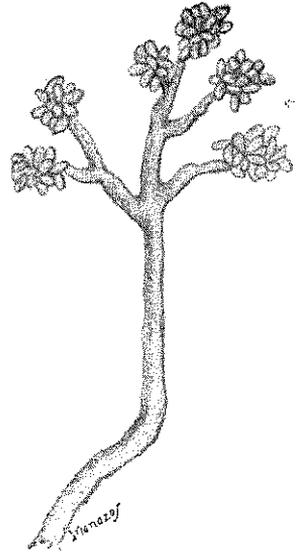


FIG. 15 — Botritis

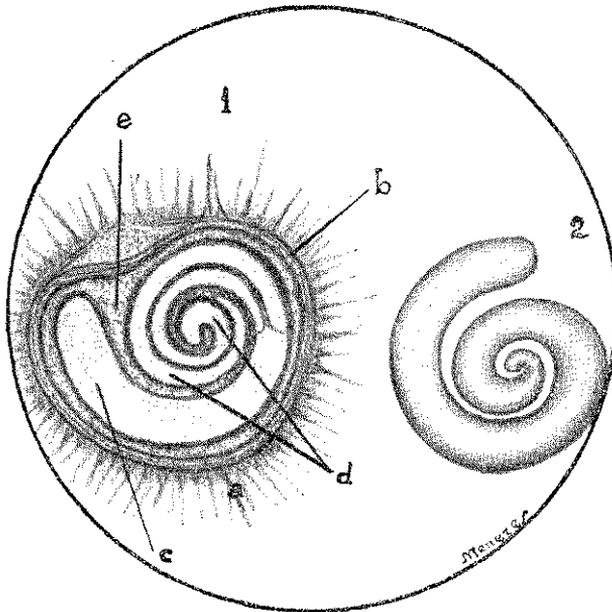


FIG. 16

Semente de tomate (25 x)

- 1 — (corte longitudinal) — a — falsos pêlos; b — epis-perma; c — radícula; d — cotilédones; e — endos-perma.
 2 — Embrião, destacado dos demais elementos da semente. (Original).

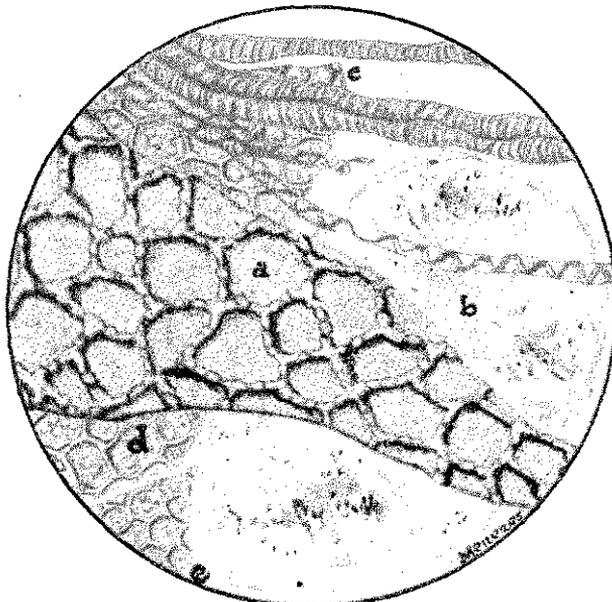


FIG. 17

Elementos histológicos de tomate (400 x).

- a) Epicarpo; b) Célula do mesocarpo com matéria coarante e grãos de amido alterados pelo calor; c) dutos espiralóides; d) endosperma; e) embrião. (Original).

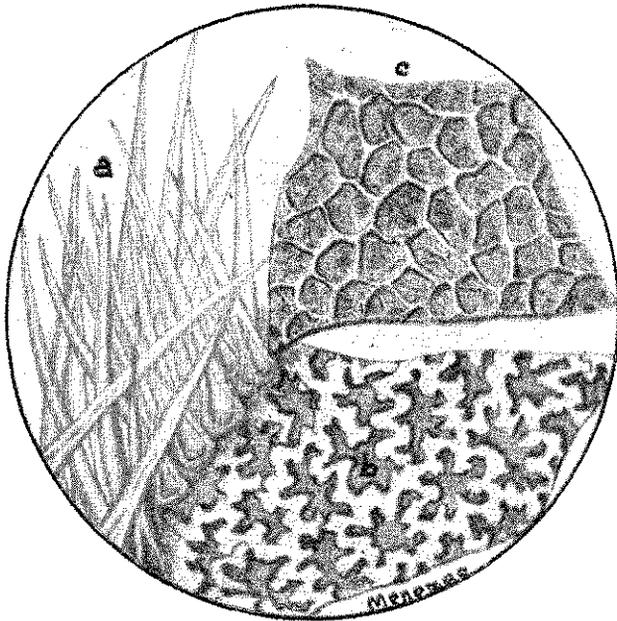
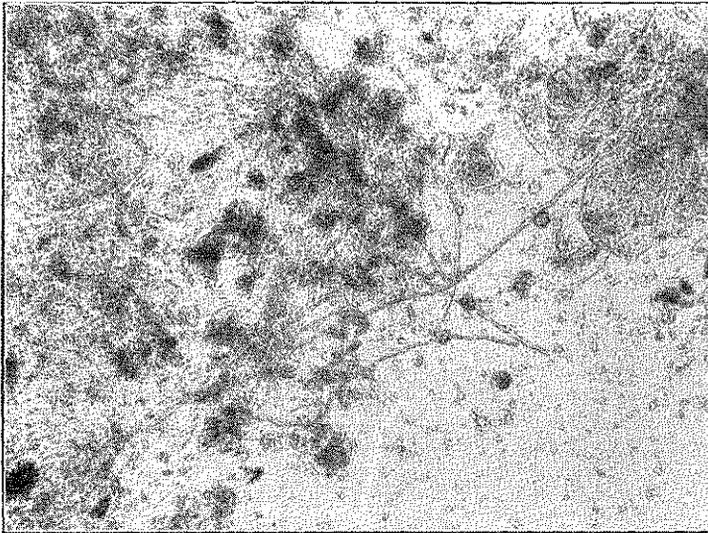


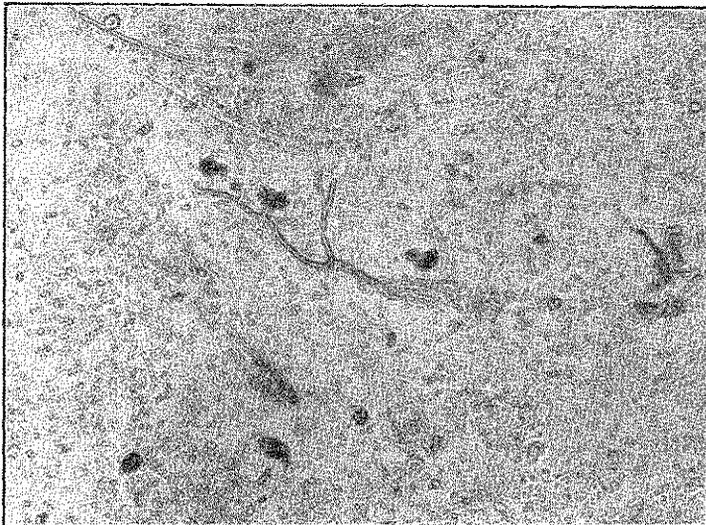
FIG. 18

Semente de tomate

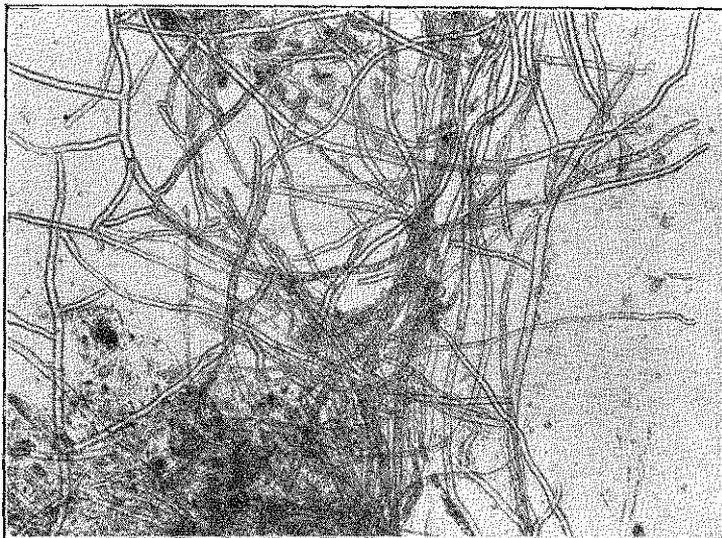
Elementos histológicos do episperma — a) falsos pêlos;
b) camada externa; c) camada interna ou perisperma.
(400 x) Original.



MICROFOTO N.º 22.
Campo com poucos micélios de cogumelo. (160 x)



MICROFOTO N.º 23
Campo pouco contaminado (2 filamentos micelianos). Neste campo pode-se observar a semelhança existente entre os filamentos de cogumelo e os de tomate. (160 x).



MICROFOTO N.º 24
Campo riquíssimo em filamentos micelianos (produto muito con-
taminado). 160 x.

SÓBRE ALGUNS SISTEMAS BINÁRIOS DE BÉTA DERIVADOS DA NAFTALENA (*)

GERMINIO NAZÁRIO

Químico do Instituto Adolfo Lutz

Encontra-se na literatura uma já apreciável série de estudos referentes a sistemas binários da naftalena com 2-halogenonaftalenas e pseudo-halogenonaftalenas (-OH, -NH₂, -CH₃), como também desses derivados naftalênicos entre si.

Tanto L. Klemm, W. Klemm e G. Schiemann¹ quanto H. C. Grimm, M. Günther e H. Tittus², aos quais se deve a maior parte dos sistemas pesquisados e que trabalharam segundo o método de "degêlo-fusão" (3), não incluíram nas suas publicações os dados experimentais, contentando-se com a publicação de gráficos e especialmente os primeiros publicaram-nos de tamanho tão pequeno e sem destacar nele os valores experimentais, que a interpretação dos mesmos, em certos casos, se torna duvidosa. Em vista disso é que resolvemos estudar uma série de sistemas já elaborados pelos autores acima mencionados. Discutiremos a seguir os resultados de nossos estudos. Começaremos por examinar aqueles sistemas binários em que um dos componentes é a própria naftalena.

C.M. — significa a formação de Cristais Mistos entre os componentes.

I,II,III,IV, e V — indicam os tipos dos sistemas de cristais mistos, segundo a classificação de Bakhuis-Roozeboom (4).

E — significa que as substâncias puras do sistema binário formam um simples eutético (sem miscibilidade no estado sólido).

(?) — significa que os dados do autor não se prestam para uma interpretação razoável.

Sistema binário:

(*) Parte extraída da tese de doutoramento apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras da Universidade de São Paulo, em 1946, para o título de "Doutor em Ciências". (Trabalho elaborado sob a direção do Prof. H. Rheinboldt).

I — Naftalena + 2-fluornaftalena (Fig. 1). Foi elaborada por Klemm e Schiemann¹. O minúsculo gráfico publicado pelos autores mostra que as duas substâncias formam uma série contínua de cristais mistos. A curva "solidus" que se estende de 0 até cerca de 40 mol.% de naftalena, na mesma temperatura de degêlo da própria fluornaftalena, toma depois uma direção regularmente ascendente. A curva "liquidus", porém, não tem um traçado ascendente regular, mostrando no meio do diagrama um aspecto côncavo, mantendo-se contudo sempre afastada da curva "solidus". Os próprios autores não dão interpretação do tipo do sistema.

J. Timmermans⁵, registra em 1936 este sistema sob a designação: "C.M.I." F. Holz¹⁵, porém caracteriza o sistema por "C.M.III ou Ia". A formação de cristais mistos do tipo III parece muito pouco provável pois que nem a curva de degêlo, nem a curva de fusão, passam por um mínimo que se ache mais baixo do que as temperaturas correspondentes ao componente de menor ponto de fusão. O tipo Ia. de R. Ruer⁷ é admissível em razão da pronunciada inflexão da curva "liquidus"; trata-se porém de caso encontrado só muito raramente. Do nosso estudo resulta um gráfico (fig. 1) característico para o tipo I, com série contínua de cristais mistos; desapareceu a inflexão da curva "liquidus" e ambas sobem até cerca de 40% de naftalena só pouco acima do ponto de partida, elevando-se, com porcentagem crescente de naftalena, mais acentuadamente.

Naftalena forma com 2-cloro e 2-bromonaftalena segundo Klemm e Schiemann¹, sem dúvida, série contínua de cristais mistos do tipo III, passando as respectivas curvas "liquidus" e "solidus" por um mínimo pronunciado e tocando-se no mesmo. Ao contrário disso, naftalena forma com 1-fluor, 1-cloro, e 1-bromonaftalena, eutéticos, não se podendo porém afirmar, baseados nos gráficos apresentados por Klemm, e Schiemann¹, tratar-se, nesses casos, ou de eutéticos simples dos componentes puros ou, talvez, de sistemas pertencentes ao tipo V: formação mais ou menos limitada de cristais mistos. Em todo o caso, quanto à possibilidade de formação de cristais mistos evidencia-se diferença entre as substituições das posições 1 e 2 da naftalena.

Sistema binário:

II — 2-Naftalena + 2-cloronaftalena (fig. 2). Foi pesquisado por Klemm e Schiemann¹ e o gráfico das curvas por eles publicado mostra uma forma tipicamente côncava e aparentemente

simétrica, tendo as curvas de degêlo e de fusão um percurso aparentemente paralelo e bem próxima uma da outra. O mínimo parece encontrar-se na mistura de 50 mol.% sem, porém, as duas curvas se aproximarem mais nesse ponto. Timmermans⁸ caracteriza esse sistema de acôrdo com a nossa interpretação do gráfico por: "C.M.III". F. Holzl⁹, porém, dá extranhamente a interpretação: "cristais mistos contínuos I (?)". Esta interpretação se baseia, provavelmente, no fato de não se observar um mínimo pronunciado no traçado das curvas; tratando-se, porém, de uma série de cristais mistos do tipo I, as curvas não poderiam ser côncavas descendo abaixo dos pontos de fusão dos componentes, pontos que neste caso, são quasi iguais. Nosso estudo desse sistema confirma plenamente o resultado obtido pelos pesquisadores anteriores. Trata-se, sem dúvida, de uma série contínua de cristais mistos do tipo III, encontrando-se o mínimo das curvas a cerca 50% e cerca 52°.

Sistema binário:

III — 2-Fluornaftalena+2-bromonaftalena (fig. 3). Klemm e Schiemann¹ observaram curvas de degêlo e de fusão muito semelhantes às do sistema precedente, só que bastante mais côncavas do que as acima referidas. Consequentemente o sistema foi caracterizado por Timmermans⁸ como pertencente ao tipo III enquanto F. Holzl⁹ o caracteriza por "C.M.I ou III". Nosso estudo confirma a formação de uma série contínua de cristais mistos com mínimo nas curvas de degêlo e de fusão, isto é, tipo III. O mínimo do nosso gráfico, que se encontra a cerca 47% em 2-fluornaftalena, é, porém, também pouco destacado, não se confundindo as curvas de degêlo e de fusão num ponto certo, que ao contrário ficam distanciadas de 4°. A 1-fluornaftalena forma ao contrário com 1-cloro e 1-bromonaftalena eutéticos, segundo a pesquisa de Klemm e Schiemann¹, não se podendo, contudo, excluir uma pequena solubilidade no estado sólido conforme o tipo V.

Sistema binário:

IV — 2-Cloronaftalena+2-bromonaftalena (fig. 4). O gráfico apresentado por Klemm e Schiemann¹ para o sistema mostra uma série contínua de cristais mistos, ficando as curvas de degêlo e de fusão muito próximas uma da outra. Evidentemente, baixa o ponto de fusão da bromonaftalena um pouco, por adição de 2-cloronaftalena. A interpretação exata do sistema é, porém, muito di-

ficultada pelo minúsculo tamanho do gráfico de só 20 x 8 mm. Talvez o mínimo das curvas se encontre a cerca 80 mol.% de 2-bromonaftalena e a cerca 53°, o que significa uma depressão máxima da curva de 4°. O traçado das curvas não mostra porém um mínimo nítido. Timmermans⁸ registra o sistema como sendo do tipo III. F. Holzl⁹, porém, indica para ele "C.M.I ou III". Nosso estudo revela de fato um perfeito sistema do tipo I sem nenhuma depressão, tendo as curvas "solidus" e "liquidus" que se mantem muito próximas, um traçado perfeitamente linear entre os pontos de degêlo e de fusão dos dois componentes. 1-Cloro e 1-bromonaftalena formam segundo Klemm e Schiemann¹ uma série contínua de cristais mistos do tipo III, mostrando o gráfico dos autores um mínimo bem definido das curvas. É este o único caso em que os autores encontraram formação de cristais mistos em α — derivados da naftalena, o que corresponde aliás ao fato de cloro e bromo derivados de compostos orgânicos formarem cristais mistos quasi sem exceção.

Sistema binário:

V — 2-Cloronaftalena+2-naftol (figura 5). Foi pesquisado por Grimm, Günther e Tittus² pelo método de "degêlo-fusão"³. Os autores caracterizaram o sistema, como pertencente ao tipo IV, apresentando uma lacuna de miscibilidade no estado sólido de cerca 50 mol%. De fato, o gráfico da curva "liquidus" mostra um pronunciado ponto de transição a cerca 62° e 82 mol.% de 2-cloronaftalena. A curva "solidus", porém, desce primeiro a partir do ponto de degêlo da 2-cloronaftalena, como se vê na figura 6 que reproduz o gráfico publicado pelos autores. F. Holzl¹⁰ registra o sistema com a indicação: — "C.M.IV, L.M.=38—80 mol.% 2-cloronaftalena" (*). Timmermans¹¹ considera, porém, o sistema como sendo uma combinação dos tipos IV e III e traz na figura 462 de seu livro, um gráfico por ele mesmo construído que reproduzimos na figura 7. Do nosso estudo do sistema, resulta tratar-se de um verdadeiro tipo IV. Achamos o ponto de transição a 62° (conforme o achado dos autores anteriores) e a 83% (=81,2 mol.%) de 2-cloronaftalena. A lacuna da miscibilidade, se estende de 34 a 79% (31,3 a 76,9 mol.%) de 2-cloronaftalena. Para serem comparados com os gráficos das figuras 6 e 7, apresentamos na figura 8 o diagrama por nós estabelecido também desenhado em porcentagem molar.

(*) L. M. — Lacuna de miscibilidade no estado sólido.

Sistema binário:

VI — 2-Cloronaftalena+2-naftilamina (fig. 9). O gráfico elaborado por Grimm e colaboradores² pelo método “degêlo-fusão” é muito difícil de se interpretar. Os autores consideram-no como pertencente ao tipo IV, com uma lacuna de miscibilidade de ca. 30 mol.%. Como se vê pela figura 10 que reproduz o gráfico publicado pelos autores, a curva de fusão não mostra marcado ponto de transição e talvez não apresente nenhum. A curva de degêlo, sóbe desta vez diretamente a partir do ponto correspondente à 2-cloronaftalena; é, porém, impossível reconhecer-se a extensão da lacuna de miscibilidade, — si tal existe —, e isto porque os autores não pesquisaram o número suficiente de misturas nessa região do diagrama. É por isso que Timmermans¹², considera este sistema como sendo do tipo I, desprezando assim qualquer ponto de transição na curva “liquidus” e também não acreditando na presença de uma lacuna indicada pelo traçado da curva “solidus”. F. Holzl¹⁰, registra, porém, o sistema com a indicação: “C.M.IV,L.M.—35—75 mol.% 2-cloronaftalena”; conforme o gráfico dos autores, entretanto a lacuna da miscibilidade se pode estender no máximo só até cerca 70 mol.%. O gráfico resultante da nossa própria observação, que para fins de comparação com os dos autores anteriores apresentamos na figura 11, desenhado em porcentagem molar de 2-cloronaftalena, revela indubitavelmente o tipo IV de cristais mistos. O ponto de transição se encontra a 67° e 68,5 mol.% e a lacuna de miscibilidade se estende entre cerca 30 e 65 mol.% de 2-cloronaftalena.

Como último desta série estudamos o sistema binário:

VII — 2-Naftol+2-metilnaftalena (fig. 12). Anteriormente foi pesquisado por Grimm, Günther e Tittus². Empregaram os autores, misturas obtidas pela fusão completa dos componentes, e observaram seu comportamento quando aquecidas em capilares de vidro fechados à lâmpada. Do gráfico dos autores que apresentamos na figura 13 vê-se que a curva de fusão mostra um típico ponto de transição a 44° e 84 mol.% de 2-metilnaftalena. A curva de degêlo é, porém, acentuadamente irregular entre cerca 85 a 95%. Os autores assinalam 3 pontos dessa curva e que se acham cerca 5° mais baixos do que o ponto de degêlo da 2-metilnaftalena. Apesar disso, consideram eles esse sistema como pertencente ao tipo IV,

com pequena lacuna de miscibilidade de só 10 mol.%. F. Hölzl¹³ registra o sistema com a indicação: "C.M.IV". J. Timmermans¹⁴, porém, considera o sistema como sendo do tipo I; deve ele pois, ter considerado não só falha a observação do ponto de transição, como também a do abaixamento da curva "solidus" no lado da 2-metilnaftalena. Nosso estudo do sistema, cujo gráfico foi desenhado também em porcentagem molar de 2-metilnaftalena e representado na fig. 14, revela um perfeito sistema do tipo IV. Encontra-se o ponto de transição a 40° e cerca 88,2% (= 88,3 mol.%) de 2-metilnaftalena. A lacuna de miscibilidade tem muito maior extensão do que a indicada pelos autores citados, estendendo-se de 32 a 84% (= 32,3 a 84,3 mol.%). O traçado da curva "solidus" por nós achado, é pois totalmente diferente do indicado pelos autores anteriores. Em outros pares de compostos orgânicos, não se observou até hoje substituição isomorfa do grupo hidroxílico pelo metílico¹⁵.

PARTE EXPERIMENTAL

Esta parte contém a descrição do estudo experimental de 7 sistemas binários.

Ao relato dos diversos sistemas binários realizados, juntamos, quando aparecem pela primeira vez os componentes considerados, a descrição da sua preparação ou purificação. Esta última foi utilizada predominantemente, em nosso trabalho, e tendo como fonte produtos comerciais de diversas origens.

O método de pesquisa foi o de "degêlo-fusão"³. O pontos de degêlo e de fusão das misturas foram, de modo geral, observados em capilares de vidro, abertos, com um fio de vidro servindo de agitador; em certos casos recorreu-se, complementarmente, ao microscópio com placa de aquecimento. (Aparelho de Kofler).

Tôdas as porcentagens das misturas reunidas nas tabelas significam porcentagens em peso, si não for dada outra indicação.

P.D. significa ponto de degêlo.

P.F. significa ponto de fusão.

I — SISTEMA BINARIO
 NAFTALENA + 2-FLUORNAFTALENA
 FIG. 1

NAFTALENA

O produto comercial foi sucessivas vezes cristalizado de álcool etílico e depois bisublimado. Obtivemos os pontos

P. D. = 79,4
 P. F. = 80,1°

PONTOS DE FUSÃO DA NAFTALENA

P. F.	Autores	Ano	Cit. N.º
79°	E. Knoevenagel	1914	16
79,60-79,64°	A. A. Noyes e C. G. Abbot	1897	17
79,7°	L. Mascarelli e V. Babini	1909	18
80°	H. Rheinboldt e M. Kircheisen	1926	19
79,9-80°	R. Schiff	1883	20
80°	G. S. Parks e H. M. Huffman	1931	21
80°	G. A. Hulett	1899	22
80°	L. Vignon	1891	23
80,05°	A. Bogojawlenski	1904	24
80,05°	A. Jaquerod e E. Wassmer	1904	25
80,05°	(P. solidif.) K. P. Monroe	1919	26
80,06°	F. Burriel	1931	27
80,06°	E. J. Mills	1882	28
80,08°	Stelzner; Register 1914-15		
80,1°	J. Timmermanis e F. Burriel	1931	29 *
80,1°	O. Scheuer	1910	30
80,1°	A. M. Wassiljew	1917	31
80,15°	H. Block	1911	32
80,23°	P. de Beule	1931	33
80,4°	C. W. Waidner e G. K. Burgess	1911	34 *
80,4°	V. Meyer e W. Riddle	1893	35
80,5°	H. Rheinboldt	1925	36
80,4-80,5°	Stelzner; Register 1916-18		
80,4-80,5°	Idem; idem 1919-21		
80,8°	R. Kempf	1908	37
80,98°	V. Ssobolewa	1902	38

Nosso ponto de fusão está de acordo com as medidas de institutos de padronização de contantes cit. 29

2 — FLUORNAFTALENA

Servimo-nos de um produto preparado por F. Berti³⁹ pela decomposição térmica do fluoborato de 2-naftalenodiazonio, segundo Balz e Schiemann⁴⁰.

O produto foi destilado novamente com vapor d'água em meio fracamente alcalino. Cristalizado depois de álcool etílico diversas vezes; obtivemos, por fim, os pontos

P.D. = 59,4°
P.F. = 60,1°

PONTOS DE FUSÃO DE 2-FLUORNAFTALENA

P. F.	AUTORES	ANO	CIT. N.º
58°	N. Nakata	1931	41
59°	A. Ekbon e R. Mauzelius	1889	42
59°	Valentiner e Schwarz	1898	43
60°	L. Klemm, W. Klemm e G. Schiemann	1933	44
60,2°	A. Parts	1930	45
61°	G. Schiemann, W. Gueffroy e W. Winkel Mueller	1931	46

Nosso ponto de fusão está de acôrdo com a citação mais recente.

Tôdas as misturas foram preparadas por fusão completa dos componentes. Os pontos de degêlo e de fusão foram observados em provas separadas.

% Naftalena	P. D. C.	P. F. C.
0,0	59,4	60,1
5,2	59,4	60,3
9,9	59,4	60,8
20,3	59,5	61,1
29,7	59,7	61,4
40,5	59,8	62,1
45,8	60,0	63,0
55,6	61,1	66,0
64,7	62,0	69,2
74,8	65,0	72,8
84,8	69,0	76,2
95,0	76,0	79,0
100,0	79,4	80,1

Os componentes deste sistema formam uma série contínua de cristais mistos do tipo I.

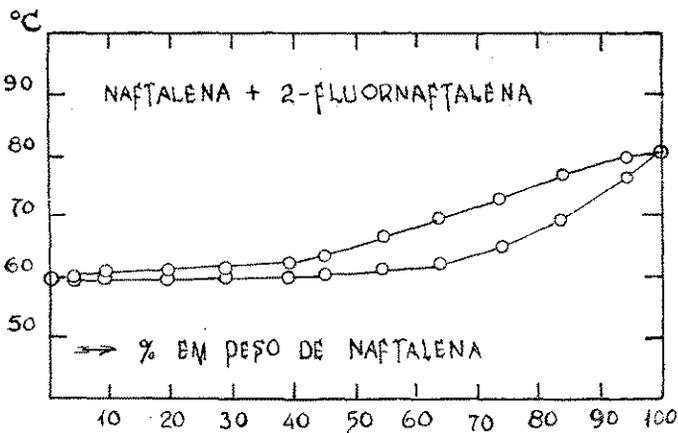


Fig. 1

II — SISTEMA BINÁRIO
2-FLUORNAFTALENA + 2-CLORONAFTALENA
FIG. 2

2 — CLORONAFTALENA

Um produto da "Eastman Kodak Co." foi diversas vezes cristalizado de álcool etílico e água e por fim de álcool etílico.

P.D. = 57,5°

P.F. = 58,2°

PONTOS DE FUSÃO DE 2-CLORONAFTALENA

P. F. °C	AUTORES	Ano	Cit. N.º
55	E. J. Van der Kan	1926	47
56	H. Rymkarenko	1876	48
56	Auwers e Frühling	1921	49
56	Menschutkin	1876	50
56,7	Jeffremow	1923	51
57-57,9	H. Rheinholdt e F. Berti	1942	52
58	L. Roux	1888	53
58,5	L. Klemm, W. Klemm e Schiemann	1933	54
58-59	A. Parts	1930	55
58,6	Ch. C. Price, Chapin, Goldamm Krebs e Shafer	1941	56
60	Heumann e Köchlin	1883	57
61	C. Liebermann e Palm	1876	58
61	Fr. Palm	1876	59

O nosso ponto de fusão está de acôrdo com os dados mais recentes: citações 52, 53, 54, 55 e 56.

As misturas foram preparadas por fusão completa dos componentes.

Os pontos de degêlo e de fusão, foram observados em provas separadas.

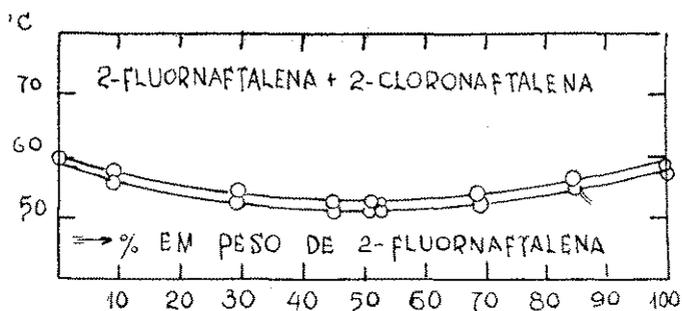


Fig. 2

% 2-Fluornaf.	P. D. C	P. F. C
0,0	57,5	58,2
9,8	55,5	57,8
29,8	53,0	54,6
45,0	51,8	52,9
50,9	51,4	52,3
52,8	51,6	52,6
68,3	55,2	54,4
87,9	52,5	57,2
100,0	59,4	60,1

Os componentes deste sistema formam uma série contínua de cristais mistos do tipo III, cujo mínimo contém cerca 50% de 2-fluoronaftalena e funde a cerca 52°.

III — SISTEMA BINARIO

2-FLUORNAFTALENA + 2-BROMONAFTALENA

FIG. 3

2 — BROMONAFTALENA

Preparamos 2-bromonaftalena seguindo as instruções dadas por M. S. Newmann e P. H. Wise que utilizaram a decomposição térmica do complexo tetrabromomercuroato de 2-naftalenodiazônio⁶⁰.

I — *Diazotação de 2-naftilamina*: 50 g de 2-naftilamina (0,35 moles) são agitados com 140 cm³ de ácido clorídrico concentrado e 670 cm³ de água, num balão de 2 litros, resfriando-se externamente com mistura de gelo e sal moidos. Diazota-se o cloreto de 2-naftilamonio com solução de nitrito de sódio a 20%, mantendo-se a temperatura abaixo de 5°. A adição de nitrito de sódio é interrompida quando evidencia-se haver pequeno excesso de ácido nitroso, pela reação com papel amido iodetado.

II — *Preparação da solução de Brometo duplo de Mercúrio II e sodio*. Enquanto diazota-se a 2-naftilamina, prepara-se ao lado uma solução de 57g de nitrato de mercúrio II em 100cm³ de água à qual se adiciona outra solução de 83g de brometo de sódio em 120 cm³ de água.

III — *Preparação do complexo brometo de 2-naftalenodiazonio + brometo de mercúrio II*.

A solução de cloreto de 2-naftalenodiazonio, fortemente agitada, adiciona-se a solução de brometo duplo de mercúrio-II e sódio. Forma-se imediatamente um precipitado amarelo que se retém num funil de Büchner, após ter sido agitado meia hora. Lava-se o precipitado com água gelada e depois com acetona. Escoam-se os líquidos de lavagem e seca-se pela passagem de ar. Coloca-se depois o produto amarelo num dessecador sobre ácido sulfúrico concentrado durante dois dias.

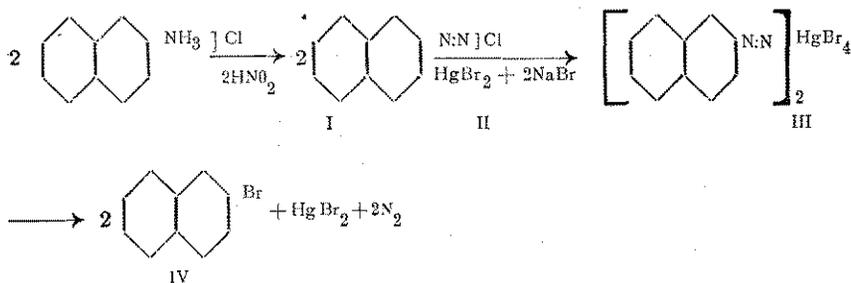
Obtivemos assim 139g do complexo, ou seja, 95,3% calculado na base da fórmula $[C_{10}H_7N_2Br]_2 + HgBr_2 = [(C_{10}H_7N_2)_2][HgBr_4]$

IV — *Decomposição térmica do complexo*: O complexo seco é colocado vagarosamente num balão de um litro com 2 tubuladuras, e que se encontra mergulhado num banho de glicerol a 100°. Numa das tubuladuras liga-se um refrigerante réto, e noutra um frasco de Erlenmeyer ligado por um tubo de borracha de diâmetro largo, frasco em que se coloca o complexo a ser decomposto. Por cuidadosa adição de pequenas porções do complexo evitamos o gasto de 300g de NaBr que Newmann e Wise misturaram ao complexo, para diluí-lo. Finda a decomposição, lava-se o aparelho com benzena que extrai tôda a mistura. Evapora-se a benzena e o resíduo duro e preto com reflexo brilhante é destilado no vácuo. A 1 mm. de pressão recolhe-se a fração que passa entre 85° a 90°. A 2-bromonaftalena apresentou P. F. 55-57° num aparelho de aquecimento elétrico (Kofler).

Obtivemos 42g de 2-bromonaftalena, 58,1% do rendimento teórico, calculado a partir de 2-naftilamina.

Os autores obtiveram em duas preparações 38,4g e 43,1g de 2-bromonaftalena, respectivamente 53 e 59%, com P. F. 55,00 — 56,4°.

As fases da preparação são assim representadas:



A 2-bromonaftalena foi purificada pela cristalização de álcool etílico e posta sob vácuo a 50° (vapor de éter de petróleo) durante uma hora, no aparelho de Abderhalden. Obtivemos P. D. 54,8 e P. F. 56,2°.

Novamente cristalizada de álcool etílico e posta sob vácuo a 50° durante 2 horas, obtivemos P.D. 55,0 e P.F. 56,1°. Distilado com vapor d'água (meio fracamente alcalino), depois cristalizado de álcool etílico e posto uma hora sob vácuo a 50°, obtivemos:

P.D. = 55,6°

P.F. = 56,2°

PONTOS DE FUSÃO INDICADOS PARA 2-BROMONAFTALENA

P. F. °C	AUTORES	ANO	CIT. N.º
55,8	F. Berti (P. D. = 54,8)	1942	61
55-56	A. Willemart	1937	62
55-56,4	M. S. Newmann e P. H. Wise	1941	63
55,8	A. Parts	1930	64
56-57	O. Brunel	1884	65
57	L. Klemm, W. Klemm e Schiemann	1933	66
58	E. Lellmann e A. Remy	1886	67
58-59	P. P. T. Sah	1941	68
68	C. Liebermann e F. Palm	1876	69

O ponto de fusão do nosso preparado está de acôrdo com os das citações 61, 62, 63 e 64.

Tôdas as misturas foram preparadas por fusão completa dos componentes.

Os pontos de degêlo e de fusão foram observados em provas separadas.

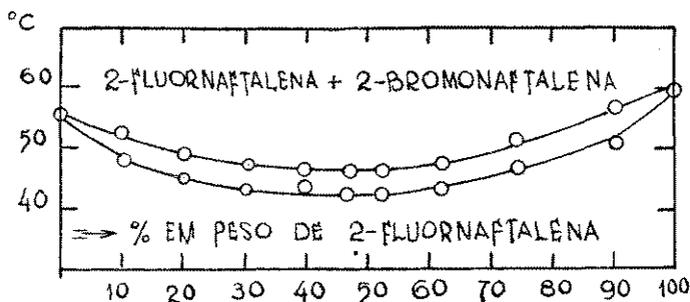


FIG. 3

% 2-Fluornaf.	P. D. °C	P. F. °C
0,0	55,6	56,2
10,4	48,5	52,4
20,9	45,2	49,1
30,3	43,6	47,4
39,8	43,2	46,2
47,3	42,0	46,0
52,4	42,4	46,2
61,8	43,7	47,6
73,9	46,4	51,2
90,5	50,6	56,2
100,0	59,4	60,1

Os componentes deste sistema formam uma série contínua de cristais mistos do tipo III, cujo mínimo contém cerca de 47% de 2-fluornaftaleno.

IV — SISTEMA BINÁRIO
2-CLORONAFTALENA + 2-BROMONAFTALENA
FIG. 4

Tôdas as misturas foram preparadas por fusão completa dos componentes.

Os pontos de degêlo e de fusão, foram determinados em provas separadas.

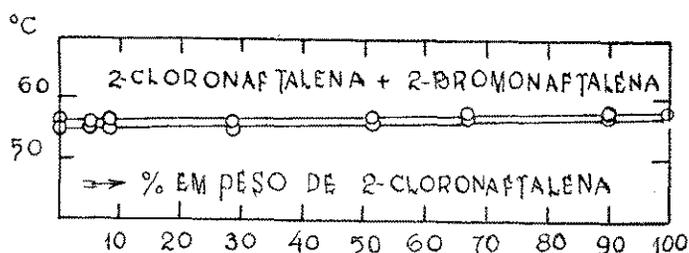


FIG. 4

% 2-Cloronaf.	P. F. °C	P. F. °C
0,0	55,6	56,2
5,5	55,7	56,7
8,7	55,8	56,8
28,6	55,9	56,9
51,2	56,4	57,4
67,3	57,0	57,9
90,5	57,3	58,2
100,0	57,5	58,2

Os componentes deste sistema formam uma série contínua de cristais mistos do tipo I.

V — SISTEMA BINÁRIO
2-CLORONAFTALENA + 2-NAFTOL

Fig. 5

2 — NAFTOL

O produto "2-naftol para análise" da "Rhodia" foi cristalizado diversas vezes de tetracloreto de carbono e depois de sêco no vácuo a trompa apresentou os pontos:

P.D. = 121,4°

P.F. = 122,1°

PONTOS DE FUSÃO DO 2-NAFTOL

P. F.	AUTORES	ANO	CIT. N.º
119-120°	H. Hey e E. R. B. Jackson	1936	70
121°	G. Schroeter e col.	1938	71
121°	E. Bamberger, M. Baum e L. Schlein	1922	72
122°	H. Rheinboldt e M. Kirscheisen	1926	73
122°	L. Schaeffer	1869	74
122°	J. Loevenich e A. Loeser	1927	75
122°	Fr. Palm	1876	76
122°	C. Liebermann e Fr. Palm	1873	77
122,5°	H. G. Grimm, M. Guenther e H. Tittus	1931	78
123°	B. Maikopar	1869	79

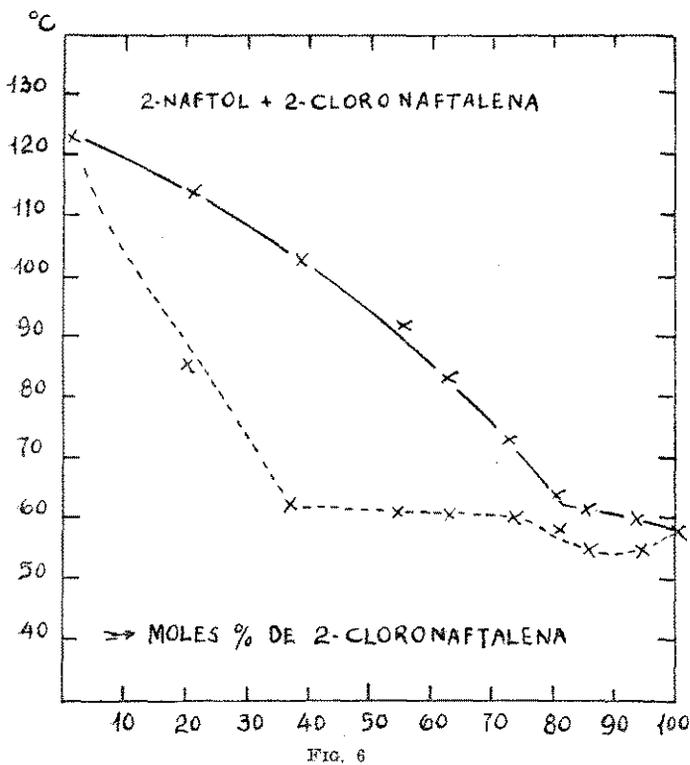
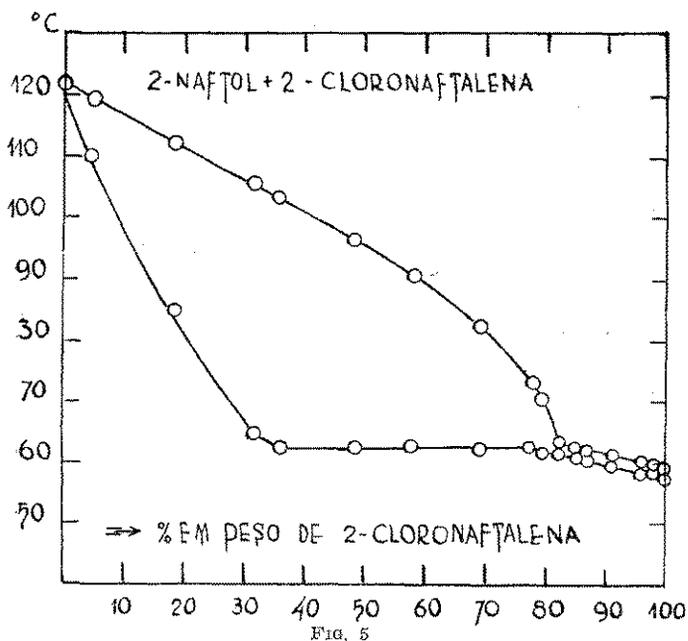
Nosso ponto de fusão está aproximadamente de acôrdo com os dados das citações 73, 74, 75 e 76.

Tôdas as misturas foram preparadas por fusão completa dos componentes.

Os pontos de degêlo e de fusão foram examinados em provas separadas.

% 2-Cloronaf.	% Moles	P. D. °C	P. F. °C
0,0	0,0	121,4	122,1
5,7	5,0	110,5	119,2
19,0	17,1	85,0	112,4
32,0	29,4	64,4	105,6
36,1	33,3	62,6	103,2
48,6	45,6	62,6	96,8
58,1	55,1	62,4	90,6
69,5	66,8	62,6	82,4
78,3	76,1	62,2	73,0
79,9	77,8	61,5	70,8
82,7	80,9	61,2	63,6
85,5	83,9	60,6	62,6
86,8	85,3	60,2	61,6
91,8	90,6	59,4	61,0
96,1	95,6	58,1	60,1
98,2	97,9	57,8	59,4
100,0	100,0	57,6	58,2

Os componentes deste sistema formam um diagrama do tipo IV. O ponto de transição da curva de fusão, acha-se a uma temperatura de 62° com 83% em peso de 2-cloronaftalena. A lacuna de miscibilidade estende-se de 34% a 79% de 2-cloronaftalena.



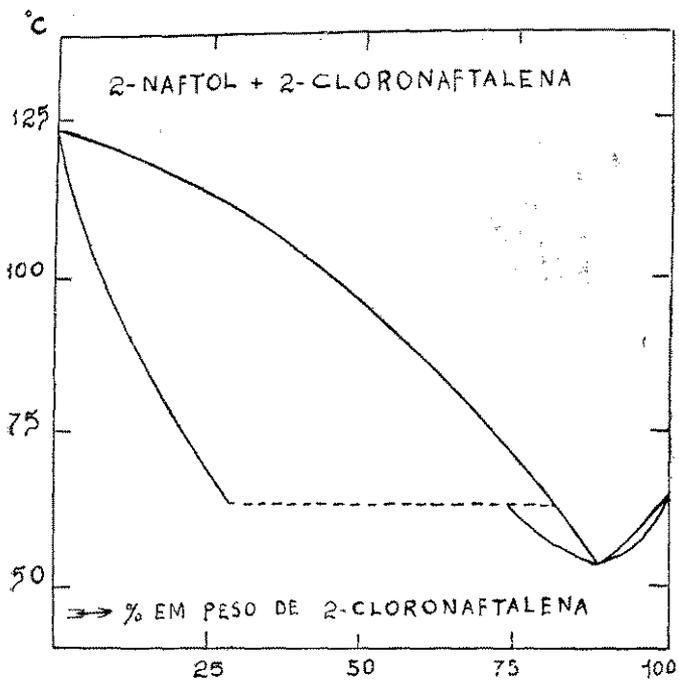


Fig. 7

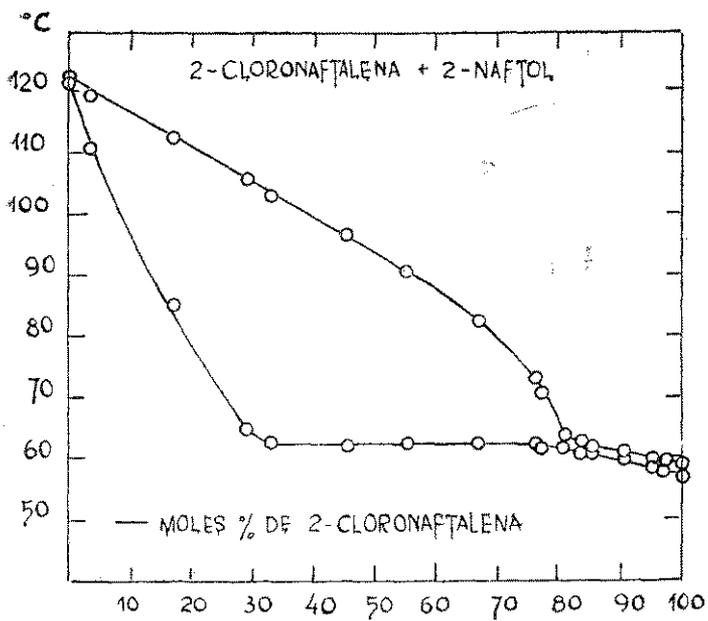


Fig. 8

VI — SISTEMA BINÁRIO

2-CLORONAFTALENA + 2-NAFTILAMINA

Fig. 9

2 — NAFTILAMINA

O produto técnico da “Schering-Kahlbaum” foi destilado com vapor d’água e depois sêco.

Procedeu-se então sua cristalização de benzena, éter de petróleo (50-70°) e carvão ativo “Norit”, duas vezes. O produto depois de sêco no vácuo a trompa deu os pontos seguintes:

P.D. = 109,8

P.F. = 110,8

P. D.	AUTORES	ANO	CIT. N.º
109°	Chem. Zentr. 1936.I.3684	1936	
109,5°	E. L. Skau	1935	80
109,5-110°	R. Majima, T. Unno e K. Ono	1922	81
110°	H. Franzen e G. Staeuble	1929	82
108-111°	V. Vesely e L. K. Chudozilov	1925	83
111°	H. Rheinboldt, K. Hennig e M. Kircheisen	1925	84
111°	N. Menshutkin e N. Butkow	1926	85
111,3°	Joniaux	1912	86
111,5°	A. Baskow	1918	87
112°	V. Merz e W. Weith	1880	88
111-112°	W. H. Perkin	1896	89
112°	C. Liebermann e Fr. Scheiding	1876	90
112°	C. Cosiner	1881	91
111-112°	C. Liebermann e P. Jacobson	1882	92
112-113°			
113°	O. Kruber	1933	93

Tôdas as misturas foram preparadas por fusão completa dos componentes.

Os pontos de degêlo e de fusão foram observados em provas separadas. Tôdos os pontos de fusão foram obtidos sem haver decomposição.

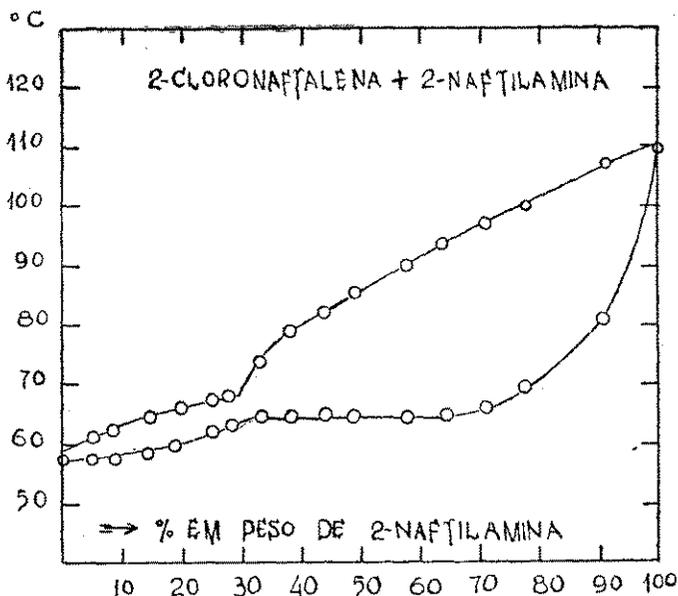


Fig. 9

% 2-Naftila- mina	% Moles 2-Cloronaf- talena	P. D. °C	P. F. °C
0,0	100,0	57,6	58,2
5,1	94,1	57,6	61,0
8,8	90,1	57,8	62,4
14,4	83,9	58,6	64,6
19,2	78,7	59,8	65,8
25,2	72,3	62,1	66,7
29,1	68,2	63,2	67,4
33,2	63,9	64,5	73,8
38,0	58,9	64,8	77,7
43,5	53,3	64,8	82,3
49,3	47,5	64,8	85,5
58,1	38,8	64,7	90,0
64,8	32,3	64,8	94,1
71,4	26,0	66,7	97,0
78,2	19,7	69,0	100,4
91,3	7,7	80,4	107,0
100,0	0,0	109,3	110,8

Os componentes deste sistema formam um diagrama do tipo IV. O ponto de transição da curva de fusão, acha-se a uma temperatura de 67°, com 29% de 2-naftilamina. A lacuna de miscibilidade vai de 32% a 65% de 2-naftilamina.

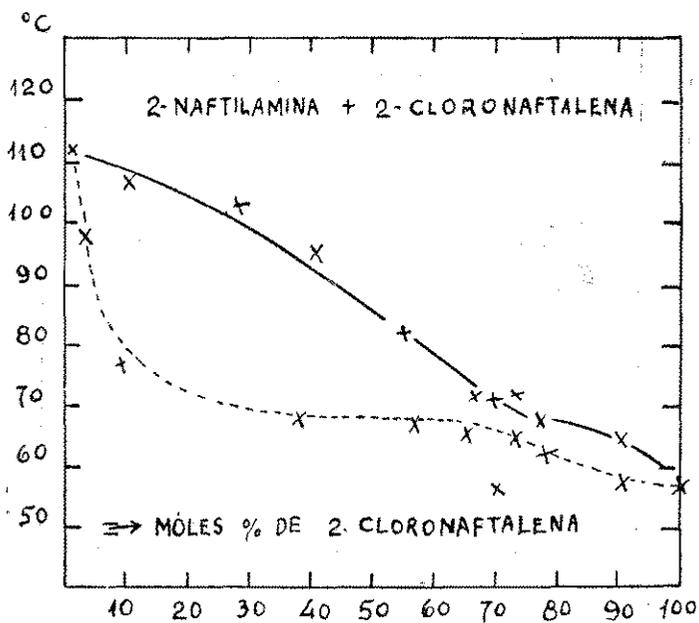


FIG. 10

Gráfico de Graham, Günther e Tittus

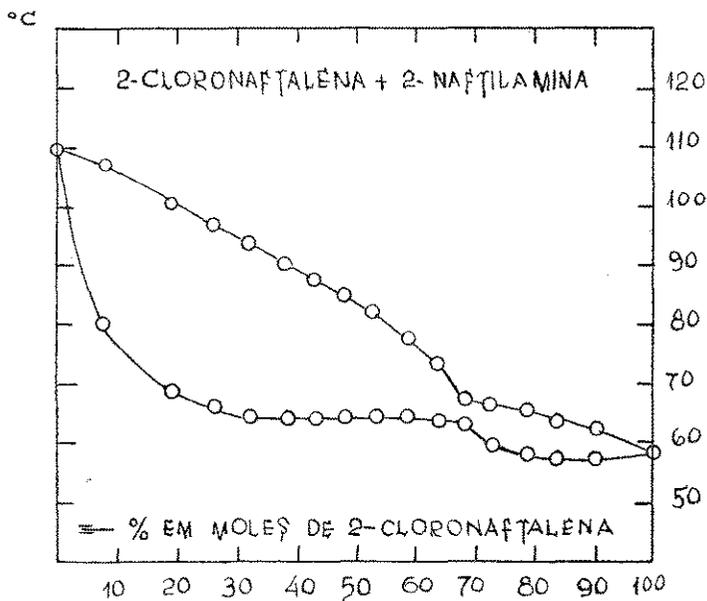


FIG. 11

VII — SISTEMA BINÁRIO

2 - NAFTOL + 2 - METILNAFTALENA

Fig. 12

2 — METILNAFTALENA

O produto da "Eastman Kodak Co." foi destilado no vácuo a 1 mm. Hg., recolhendo-se a fração de 91-92°, que foi diversas vezes cristalizada de álcool etílico.

Obtivemos por fim:

P.D. = 33,6°

P.F. = 34,5°

PONTO DE FUSÃO DA 2-METILNAFTALENA

P. F.	AUTORES	ANO	CIT. N.º
32°	S. C. Sengupta	1938	94
32°	G. Tammann	1897	95
32°	R. Weissgerber e O. Kruber	1919	96
31,5-32,5°	K. v. Auwers e A. Fruehling	1921	97
32,5°	K. E. Schulze	1884	98
32-33°	R. Lesser	1914	99
32-33°	G. T. Morgan e E. A. Coulson	1934	100
32-33°	V. Vesely e F. Stursa	1934	101
32-33°	Ch. C. Price, E. C. Chapin, A. Goldman, E. Krebs e H. M. Shafer	1941	102
32,5-33°	R. Meyer e H. Fricke	1914	103
34°	W. H. Mc Vicker, J. K. Marsh e A. W. Stewart	1925	104
34,1°	M. H. Huffman, G. S. Parks e M. Barmore	1931	105
34,1°	G. S. Parks e H. M. Huffman	1891	106
34,5°	S. C. J. Olivier e J. Wit	1938	107
34-35°	Ch. C. Price, E. C. Chapin, A. Goldman, E. Krebs e H. M. Schafer	1940	108
35°	A. V. Grosse e V. N. Ipatieff	1937	109
37°	P. P. T. Sah	1940	110
37°	(Ponto de solidificação) H. G. Grimm, M. Guenther e H. Tittus	1931	111
37-38°	H. Wichelhaus	1891	112
37-38°	R. Fittig e L. Liebmann	1889	113
39°	Stelzner; (Register 1916-18)		
	M. Bamberger e H. v. Klimburg (?)	1917	114
41-42°	A. Fock	1895	115

Os pontos de fusão registrados na literatura tem diferença entre si até 10°C.

Nosso ponto de fusão está de acordo com os valores mais recentes da literatura.

Tôdas as misturas foram preparadas por fusão completa dos componentes.

Os pontos de degêlo e de fusão foram examinados em provas separadas.

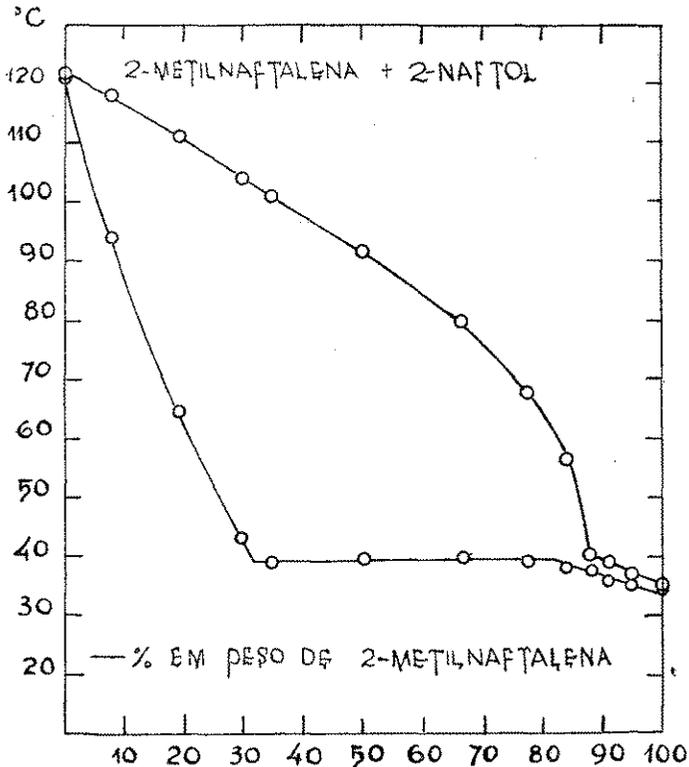


FIG. 12

% 2-metilnaftalena	% moles	P. D. °C	P. F. °C
0,0	0,0	121,4	122,1
8,1	8,2	94,0	118,0
19,5	19,7	64,5	111,2
30,1	30,4	43,2	104,0
35,4	35,7	39,2	101,0
50,5	50,8	29,2	91,5
66,8	67,1	39,2	79,5
78,3	78,6	39,0	67,4
84,3	84,9	38,4	56,6
88,1	88,2	37,2	40,9
90,8	91,0	36,2	39,2
95,0	95,0	35,2	37,5
100,0	100,0	34,8	35,7

Os componentes deste sistema formam um diagrama do tipo IV. O ponto de transição da curva de fusão, acha-se a temperatura de 40,0° com cerca 88% de 2-metilnaftalena.

A lacuna de miscibilidade vai de cerca 32% a cerca 84% de 2-metilnaftalena.

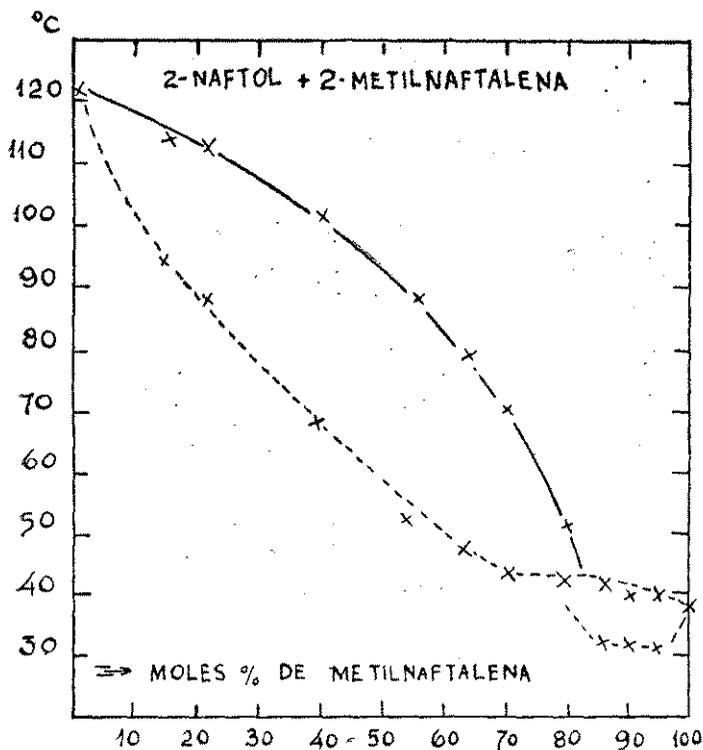


Fig. 13

Gráfico de Grimm, Günther e Tittus

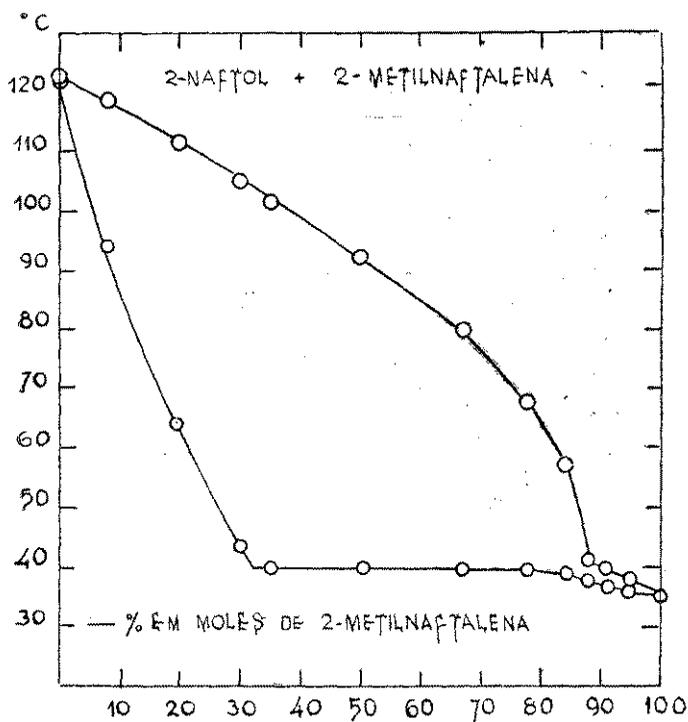


Fig. 14

RESUMO

Foi estudado pela análise térmica, segundo o método de H. Rheinboldt de "Degêlo-fusão", o comportamento de 7 sistemas binários formados por halogeno — e pseudohalogeno — (CH_3 , NH_2 , OH) naftalenas substituídas na posição beta.

Obtiveram-se os seguintes resultados:

- 1 — Naftalena e 2-Fluornaftalena — C. M. I.
- 2 — 2-Fluornaftalena (A) e 2-Clornaftalena (B) — C.M.III. min. a 52° e 50% (A).
- 3 — 2-Fluornaftalena (A) e 2-Bromonaftalena (B) — C.M.III. min. a 42° e 47% (A).
- 4 — 2-Clornaftalena e 2-Bromonaftalena — C.M.I.
- 5 — 2-Clornaftalena (A) e 2-Naftol (B) — C.M.IV., L.M. 34-79% (A), P.T. $63,6^\circ$ e $82,7^\circ$ (A).
- 6 — 2-Clornaftalena (A) e 2-Naftilamina (B) — C.M.IV, L.M. 32-65% (B), P.T. 67° e 29% (B).
- 7 — 2-Naftol (A) e 2-Metilnaftalena (B) — C.M.IV, L. M. 32-84% (B), P. T. 40° e 88% (B).

C.M. — Cristais mistos (Tipos I, II, III, IV e V) seg. B. Roozeboom.

L.M. — Lacuna de miscibilidade.

P. T. — Ponto de transição da curva de fusão.
min. — mínimo.

SUMMARY

By means of the thermic analysis carried out by the "Thaw-melting method", 7 binary systems of 2-substituted halogen and pseudohalogen (CH_3 , NH_2 , OH) — Naphtalenes were analysed.

The following diagrams were obtained:

- 1 — Naphtalene + Fluoronaphtalene — M.C.I. (Fig. 1).
- 2 — 2-Fluoronaphtalene + 2-Chloronaphtalene — M.C.III (Fig. 2).
- 3 — 2-Fluoronaphtalene + 2-Bromonaphtalene — M.C.III (Fig. 3).

- 4 — 2-Chloronaphtalene + 2-Bromonaphtalene — M.C.I.
(Fig. 4).
- 5 — 2-Chloronaphtalene + 2-Naphtol — M.C. (Fig. 5).
- 6 — 2-Chloronaphtalene + 2-Naphthylamine — M.C.IV
(Fig. 9).
- 7 — 2-Naphtol + 2-Methylnaphtalene — M.C. IV (Fig. 12).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — KLEMM, L., W. KLEMM e G. SCHIEMANN — 1933 — Z. physik. Chem. (A) 165:379-390; Chem. Zentr. 1933:II.1965.
- 2 — GRIMM, H. G., M. GÜNTHER e H. TITUS — 1931 — Z. physik. Chem. (B) 14:169-218; Chem. Zentr. 1932:I.5.
- 3 — RHEINOLDT, H. e col. — 1925 — J. prakt. Chem. (2) 111:242, — 1926 — 112:187, 1926 — 113:199 e 348; Chem. Zentr. — 1926:I.2069,2873, 1926:II.1113, 2031; Ber., — 1941 — 74:756; Chem. Abstracts. 1941 — 35:6503.
- 4 — BAKHUIS-ROOZEBOOM, H. W. — 1899 — Z. physik. Chem. 30:385; Chem. Zentr. 1900:I.7; Jahresber. Chem. 1899:100.
- 5 — TIMMERMANS, JEAN — 1936 — "Les solutions concentrées" (Masson & Cie., Paris, pag. 194).
- 6 — HÖLZL, F., em Londolt-Börnstein — 1935 — "Physikalisch-Chemische Tabellen", 5a. ed., Erg. Bd. III, tabela 122, pag. 563-578; esp. pag. 573.
- 7 — RUER, R. — 1907 — Z. physik. Chem. 59:4; Chem. Zentr. 1907:II.4.
- 8 — TIMMERMANS, J. — veja citação nº 5, pag. 95.
- 9 — HÖLZL, F. — veja citação nº 6, pag. 568.
- 10 — HÖLZL, F. — veja citação nº 6, pag. 569.
- 11 — TIMMERMANS, J. — veja citação nº 5, pag. 453 e fig. 462.
- 12 — TIMMERMANS, J. veja citação nº 5, pag. 262.
- 13 — HÖLZL, F. — veja citação nº 6, pag. 575.
- 14 — TIMMERMANS, J. — veja citação nº 5, pag. 402.
- 15 — LETTRÉ, H., H. BARNBECK e W. LEGE — 1936 — Ber., 69:1151; Chem. Zentr. 1936:II.601.
- 16 — KNOEVENAGEL, E. — 1914 — J. prakt. Chem. [2] 89:35; Chem. Zentr. 1914:I.892.
- 17 — NOYES, A. A. e C. C. ABBOT — 1897 — Z. physik. Chem. 23:63; Chem. Zentr. 1897:II.90.
- 18 — MASCARELLI, L. e V. BABINI — 1909 — Atti. Accad. Lincei. [5] 18:II.222; Chem. Zentr. 1909:II.2149.
- 19 — RHEINOLDT, H. e M. KIRCHEISEN — 1926 — J. prakt. Chem. [2] 113:203 e 205; Chem. Zentr. 1926:II.1113.
- 20 — SCHIFF, R. — 1883 — Ann. Chem. 223:262; Jahresber. Chem. 1884:62; Chem. Zentr. 1884:580.
- 21 — PARKS, G. S. e H. M. HUFFMAN — 1931 — Ind. Eng. Chem. 23:1138; Chem. Zentr. 1931:II.3087.

- 22 — HULETT, G. A. — 1899 — Z. physik. Chem. 28:629; Chem. Zentr. 1899:I.1147.
- 23 — VIGNON, L. — 1891 — Comptes rend. 113:133; Chem. Zentr. 1891: II.539.
- 24 — BOGOJAWLENSKI, A. — 1904 — Schriften Dorpater Naturfor. Ges. 13:1; Chem. Zentr. 1905:II.946.
- 25 — JAQUEROD, A. e E. WASSMER — 1904 — Ber., 37:2532; Chem. Zentr. 1904:II.337; J. chim. phys. 2:52 — 1903.
- 26 — MONRGE, K. P. — 1919 — Ind. Eng. Chem. 11:1119; Chem. Zentr. 1921:I.285.
- 27 — BURRIEL, F. — 1931 — Anales Soc. espan. fis. quim. 29:89; Chem. Zentr. 1931:I.2732. (Bruessel, Univ. "Bureau des Étalons Phys.-Chim.).
- 28 — MILLS, E. J. — 1882 — Phil. Mag. [5] 14:27; Jahresber. Chem. 1882: 104; Proc. Roy. Soc. 33:208; Chem. Zentr. 1882:292.
STELZNER; Register 1914-15.
- 29 — TIMMERMANS, J., e F. BURRIEL — 1931 — Chimie & Industrie 25 Sond.-Nr. 3 bis 196. (Bruessel, Univ. "Bureau des Étalons Physico-Chimiques"); Chem. Zentr. 1931:II.875.
- 30 — SCHEUER, O., — 1910 — Z. physik. Chem. 72:513; Chem. Zentr. 1910:II.1.
- 31 — WASSILJEW, A. M. — 1917 — J. Russ. physik. Chem. Ges. 48:1779; Chem. Zentr. 1923:I.1501.
- 32 — BLOCK, H. — 1911 — Z. physik. Chem. 78:397; Chem. Zentr. 1912:I.705.
- 33 — BEULE, P. de — 1931 — Bull. soc. chim. Belg. 40:195; Chem. Zentr. 1931:II.970 (valor corrigido).
- 34 — WAIÐNER, C. W. e G. K. BURGESS — 1911 — Chem. News. 103:25. (Washington Bur. of Standards); Chem. Zentr. 1911:I.705.
- 35 — MEYER, V. e W. RIDDLE — 1893 — Ber., 26:2446.
- 36 — RHEINBOLDT, H. — 1925 — J. prakt. Chem. [2] 111:250 e 255; Chem. Zentr. 1926:I.2070.
STELZNER; Register 1916-18.
Idem; idem 1919-21.
- 37 — KEMPF, R. — 1908 — J. prakt. Chem. [2] 78:256; Chem. Zentr. 1908: II.1407 valor corr.
- 38 — SSOBOLEWA, V. — 1902 — Z. physik. Chem. 42:80; Chem. Zentr. 1902: II.1378.
- 39 — BERTI, F. — 1942 — "Estudo sôbre sistemas binários orgânicos", Tese de doutoramento da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo (Departamento de Química), pag. 111-130.
- 40 — SCHIEMANN, G. e C. BALZ — 1927 — Ber., 60:1186; J. prakt. Chem. [2] 140:97 (1934) — Chem. Zentr. 1934:II.1116.
- 41 — N. NAKATA — 1931 — Ber., 64:2066; Chem. Zentr. 1931:II.2701.
- 42 — EKBOM, A. e A. MAUZELIUS — 1889 — Ber., 22:1846.
- 43 — VALENTINER e SCHWARZ — 1898 — D.R.P. 96153; Chem. Zentr. 1898: I.1224; Z. angew. Chem. 1898:441.

- 44 — KLEMM, L., W. KLEMM e G. SCHIEMANN — 1933 — Z. physik. Chem. (A) 165:384; Chem. Zentr. 1933:II.1965.
- 45 — PARTS, A. — 1930 — Z. physik. Chem. (B) 10:265; Chem. Zentr. 1931: I.901.
- 46 — SCHIEMANN, G., W. GUEFFROY e W. WINKELMULLER — 1931 — Ann. Chem. 487:276; Chem. Zentr. 1931:II.1281.
- 47 — VAN der KAN, E. J. — 1926 — Rec. trav. chim. 45:564; Chem. Zentr. 1926:II.1272.
- 48 — RYMARENKO, H. — 1876 — Ber., 2:664; Jahresber. Chem. 1876:404.
- 49 — AUWERS, KARL. e A. FRÜHLING — 1921 — Ann. Chem. 422:133-139; Chem. Zentr. 1921:I.768.
- 50 — MENSCHUTKIN — J. Russ. physik. Chem. Ges. 44:1084; Chem. Zentr. 1912:II.1436.
- 51 — JEFFREY, N. N. — J. Russ. physik. Chem. Ges. 50:381; Chem. Zentr. 1923:II.380.
- 52 — RHEINBOLDT, H. e F. BERTI — 1942 — Química nº 1, Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, pag. 22.
- 53 — ROUX, L. — 1886 — Bull. soc. chim. [2] 45:510; Jahresber. Chem. 1886:651.
- 54 — KLEMM, L., W. KLEMM e G. SCHIEMANN — veja citação nº 1.
- 55 — PARTS, A. — 1930 — Z. physik. Chem. (B) 10:264; Chem. Zentr. 1931:I.901.
- 56 — PRICE, CHAPIN, GOLDMAN, KREBS, SHAFER — 1941 — J. Am. Chem. Soc. 63:1861; Chem. Abstracts — 1941 — 35:5889.
- 57 — HEUMANN e KOCHLIN — 1883 — Ber., 16:1627; Jahresber. Chem. 1883:297.
- 58 — LIEBERMANN e PALM — Ann. Chem. 183:270; Jahresber. Chem. 1876:404.
- 59 — PALM, F. — 1876 — Ber., 9:500; Jahresber. Chem. 1876:721.
- 60 — NEWMANN, M. E. e P. H. WISE — 1941 — J. Am. Chem. Soc. 63:2847; Chem. Abstracts 1942 — 36:452.
- 61 — BERTI, F. — 1942 — Química nº 1, Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, pag. 23 do produto Kodak, P.F. = 55,56°.
- 62 — WILLEMART A. — 1937 — Bull. soc. chim. (5), 4:361; Chem. Zentr. 1937:I.3329.
- 63 — NEWMANN, M. E. e P. H. WISE — veja citação 60.
- 64 — PARTS, A. — 1930 — Z. physik. Chem. (B) 10:264; Chem. Zentr. 1931:I.901.
- 65 — BRUNEL, O. — 1884 — Ber., 17:1179; Jahresber. Chem. 1884:558.
- 66 — KLEMM, L., W. KLEMM e G. SCHIEMANN — veja citação nº 1.
- 67 — LELLMANN, E. e A. REMY — 1886 — Ber., 19:810; Jahresber. Chem. 1886:1047.
- 68 — SAH, P. P. T. — 1940 — Rec. trav. chim. 59:1021; Chem. Zentr. 1941:I.212; Chem. Abstracts — 1941 — 35:4763.
- 69 — LIEBERMANN, C. e F. PALM — 1876 — Ann. Chem. 183:269; Jahresber. Chem. 1876:403.

- 70 — HEY, H. e E. R. B. JACKSON — 1936 — J. Chem. Soc. 1936:1783; Chem. Zentr. 1937:I.3327.
- 71 — SCHROETER, G. e col. — 1938 — Ber., 71:1040; Chem. Zentr. 1938:II.311.
- 72 — BAMBERGER, E., M. BAUM e L. SCHLEIN — 1922 — J. prakt. Chem. (2) 105:273; Chem. Zentr. 1923:III.141.
- 73 — RHEINOLDT, H. e M. KIRCHEISEN — 1926 — J. prakt. Chem. (2) 113:203; Chem. Zentr. 1926:II.1113.
- 74 — SCHAEFFER, L. — 1869 — Ann. Chem. 152:282; Jahresber. Chem. 1869:486; Chem. Zentr. 1869:278; Ber., 2:91.
- 75 — LOEVENICH, J. e A. LOESER — 1927 — Ber., 60:324; Chem. Zentr. 1927:I.1677.
- 76 — PALM, Fr. — 1876 — Ber., 9:499; Jahresber. Chem. 1876:721.
- 77 — LIEBERMANN e Fr. PALM — 1873 — Ann. Chem. 183:268; Jahresber. Chem. 1876:403.
- 78 — GRIMM, H. G., M. GUENTHER e H. TITUS — 1931 — Z. physik. Chem. (B) 14:186; Chem. Zentr. 1932:I.5.
- 79 — MAIKOPAR, B. — 1869 — J. Russ. physik. Chem. Ges. 1:124; Z. Chem. 1869:216; Chem. Zentr. 1869:350; Jahresber. Chem. 1869:490.
- 80 — SKAU, E. L. — 1935 — J. phys. Chem. 39:761; Chem. Zentr. 1935:II.2199.
- 81 — MAJIMA, R., T. UNNO e K. ONO — 1922 — Ber., 55:3858; Chem. Zentr. 1923:I.322.
- 82 — FRANZEN, H. e G. STAEUBLE — 1920 — J. prakt. Chem. (2) 101:65; Chem. Zentr. 1921:I.286.
- 83 — VESELY, V. e L. K. CHUDOZILOV — 1925 — Rec. trav. Chim. 44:352; Chem. Zentr. 1926:I.86.
- 84 — RHEINOLDT, H., K. KENNING e M. KIRCHEISEN — 1925 — J. prakt. Chem. (2) 111:251; Chem. Zentr. 1926:I.2071.
- 85 — MENSCHUTKIN, N. e N. BUTKOW — 1926 — Ann. Inst. Anal. phys. chim. Leningrado 3:405; Chem. Zentr. 1927:I.2651.
- 86 — JOUNIAUX — 1912 — Bull. soc. chim. (4) 11:550; Chem. Zentr. 1912:II.190.
- 87 — BASKOW, A. — 1918 — J. Russ. physik. Chem. Ges. 50:592; Chem. Zentr. 1923:III.1026.
- 88 — MERZ, V. e W. WEITH — 1880 — Ber., 13:1301.
- 89 — PERKIN, W. H. — 1896 — J. Chem. Soc. 69:1212; Chem. Zentr. 1896:II.699.
- 90 — LIEBERMANN, C. e Fr. SCHEIDING — 1876 — Ann. Chem. 183:265.
- 91 — COSINER, C. — 1881 — Ber., 14:58; Chem. Zentr. 1881:363.
- 92 — LIEBERMANN, C. e P. JACOBSON — 1882 — Ann. Chem. 211:41; Chem. Zentr. 1882:258.
- 93 — KRUBER, O. — 1933 — Ber., 66:1653; Chem. Zentr. 1934:I.159.
- 94 — SENGUPTA, S. C. — 1938 — J. prakt. Chem. (2) 151:82; Chem. Zentr. 1938:II.2585.
- 95 — TAMMANN, O. — 1897 — D.R.P. 95579; Chem. Zentr. 1898:I.812.
- 96 — WEISSGERBER, R. e O. KRUBER — 1919 — Ber., 52:346; Chem. Zentr. 1919:I.454.
- 97 — AUWERS, K. v. e A. FRUEHLING — 1921 — Ann. Chem. 422:192; Chem. Zentr. 1921:I.769.

- 98 — SCHULZE, K. E. — 1884 — Ber., 17:844.
- 99 — LESSER, R. — 1914 — Ann. Chem. 402:1.10 (Ann.2), 30; Chem. Zentr. 1914:I.466.
- 100 — MORGAN, G. T. e E. A. COULSON — 1934 — Soc. Chem. Ind. 531:73; Chem. Zentr. 1934:II.172.
- 101 — VESELY, V. e F. STURSA — 1934 — Collection trav. chim. tchèques 6:137; Chem. Zentr. 1934:I.3589.
- 102 — PRICE, Ch. C., E. C. CHAPIN, A. GOLDMAN, E. KREBS, e H. M. SCHAFER — 1941 — J. Am. Chem. Soc. 63:1860.
- 103 — MEYER, R. e H. FRICKE — 1914 — Ber., 47:2770; Chem. Zentr. 1914:II.1297.
- 104 — McVICKER, W. H., J. K. MARSH e A. W. STEWART — 1925 J. Chem. Soc. 127:999; Chem. Zentr. 1925:II.520.
- 105 — HUFFMAN, M. H., G. S. PARKS e M. BARMORE — 1931 — J. Am. Chem. Soc. 53:3876; Chem. Zentr. 1931:II.3087.
- 106 — PARKS, G. S. e H. M. HUFFMAN — 1931 — Ind. Eng. Chem. 23:1138; Chem. Zentr. 1931:II.3086.
- 107 — OLIVIER, S. C. J. e J. WIT — 1938 — Rec. trav. chim. 57:92; Chem. Zentr. 1938:I.3042.
- 108 — PRICE, Ch. C., E. C. CHAPIN, A. GOLDMAN, E. KREBS, e H. M. SHAFER — 1941 — veja citação n.º 102.
- 109 — GROSSE, A. V. e V. N. IPATIEFF — 1937 — J. Org. Chem. 2:458; Chem. Zentr. 1938:II.846.
- 110 — SAH, P. P. T. — 1940 — Rec. trav. chim. 59:1021; Chem. Zentr. 1941:I.212.
- 111 — GRIMM, H. G., M. GUENTHER, e H. TITTUS — 1931 — Z. physik. Chem. (B) 14:186; Chem. Zentr. 1932:I.5.
- 112 — WICHELHAUS, H. — 1891 — Ber., 21:3920.
- 113 — FITTIG, R. e L. LIEBMANN — 1889 — Ann. Chem. 255:264-273; Jahrbuch. Chem. 1890:1485.
- 114 — BAMBERGER, M. e H. v. KLIMBURG — 1917 — Monatsh. 38:457; Chem. Zentr. 1918:II.1042.
- 115 — FOCK, A. — 1895 — Z. Krist. 23:215; Chem. Zentr. 1895:II.591.

SISTEMAS BINÁRIOS DE COMPOSTOS ORGÂNICOS HOMÓLOGOS *

WALDOMIRO PREGNOLATTO

Químico do Instituto Adolfo Lutz

PARTE TEÓRICA

Foram pesquisados já numerosos sistemas binários de compostos orgânicos homólogos das mais diversas séries, especialmente sistemas constituídos por homólogos superiores de carbídretos e de ácidos carboxílicos alifáticos. Apresentamos neste trabalho a análise térmica dos cinco sistemas binários de homólogos inferiores imediatos seguintes:

- 1) Formanilida e acetanilida
- 2) α -Formnaftalida e α -acetnaftalida
- 3) β -Formnaftalida e β -acetnaftalida
- 4) Bis-feniletilenoglicoleter e bis-feniltrimetilenoglicoleter
- 5) Bis-p-toliletilenoglicoleter e bis-p-toliltrimetilenoglicoleter

Os três primeiros sistemas binários da série acima, podem ser considerados também como exemplos duma substituição de hidrogênio pelo grupo metilo.

Encontramos nos sistemas 1), 3), 4), e 5) a formação de simples conglomerados entre os componentes. Sòmente entre α -formnaftalida e α -acetnaftalida observamos a formação limitada de cristais mixtos, pertencendo o sistema ao tipo V, da classificação de Roozeboom (H.W.B. Roozeboom, Zeitschr. physik. Chem. 30:385 (1899); Jahresber. Chem. 1899:100; Chem. Zent. 1900, I, 7), com uma muito grande lacuna de miscibilidade no estado sólido, lacuna:

(*) Da tese de doutoramento dirigida pelo prof. Dr. Heinrich Rheinboldt. Recebido para publicação em 20-9-48.

que se estende de 14 a 69% de α -acetnaftalida. Este resultado inesperado, sobretudo quando comparado com o obtido no sistema correspondente entre os isômeros da posição β - não tem explicação razoável.

PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental dêste trabalho compreende a indicação dos métodos de preparação ou purificação das substâncias por nós usadas com a bibliografia dos diferentes pontos de fusão que são encontrados na literatura e a determinação dos gráficos de degelo-fusão dos sistemas binários.

I) PREPARAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS SUBSTANCIAS

1) *Preparação da formanilida.*

Segundo as indicações de G. Tobias¹ e F. K. Kleine², 10g de anilina recentemente destilada foram aquecidas a refluxo juntamente com 5g de ácido fórmico a 85% durante 3 horas. O produto resultante foi duas vezes destilado no vácuo e depois recristalizado 3 vezes de uma mistura de éter e éter de petróleo (30-50°). Agulhas brancas finíssimas. Rendimento: 12,5g.

A substância assim purificada apresentou:

P.D. = 45,0°
P.F. = 46,0°

A literatura indica para formanilida os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
46°	C. Tobias	1882	3
46°	Gerhardt	1847	4
46,2°	K. Grinakowski	1912	5
46,82°	F. Dreyer	1904	6
45-47°	R. S. Bly, G. A. Perkins e W. L. Lewis	1922	7
47°	O. Schmidt	1903	8
47-47,5°	A. N. Meldrum e W. E. S. Turner	1910	9
50°	H. H. Van der Linden	1911	10
47,5°	Hodgman's, "Handbook of Chemistry and Physic", 28.ª ed.	1944	10

Os pontos de fusão registrados na literatura apresentam o intervalo de 5°. O ponto de fusão do nosso produto está de acôrdo com os valores mais baixos.

2) Preparação de α -formnaftalida.

Seguindo as indicações de G. Tobias¹¹ adicionamos 16g de α -naftilamina a 100 cm³ de ácido fórmico a 16,3% e a solução assim obtida foi levada à ebulição, a refluxo durante meia hora. Ao contrário da indicação do autor, a α -naftilamina não se dissolveu totalmente no ácido fórmico diluído, mesmo depois de uma hora de aquecimento. Adicionou-se então ácido fórmico a 85%, e assim toda a α -naftilamina se dissolveu; com isto deu-se por terminada a reação. Com o resfriamento separou-se a α -formnaftalida em forma de agulhas com brilho de sêda, que foram três vezes recristalizadas em água fervente, e por fim, uma vez de benzena e éter de petróleo (35-50°). Assim se obtiveram agulhas incolores. Rendimento: 84%.

P.D. = 138,4°

P.F. = 139,0°

Pontos de fusão indicados na literatura para α -formnaftalida:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
137°	C. Lübemann e P. Jacobson	1882	12
137,5°	H. R. Hirst e J. B. Cohen	1895	13
138,5°	G. Tobias	1882	11

De conformidade com as indicações de G. Tobias¹¹, 13g de três sòmente, variam de 1,5°. Nosso produto, fundindo a 139°, está praticamente de acôrdo com o valor mais elevado.

3) Preparação de β -formnaftalida.

De conformidade com as indicações de G. Tobias¹¹, 13g de β -naftilamina foram adicionadas a 100 cm³ de ácido fórmico a 16,3%, fervendo-se durante uma hora. Como, porém, findo êsse

tempo, nem tôda a β -naftilamina tinha-se dissolvido, precedemos à adição, como fizemos na preparação anterior, de ácido fórmico a 85%; com isto, a reação se completou. O produto bruto foi levado à ebulição com água, recristalizado uma vez de álcool-água e por fim, dissolvido em benzena e reprecipitado pela adição de éter de petróleo (35-50°). Rendimento: 90% do teórico.

P.D. = 128,8°

P.F. = 129,7°

Os pontos de fusão registrados na literatura para a β -formnaftalida são os da tabela abaixo:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
128°	H. Cosiner	1881	14
128°	G. Tobias	1882	11
129°	C. Liebermann e P. Jacobson	1882	15

Os pontos de fusão que a literatura registra, pouco numerosos aliás, variam de 1°. Nosso produto funde a uma temperatura um pouco mais alta (0,7°) do que o valor mais elevado registrado, mas a diferença, bastante pequena, entre o ponto de degêlo e o ponto de fusão acusada pela nossa substância, nos permite dizer achar-se ela quimicamente pura.

4) *Preparação do bis-feniletilenoglicoléter.*

Seguindo as indicações de *M. E. Lippmann*¹⁶ uma solução alcoólica de 10g de fenol, 10g de brometo de etileno e 4,2g de hidróxido de sódio foi aquecida em banho-maria, a refluxo, durante duas horas. Com o resfriamento separou-se o bis-feniletilenoglicoléter, o qual, depois de filtrado, foi duas vêzes recristalizado de álcool. Rendimento: 12g.

P.D. = 96,2°

P.F. = 97,0°

São em pequeno número — três — os pontos de fusão que vêm indicados na literatura para o bis-feniletilenoglicoléter.

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
97-98°	W. Solonina	1898	17
98°	Remart-Lucas e J. Hoch	1932	18
98-98,5°	A. C. Cope	1934	19
98,5°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic".	1944	

O ponto de fusão do produto que preparámos, encontra-se a 1º abaixo do valor inferior registrado na literatura.

5) *Preparação do bis-p-toliletilenoglicoleter.*

Segundo A. C. Cope²⁰ 12g de p-cresol destilado no vácuo, 10,4g de brometo de etileno e 4,5g de hidróxido de sódio foram dissolvidos em 20 cm³ de álcool e refluxados durante duas horas em banho-maria fervente. Ao resfriar, separou-se o bis-p-toliletilenoglicoleter, que foi filtrado e lavado com álcool frio. Rendimento: 12g (cêrca de 95% do teórico).

A substância depois de purificada pela recristalização de álcool (3 vêzes), apresentou:

P.D. = 134,6°

P.F. = 135,6°

Pontos de fusão indicados na literatura para o bis-p-toliletilenoglicoleter:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
134,5°	E. Fuchs	1869	21
135-136°	A. C. Cope	1934	22

O ponto de fusão do nosso produto está de acôrdo com o valor indicado por A. C. Cope, o qual preparou a substância pela segunda vez, analisou-a e corrigiu suas constantes físico-químicas.

6) *Purificação da acetanilida.*

A substância preparada por F. Berti, foi recristalizada de álcool etílico, apresentando:

P.D. = 113,8°
P.F. = 114,8°

Para a acetanilida a literatura indica os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
113°	J. Schmidlin e M. Bergman	1910	23
112-113°	H. W. Underwod Jr. e J. C. Gale	1934	24
112-113°	O. Wallach e M. Hoffmann	1875	25
113°	H. Franzen	1909	26
113-114°	Deutsches Arznelbuch	1926	27
114°	A. Elbner	1901	28
114°	J. H. Mathews	1917	29
114°	M. Raffo e O. Balduzzi	1917	30
114°	F. J. Sowa e J. A. N'euwland	1937	31
114°	S. M. Mestry e P. C. Guha	1930	32
114-115°	A. Wahl e C. Silberzweig	1912	33
115°	J. Gasopoulos	1926	34
115°	E. Sakellarios	1927	35
115-116°	Br. Pawlewski	1898	36
114°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28. ^a ed.	1944	

Os numerosos pontos de fusão registrados na literatura, mostram um intervalo de 4°. O ponto de fusão do nosso produto concorda com os valores mais elevados.

7) *Purificação da α -acetnaftalida.*

A substância, preparada por F. Berti, depois de recristalizada de álcool, apresentou:

P.D. = 158,9°

P.F. = 159,7°

A literatura registra para a α -acetnaftalida os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
157-159°	G. Schroeter e col.	1930	37
159°	C. Liebermann	1876	38
159°	G. Andreoni e R. Biedermann	1873	39
159°	A. Kaufmann	1909	40
159°	B. Pawlewski	1902	41
159°	W. M. Dehn	1912	42
159°	F. J. Sowa e J. A. Nieuwland	1937	43
160°	A. Calm	1882	44
160°	H. Gilmann e M. Furry	1928	45
159-160°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28. ^a ed.	1944	

Os valores indicados na literatura, assim como o por nós obtido, estão de acôrdo entre sí.

8) Purificação da β -acetnaftalida.

A substância, preparada por F. Berti, foi recristalizada de uma mistura alcoólica-aquosa, apresentando:

P.D. = 132,0°

P.F. = 132,8°

Os pontos de fusão registrados na literatura para β -acetnaftalida, são os contidos na tabela abaixo:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
131-132°	C. Liebermann e R. Jacobson	1882	46
132°	C. Liebermann e Fr. Scheiding	1875	47
132°	C. Cosner	1881	48
132°	A. Calm	1882	49
132°	A. Kaufmann	1909	50
132°	F. J. Sowa e J. A. Nieuwland	1937	51
134°	W. M. Dern	1912	52
134-136°	B. Pawlewski	1902	53
132°	Hodgman's "Handbook of Chemistry and Physic", 28. ^a ed.	1944	

O ponto de fusão do nosso produto é, pois, como se vê, um pouco mais elevado que os valores mais frequentes da literatura.

9) *Purificação do bis-feniltrimetilenoglicoléter.*

A substância preparada por S. Mathias, depois de recristalizada de álcool, apresentou:

P.D. = 60,2°

P.F. = 61,0°

A literatura registra, para o bis-feniltrimetilenoglicoléter, os seguintes pontos de fusão:

P. F.	AUTORES	ANO	LITER. N.º
59-60°	E. Vere Bell, G. M. Bennett e A. L. Hoch	1927	54
60-61°	Ramart-Lucas e J. Hoch	1932	55
61°	J. Lohmann	1891	56
61°	J. von Braun	1909	57
61°	W. Solonina	1899	58

Os pontos de fusão que vêm indicados na literatura e o por nós determinado acham-se entre si em perfeita concordância.

10) *Purificação do bis-p-toliltrimetilenoglicoléter.*

A substância prepara por S. Mathias, foi recristalizada de álcool, apresentando:

P.D. = 92,0°

P.F. = 92,8°

Um único ponto de fusão vem indicado na literatura para o bis-p-toliltrimetilenoglicoléter, e que é o seguinte:

P. F.	AUTOR	ANO	LITER. N.º
94,0°	P. Blank	1892	59

O ponto de fusão do nosso produto acha-se a 1,2° mais baixo que o valor registrado na literatura.

II) ANÁLISE TÉRMICA DOS SISTEMAS BINÁRIOS

Na análise térmica destes cinco sistemas binários, empregamos o método de "degêlo-fusão" criado por H. Rheinboldt.*

As diferentes misturas dos componentes foram sempre obtidas pela fusão completa das substâncias.

Os pontos de degêlo e de fusão das misturas dos componentes foram determinados em capilares de vidro, salvo em alguns casos de concentrações extremas, quando então se recorreu ao auxílio do microscópio de aquecimento elétrico.

Os pontos de degêlo (P.D.) e os pontos de fusão (P.F.) foram sempre observados em provas separadas.

As porcentagens indicadas para as diferentes misturas, são sempre por cento em pêso.

1) SISTEMA BINÁRIO: FORMANILIDA E ACETANILIDA

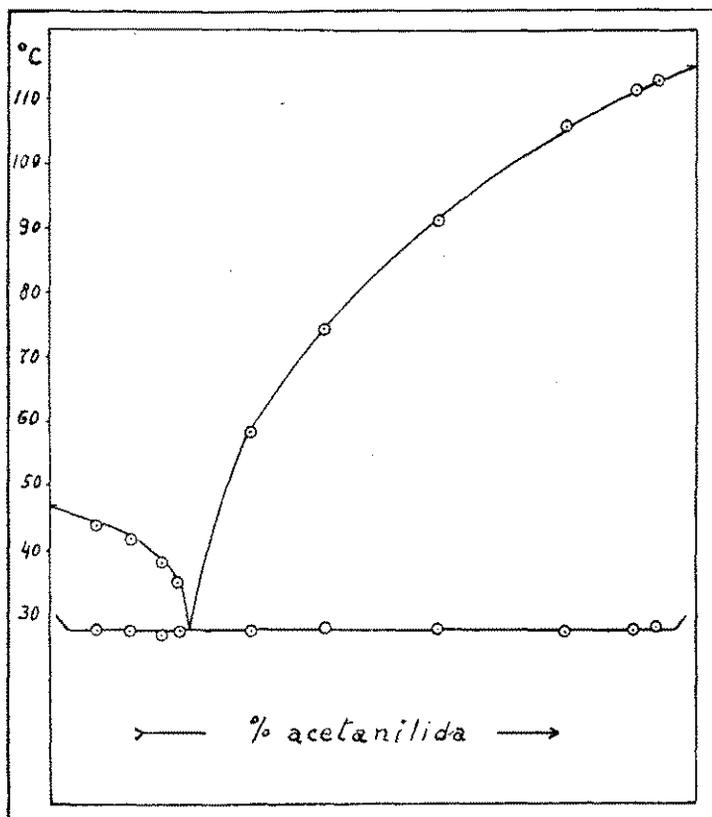


Fig. 1

% de acetanilida	P. D. °C	P. F. °C
0,00	45,0	46,0
7,62	27,2	43,8
12,90	27,0	41,4
17,98	26,2	38,0
20,43	27,4	35,4
31,83	27,2	58,8
43,31	27,8	74,2
60,33	27,6	91,0
80,20	27,6	105,5
91,06	27,8	111,4
94,70	28,0	112,8
100,00	113,8	114,8

Os componentes do sistema formam um simples conglomerado. Ao ponto eutético correspondem 27,0° e 22% de acetanilida.

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

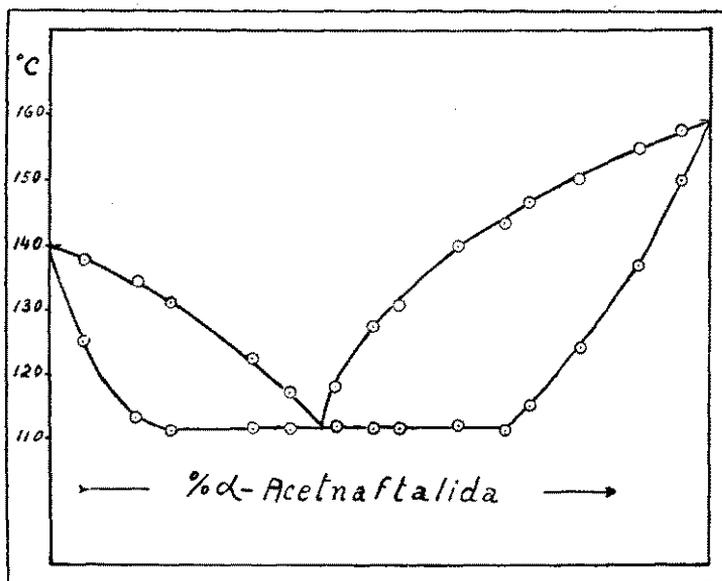
2) SISTEMA BINÁRIO: α -FORMNAFTALIDA E α -ACETNAFTALIDA

FIG. 2

% de α -acetnaftalida	P. D. $^{\circ}\text{C}$	P. F. $^{\circ}\text{C}$
0,00	138,4	139,0
4,89	125,3	138,0
12,83	113,2	134,4
17,87	111,4	131,4
20,14	111,4	122,2
36,23	111,4	117,0
42,83	111,4	118,0
48,97	111,4	127,4
52,19	111,4	130,4
61,57	111,6	139,8
68,97	111,2	143,5
72,65	115,0	146,6
80,19	124,0	150,0
89,24	137,0	155,0
95,76	150,0	158,0
100,00	158,9	159,7

O diagrama de estado d'êste sistema mostra que os componentes são parcialmente miscíveis no estado sólido, pertencendo pois o sistema, ao tipo V da classificação de Roozeboom. A lacuna de miscibilidade vai de 14 a 69% de α -acetnaftalida.

Ao ponto eutético correspondem 111,4 $^{\circ}$ e 41% de α -acetnaftalida.

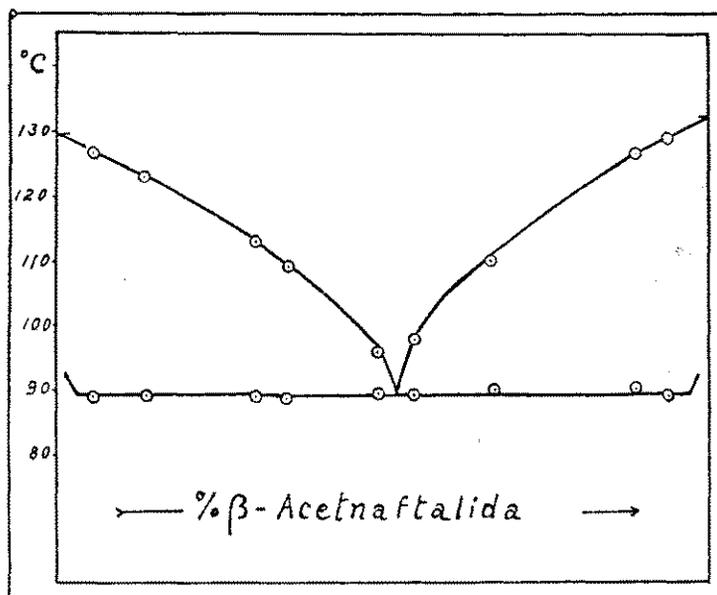
3) SISTEMA BINÁRIO: β -FORMNAFTALIDA E β -ACETNAFTALIDA

FIG. 3

% de β -acetnaftalida	P. D. °C	P. F. °C
0,00	129,0	129,7
5,70	89,0	126,8
13,42	89,0	123,4
30,53	89,0	113,2
35,29	89,0	109,5
49,95	89,8	96,8
54,83	89,6	98,2
66,73	90,6	110,8
89,34	90,6	126,8
94,05	89,0	129,4
100,00	132,0	132,8

O diagrama de estado d'êste sistema mostra que os componentes formam um simples conglomerado. Ao ponto eutético correspondem 89,0° e 52% de β -acetnaftalida.

4) SISTEMA BINÁRIO: BIS-FENILETILENOGLICOLÉTER E BIS-FENILTRIMETILENOGLICOLÉTER

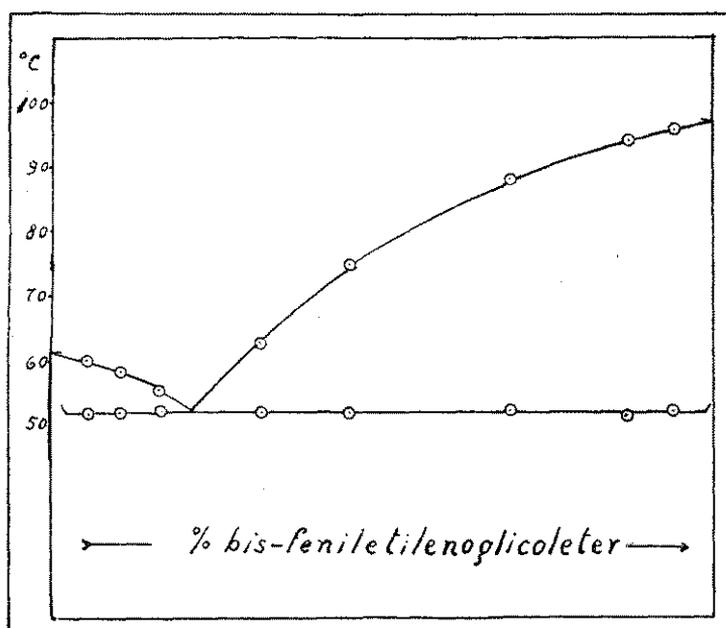


FIG. 4

% de bis-feniletilenoglicoléter	P. D. °C	P. F. °C
0,00	60,2	61,0
5,07	52,0	60,0
10,10	52,0	58,4
16,31	52,0	55,6
31,37	52,2	62,8
44,60	52,0	75,0
69,00	52,2	88,0
86,90	51,8	94,0
93,67	52,2	96,0
100,00	96,2	97,0

O diagrama de estado dêste sistema mostra que os componentes formam entre sí um simples conglomerado. Ao ponto eutético correspondem 52,0° e 21% em bis-feniletilenoglicoléter.

5) SISTEMA BINÁRIO: BIS-*p*-TOLILETILENOGLICOLETER E BIS-*p*-TOLILTRIMETILENOGLICOLETER

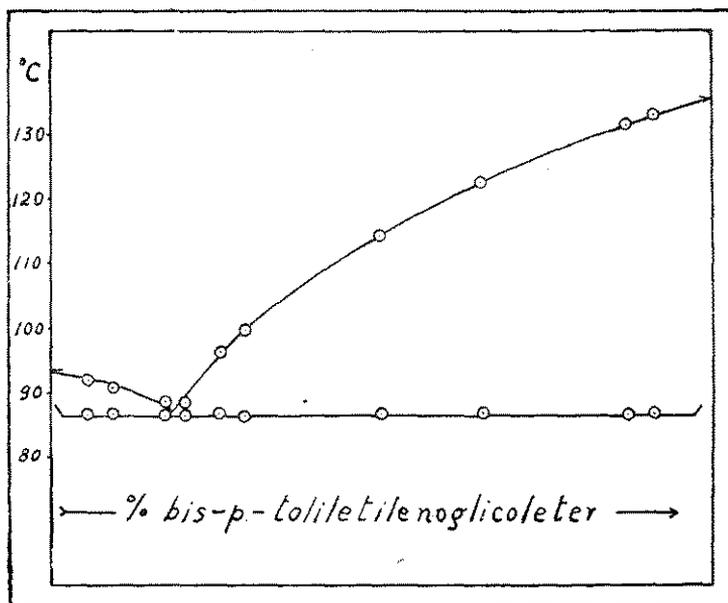


Fig. 5

% de bis- <i>p</i> -toliletilenoglicoleter	P. D. °C	P. F. °C
0,50	92,0	92,8
5,70	86,8	92,4
9,58	86,8	90,8
17,27	86,8	88,4
20,58	86,4	88,4
25,78	86,6	96,0
29,52	86,6	99,8
50,35	86,8	114,2
65,89	87,0	122,8
87,62	86,6	131,8
91,72	86,6	133,0
100,00	134,6	135,6

Os componentes do sistema formam um simples conglomerado. Ao ponto eutético correspondem 86,6° e 18% em bis-*p*-toliletilenoglicoléter.

RESUMO

O presente trabalho contém a elaboração da análise térmica de cinco sistemas binários, entre compostos orgânicos homólogos, que foram todos determinados pelo método de "degelo-fusão", criado por H. Rheinboldt.

Os resultados são os que se seguem:

- 1) Formanilida e acetanilida. Eutético.
- 2) α -Formnaftalida e α -acetnaftalida. Cristais mixtos V.
- 3) β -Formnaftalida e β -acetnaftalida. Eutético.
- 4) Bis-feniletilenoglicoleter e bis-feniltrimetilenoglicoleter. Eutético.
- 5) Bis-p-toliletilenoglicoleter e bis-p-toliltrimetilenoglicoleter. Eutético.

SUMMARY

The present paper contains the elaboration of the thermic analysis of five binary systems, between homologous organic compounds, which were all determined by the "thaw-melting" method, developed by H. Rheinboldt.

The results are the following:

- 1) Formanilide + acetanilide. Eutetic.
- 2) N- α -Naphthylformamide + N- α -Naphthylacetamide. Mixed crystals V.
- 3) N- β -Naphthylformamide + N- β -Naphthylacetamide. Eutetic.
- 4) 1,2-diphenoxyethane + 1,3-diphenoxypropane. Eutetic.
- 5) 1,2-ditoloxyethane + 1,3-ditoloxypropane. Eutetic.

LITERATURA

- 1 — Tobias, G. — 1882 — Ber., 15:2443
- 2 — Kleine, F. K. — Chem. Zent., 1897, I:179; Zeitschr. physiol. Chem. — 1896 — 22:327-32.
- 3 — Tobias, G. — 1882 — Ber., 15:2444
- 4 — Gerhardt — 1847 — Ann. 60:310; Beilst. XII:230
- 5 — Grinakowski, K. — Chem. Zent., 1912, II:667; Journ. russ. physico-chem. Ges. — 1912 — 44:789

- 6 — Dreyer, F. — Chem. Zent. 1904, II:434; Zeitschr. physik. Chem. — 1904 — 48:468
- 7 — Bly, R. S., Perkins, G. A. e Lewis, W. L. — 1922 — J. Am. Chem. Soc. 44:2900
- 8 — Schmidt, O. — 1903 — Ber. 36:2476
- 9 — Meldrum, A. N. e Turner, W. E. S. — Chem. Zent., 1910, II:1034; J. Chem. Soc. London — 1910 — 97:1607.
- 10 — Van der Linden, H. H. — 1911 — Ber., 44:715
- 11 — Tobias, G. — 1882 — Ber., 15:2447
- 12 — Liebermann, C. e Jacobson, P. — 1882 — Ann. 211:42; Beilst. XII:1229
- 13 — Hirst, H. R. e Cohen, J. B. — 1895 — J. Chem. Soc. London 67:830; Beilst. XII:1229
- 14 — Cosiner, H. — 1881 — Ber., 14:58
- 15 — Liebermann, C. e Jacobson, P. 1882 — Ann. 211:42; Beilst. XII:1284
- 16 — Lippmann, M. E. — Jahresber. Chem. 1869, 438; Bull. Soc. Chim. France — 1869 — [2] 12:119
- 17 — Solonina, V. — Chem. Zent., 1899, I:25; Journ. russ. physie. chem Ges. — 1898 — 30:606-32
- 18 — Ramart-Lucas e Hoch, J. — Chem. Zent. — 1932, II:2291; Bull. Soc. Chim. France — 1932 — [4] 51:824-38
- 19 — Cope, A. C. — Chem. Zentt. — 1935, I:3541; J. Am. Chem. Soc. — 1934 — 57:572-4
- 20 — Cope, A. C. — 1934 — J. Am. Chem. Soc. 57:574; Chem. Zent., 1935, I:3541
- 21 — Fuchs, E. — 1869 — Ber., 2:625
- 22 — Cope, A. C. — 1934 — J. Am. Chem. Soc. 57:573; Chem. Zent., 1935, I:3541
- 23 — Schmidlin, J. e Bergman, M. — 1910 — Ber., 43:2823
- 24 — Underwod Jr., H. W. e Gale, J. C. — Chem. Zent., 1935, I:46; J. Am. Chem. Soc. — 1934 — 56:2117
- 25 — Wallach, O. e Hoffmann, M. — 1875 — Ber., 8:1568; Jahresber. Chem. 1875, 671; Ann. 1876 — 184:86
- 26 — Franzen, H. — 1909 — Ber., 42:2468
- 27 — “Deutsches Arzneibuch” — 1926 — 6. Ausgabe, pag. 1 — (Berfim); Beilst. XII:238
- 28 — Eibner, A. — 1901 — Ber., 34:658
- 29 — Mathews, J. H. — 1917 — J. Am. Chem. Soc. 39:113; Chem. Zent. 1918, I:260
- 30 — Raffo, M. e Balduzzi, O. — Chem. Zent. 1918, I:1166; Gazz. Chim. Ital. — 1917 — 47:171
- 31 — Sowa, F. J. e Nieuwland, J. A. — Chem. Zent. — 1938, I:2527; J. Am. Chem. Soc. — 1937 — 59:1202
- 32 — Mestry, S. M. e Guha, P. C. — Chem. Zent. — 1931, I:1439; J. Indian. Chem. Soc. — 1930 — 7:793
- 33 — Wahl, A. e Silberweig, C. — Chem. Zent. — 1912, I:808; Bull. Soc. Chim. France — 1912 — [4] 41:66
- 34 — Gasopoulos, J. — 1926 — Ber., 59:2187
- 35 — Sakellarios, E. — 1927 — Ber., 60:219

- 36 — Pawlewski, Br. — 1898 — Ber., 31:661
37 — Schroeter, G. e col. — Chem Zent. — 1930, II:730; Ber., — 1930 —
63:1317
38 — Liebermann, C. — Chem. Zent. — 1877:115; Jahresber. Chem. —
1876:407; Ann., 1876:183, 229
39 — Andreoni, G. e Biedermann, R. — 1873 — Ber., 6:342
40 — Kaufmann, A. — 1909 — Ber., 42:3482
41 — Pawleswski, Br. — 1902 — Ber. 35, 112
42 — Dehn, W. M. — Chem. Zent. — 1912, II:2056; J. Am. Chem. Soc. —
1912 — 34:1405
43 — Sowa, F. J. e Nieuwland, J. A. — Chem. Zent. — 1938, I:2527; J. Am.
Chem. Soc. — 1937 — 59:1202
44 — Calm, A. — 1882 — Ber., 15:615
45 — Gilman, H. e Furry, M. — Chem. Zent. — 1928, I:2823; J. Am. Chem.
Soc. — 1928 — 50:1214
46 — Liebermann, C. e Jacobson, R. — Jahresber Chem. — 1882: 781; Ann.,
1882 — 211:42.
47 — Liebermann, C. e Scheiding, Fr. — Chem. Zent. — 1875:691; Ann.
1876 — 183:267; Ber., 1875 8:1110.
48 — Cosiner, C. — 1881 — Ber., 14:59
49 — Calm, A. — 1882 — Ber., 15:611
50 — Kaufmann, A. — 1909 — Ber., 42:3482
51 — Sowa, F. J. e Nieuwland, J. A. — Chem. Zent. — 1938, I:2527; J.
Am. Chem. Soc. — 1937 — 59:1202
52 — Dern, W. M. — Chem. Zent. 1912, II:2056; J. Am. Chem. Soc. — 1912
34:1405
53 — Pawlewski, Br. — 1902 — Ber., 35:112
54 — Bell, E. Vere, Bennett, G. M. e Hoch, A. L. — Chem. Zent. — 1927,
II:1812; J. Chem. Soc. London — 1927:1803-9
55 — Ramart-Lucas e Hoch, J. — Chem. Zent. — 1932, II:2291; Bull. Soc.
Chim. France — 1932 — [4] 51:824-38
56 — Lohmann, J. — 1891 — Ber., 24:2632
57 — von Braun, J. — 1909 — Ber., 42:2044
58 — Solonina, V. — Chem. Zent. 1899, I:248; Journ. russ. physic. chem.
Ges. — 1899 — 30:826-42
59 — Blank, P. — 1892 — Ber., 25:3045